

SEMINAIRE INRA

ECOTOXICOLOGIE

ANTIBES

23-25 Septembre 2002

Résumés des Communications

Lundi 23 Septembre
Accueil à partir de 16 h
Services Généraux INRA, 45 Bd du Cap
Affichage des posters

20 h : Buffet à la cantine INRA

Mardi 24 Septembre

9h – 9h15 : Ouverture du Séminaire : Bienvenue aux participants (JB BERGE)
9h15-10h : Présentation du centre d'écotoxicologie de Leipzig & du réseau d'excellence ... (M LIESS).
10h-10h30 Projets et Réseaux proposés au 6^{ème} PCRD (JP CRAVEDI)
10h 30 – 10h 45 Présentation du dispositif français de coordination des actions du champ 6 du 6^{ème} PCRD (JB BERGE)
10h 45 – 11h : Discussions sur le 6^{ème} PCRD

11h- 11h 15 : pause café

11h 20 – 11h 40 : Analyse couplée de la dissipation des pesticides dans le sol et de leur impact écotoxicologique sur les nématodes. E. Barriuso. Grignon.

11h 40 – 12h : Interactions sol-plante et conséquences sur la phytodisponibilité des éléments traces métalliques dans le sol. S. Staunton. Montpellier

12h – 12h 20 : Contribution à l'évaluation de l'impact écotoxicologique de la valorisation agricole des boues d'épuration urbaines. Ch. Mougin. Versailles

12h 20 – 12h 40 : Evaluation de l'impact écotoxicologique résultant de l'usage de médicaments antiparasitaires en élevage extensif. Ch. Mougin. Versailles

12h 40 – 13h : Toxicogénomique des perturbateurs endocriniens de la reproduction chez la truite arc-en-ciel. G. Monod. Rennes

13h – 14h : repas

14h – 14h 20 : Utilisation de biomarqueurs et d'indices écologiques pour l'évaluation de l'impact de la démoustication sur les invertébrés non cibles des zones humides littorales du Morbihan. L. Lagadic. Rennes

14h 20 – 14h 40 : Perturbations structurelles et fonctionnelles des communautés d'organismes aquatiques exposées à un mélange d'herbicide et d'adjuvant en mésocosmes lentiques. *Thierry Caquet*

14h 40 – 15h : Evolution des populations en présence de xénobiotiques : le cas d'un gastéropode dulcicole, *Lymnaea stagnalis*, exposé à un herbicide (Fomésafène) et son adjuvant (Agral 90). M.A. Coutellec. Rennes

15h 20 – 15h 40 : Nouvelles approches des effets écotoxicologiques des pesticides sur la structure et le fonctionnement des communautés naturelles de microalgues. J.F. Humbert, Thonon.

15h 40 – 16h 50 : pause café et séance poster

16 h 50 – 17h 20 : présentation d'une série de posters sur les interactions métaux-sol. S. Staunton.

17h – 17h 10 : Surveillance écologique des sols par les bioindicateurs. M. Mench

17h 10 – 17h 20 : Exposition au zinc et risque phytotoxique : évaluation de la valeur PNEC par les critères d'effets biochimiques. M. Mench

17h 20 – 17h 40 : Un nouveau biomarqueur permettant d'estimer des impacts au niveau de l'écosystème du sol : le comportement des vers de terre. Y. Capowiez. Avignon.

17h 40 – 17 h 50 : Un modèle biologique pour l'écotoxicologie terrestre, les microalgues édaphiques. A. Bérard
17h 50 – 18 h : Vers l'ingénierie des laccases pour une application environnementale. Ch. Mougin. Versailles
18 h – 18h 10 : Les polluants organiques dans les systèmes de traitement des eaux. D. Patureau. Narbonne
18h 10 – 18h 20 : Induction de l'apoptose par le cadmium via la voie mitochondriale : implication du stress oxydant. C. Risso de Faverney. Antibes.
18h 20 – 18h 30 : Régulation des mécanismes de détoxification et de survie hépatocytaire en réponse au lindane. N. Zucchini. Antibes

18h 30 – 19h 30 : séance poster
20h dîner

Mercredi 25 Septembre

9 h – 9h 10 : Suivi de la concentration en nicosulfuron et en atrazine dans des mésocosmes aquatiques. S. Nélieu. Versailles
9h 10 – 9h 20 : Impact des pesticides sur la dynamique de population d'un poisson (la gambusie) en mésocosmes. G. Monod. Rennes.
9h 20 – 9h 30 : La nageoire anale de la gambusie (*Gambusia holbrooki*) : un biomarqueur d'exposition aux perturbateurs endocriniens. G. Monod. Rennes.
9h 30 – 9h 40 : Anti-estrogénicité in vivo d'un ligand du récepteur Ah, la β -naphthoflavone, chez la gambusie (*Gambusia holbrooki*). G. Monod. Rennes
9h 40 – 9h 50 : Les réactions hémocytaires en tant que biomarqueurs d'exposition de *Lymnea stagnalis* à l'atrazine. J. Russo. Rennes.
9h 50 – 10h : Influence du degré d'isolement sur la restauration des communautés d'invertébrés dans des mésocosmes aquatiques contaminés par un insecticide pyréthrinolide, la deltaméthrine. L. Lagadic. Rennes.
10h – 10h 10 : Développement et intercalibration d'outils biologiques (biomarqueurs et bioindicateurs) pour l'évaluation de la qualité d'hydrosystèmes continentaux. Th. Caquet.
10h 20 – 10h 30 : Réactions des microalgues planctoniques aux gradients de pollution : le cas des additifs anti-fouling dans le Léman. Ch. Leboulanger. Thonon.
10h 30 – 10h 40 : Impacts de pesticides organochlorés sur l'activation des MAP kinases chez l'homme : approches mécanistique et génomique. A. Dupuy D'Uby. Antibes
10h 40 – 10h 50 : Implication de l'équipe « Physiologie de l'Adaptation et du Stress chez les Poissons » de SCRIBE dans les recherches en écotoxicologie aquatique. P. Prunet. Rennes
10h 50 – 11h : Distribution et métabolisme de l'imidaclopride chez le tournesol. F. Laurent, Toulouse.

11h – 11h 15 pause café

11h 15 – 12 h 30 : Bilan de 3 années d'animation écotoxicologique à l'INRA : Groupe de Travail « Ecotoxicologie ».

12h 30 – 13h : Perspectives pour l'écotoxicologie à l'INRA : Pierre Stenghel, J.B. Bergé.

13h – 14 h Repas

14h 30 : Clôture du Séminaire.

Dir. Scientifique
Forêt, Environnement et Agr.

Présentations orales

ANALYSE COUPLEE DE LA DISSIPATION DES PESTICIDES DANS LE SOL ET DE LEUR IMPACT ECOTOXICOLOGIQUE SUR LES NEMATODES.

- indes: Action transversale INRA Thésard coprésident*
- K. Hdadi¹, L. Bruckler¹, M-P. Charnay², E. Barriuso², M. Amichot³, L. Belzunces⁴
- (1) INRA "Climat, Sol et Environnement", Site Agroparc, domaine St Paul, Avignon
 (2) UMR INRA INA-PG, "Environnement et Grandes Cultures", Thiverval-Grignon.
 (3) INRA "Santé Végétale et Environnement", Antibes
 (4) UNRA "Ecologie des Invertébrés", Site Agroparc, domaine St Paul, Avignon

L'objectif du projet est de décrire, quantifier et modéliser le couplage entre la dissipation d'un pesticide dans le sol et les effets toxicologiques populationnels découlant de la présence de ce produit dans le sol. Le projet est construit selon trois axes :

- (1) Analyse expérimentale et modélisation de la rétention, de la dégradation et du transport d'un pesticide dans le sol, pour prévoir ses voies d'évolution et les temps de résidence du pesticide et/ou des métabolites toxicologiquement actifs dans le sol. Le parathion est choisi comme pesticide modèle. *→ Sch. de q_p - 3 voies de paraoxon*
- (2) Analyse et modélisation des effets toxiques populationnels du pesticide et/ou de ses métabolites sur une cible déterminée d'intérêt environnemental. Les nématodes du sol ont été retenus comme espèce modèle. *→ Identifier les variables d'action*
- (3) Formalisation du couplage entre l'évolution du pesticide dans le sol et ses impacts avec validation de ce couplage pour des conditions expérimentales données.

La présentation de ce projet sera illustrée par la présentation du modèle et son application pour la description des résultats obtenus sur le devenir du parathion dans le sol. La dégradation du parathion dans les sols en condition aérobie donne le paraoxon comme un des premiers métabolites. Ce dernier s'hydrolyse facilement, mais sa toxicité est bien supérieure à celle du parathion. Jusqu'à présent la plupart des recherches écotoxicologiques visant à étudier les effets « dose » du parathion sur les organismes vivants prennent des variables nominales qui peuvent être éloignées de la dose effective d'exposition et ne prennent pas en compte sa dégradation. Il est donc nécessaire de caractériser expérimentalement d'abord la rétention et la dégradation du parathion et du paraoxon pour en déduire leurs concentrations effectives dans les phases liquides et solides du sol avant d'étudier leur impact toxicologique.

Les processus d'adsorption-désorption et de biodégradation du parathion et du paraoxon dans un sol argileux ont été déterminés dans des conditions contrôlées de laboratoire. Un modèle cinétique à 3 compartiments (phase soluble, extractible, non extractible) a été utilisé pour simuler ces mêmes processus. Les résultats de la simulation montrent que ce modèle reproduit correctement les ordres de grandeurs décrivant la rétention et la biodégradation, ainsi que les cinétiques d'apparition et de disparition du paraoxon. Ces résultats nous renseignent sur la durée de présence du paraoxon dans le sol et sur les ordres de grandeur de concentration possibles, ce qui nous permet d'accéder à une grandeur de concentration « effective » plus réaliste que la concentration de la molécule-mère ou qu'une concentration nominale choisie arbitrairement. A partir de ces données, des tests de toxicité sur un nématode ont été réalisés.

Modèle:
$$\begin{array}{c} \text{Minerale} \rightleftharpoons (S_1) \xrightarrow{\text{Soluble}} (S_2) \xrightarrow{\text{Extr.}} (S_3) \xrightarrow{\text{Lié}} \text{Parathion} \\ \downarrow \text{Biodégr.} \\ \text{Minerale} \rightleftharpoons (M_1) \xrightarrow{\text{Soluble}} (M_2) \xrightarrow{\text{Extr.}} (M_3) \xrightarrow{\text{Lié}} \text{Paraoxon} \end{array}$$

Déterminent les $\neq$ cinétiques $\rightarrow$ Modèle cinétique malgré degré rapide du paraoxon (difficile à approcher par l'analyse)

IMPACT DE TRAITEMENTS PHYTOPHARMACEUTIQUES EFFECTUES EN CONDITIONS SEMI-NATURELLES SUR LES PERFORMANCES D'APPRENTISSAGE OLFACTIF CHEZ L'ABEILLE DOMESTIQUE

A. Decourtye ¹, S. Cluzeau ², M. Tisseur ², J. Gandrey ², M.H. Pham-Delègue ¹

¹ Laboratoire de Neurobiologie des Invertébrés, INRA, BP23, 91440 Bures/Yvette

² Association de Coordination Technique Agricole, 149 rue de Bercy, 75595 Paris

Dans un premier temps, le but de notre travail a été de confirmer par des essais en cage de vol (conditions semi-naturelles) les effets délétères de l'imidaclopride (néonicotinoïde) sur les performances d'apprentissage olfactif précédemment observés au laboratoire. Une étude parallèle a été conduite avec un autre insecticide, la deltaméthrine, un pyréthrianoïde dont la toxicité est connue chez l'abeille. Contrairement à l'imidaclopride, les performances d'apprentissage enregistrées d'une part chez les butineuses en vol libre par le dispositif de fleurs artificielles, et d'autre part chez les butineuses maintenues en contention par le conditionnement de l'extension du proboscis, révèlent une toxicité sublétales pour l'imidaclopride, mais pas pour la deltaméthrine. Dans un deuxième temps, des butineuses maintenues sous tunnel et prélevées sur les fleurs de phacélie traitées avec le mélange Decis® Micro (6,25% deltaméthrine) - Sportak® 45 CE (450 g/l prochloraze) aux doses d'utilisation agricole, ont été soumises à la procédure de conditionnement de l'extension du proboscis. Nous avons observé une diminution des performances d'apprentissage 2 h après la pulvérisation du mélange Décis®-Sportak®. Ainsi, la procédure de conditionnement de l'extension du proboscis réalisé en laboratoire semble pouvoir détecter la toxicité sublétales d'un traitement phytosanitaire appliqué selon les conditions agronomiques. En conclusion, nos résultats indiquent que cet essai biologique peut présenter un intérêt en tant qu'essai bio-indicateur d'une intoxication sublétales en conditions agronomiques.

PERTURBATIONS STRUCTURELLES ET FONCTIONNELLES DES COMMUNAUTÉS D'ORGANISMES AQUATIQUES EXPOSÉES A UN MÉLANGE D'HERBICIDE ET D'ADJUVANT EN MÉSOCOSMES LENTIKES

G. Lacroix¹, Th. Caquet², L. Lagadic², M. Heydorff², D. Azam³, J.-P. Cravedi⁴, L. Deydier-Stephan⁵, B. Le Rouzic⁵, F. Lescher-Moutoué¹, G. Monod⁶

¹UMR 7625, ENS, Paris ; ²UMR 985 INRA-ENSAR "Écobiologie et Qualité des Hydrosystèmes Continentaux" (EQHC), Équipe Écotoxicologie et Qualité des Milieux, Rennes ; ³INRA, Unité Expérimentale d'Écologie et d'Écotoxicologie Aquatique, Rennes ; ⁴UMR 1089 INRA-ENSAT "Xénobiotiques", Toulouse ; ⁵UMR 6553 "Ecobio", Équipe Interactions Biotiques et Transferts de Matières, Université de Rennes 1 ; ⁶INRA SCRIBE, Équipe Sexualité et Reproduction des Poissons, Rennes.

Dans l'immense majorité des cas, les matières actives pesticides ne sont pas utilisées seules mais en association avec d'autres composants (adjuvants) en tant que formulations. Ce sont des mélanges de substances qui sont répandus dans l'environnement, et il n'est pas exclu que certains constituants de ces mélanges se retrouvent simultanément dans les milieux naturels, notamment dans les écosystèmes aquatiques. Les effets écotoxiques des formulations sont souvent considérés *a priori* comme additifs alors que des phénomènes de synergie ou au contraire d'antagonisme peuvent se produire. En particulier, certains des adjuvants utilisés dans les formulations commerciales peuvent avoir une toxicité propre, ou tout au moins perturber significativement certains processus biologiques et/ou écologiques.

L'objectif de ce programme est d'évaluer l'impact d'un herbicide de la famille des diphenyls éthers, le fomésafène, appliqué seul ou en mélange avec un adjuvant de formulation, l'Agral 90[®] (mélanges de dérivés polyéthoxylés du nonylphénol), sur la structure et le fonctionnement de communautés d'organismes aquatiques (microalgues, zooplancton, macro-invertébrés) dans des mésocosmes lentiques. Ces molécules possèdent des modes d'action différents (inhibition de la protoporphyrinogène-oxydase pour le fomésafène, pouvoir détergent et surfactant pour les nonylphénols polyéthoxylés, dont certains produits de dégradation sont par ailleurs mimétiques d'œstrogènes).

Les premiers résultats montrent que l'Agral 90[®] a modifié le comportement du fomésafène dans les mésocosmes, ainsi que certains de ses effets écotoxicologiques. L'herbicide, seul ou en mélange, a été à l'origine d'une augmentation de la diversité taxonomique du phytoplancton mais sans modification de son spectre de taille. Des effets positifs du mélange (mais pas du fomésafène) ont été mis en évidence sur les macro-invertébrés émergents tandis qu'aucun effet significatif des traitements sur la communauté de macro-invertébrés benthiques n'a été observé. Au sein de cette communauté, l'espèce-modèle *Lymnaea stagnalis* a vu ses performances reproductrices affectées par le fomésafène, alors que le mélange n'a pas eu d'effet. Des expérimentations complémentaires de laboratoire sont en cours pour mieux caractériser les effets des substances étudiées sur les compartiments planctoniques.

Ce type d'étude met en évidence l'intérêt de prendre en compte l'association des différents composants des formulations dans l'évaluation des risques écotoxicologiques des pesticides en milieu aquatique.

ÉVOLUTION DES POPULATIONS EN PRÉSENCE DE XÉNOBIOTIQUES : LE CAS D'UN GASTÉROPODE DULCICOLE, *LYMNAEA STAGNALIS*, EXPOSÉ A UN HERBICIDE (FOMÉSAFÈNE) ET SON ADJUVANT (AGRAL 90)

^{1,2}Coutellec M.-A., ¹Lagadic L., ¹Heydorff M., ³Quemeneur A., ³Azam D., ²Guiller A., ^{1,2}Russo J.

¹UMR INRA-ENSAR « Écobiologie et Qualité des Hydrosystèmes Continentaux », Équipe Écotoxicologie et Qualité des Milieux, 65 rue de Saint-Brieuc - CS 84215, 35042 Rennes cedex. ²UMR 6553 'Ecobio' CNRS, Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex. ³Unité Expérimentale écologie et écotoxicologie (U3E), INRA, 65 rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes cedex.

En écotoxicologie, la prise en compte d'une composante évolutive dans la réponse des organismes aux xénobiotiques est relativement récente et se fonde sur (1) l'importance de la variation génétique dans la précision de l'évaluation des effets mesurés, (2) la nécessité d'intégrer une dimension prédictive des effets à long terme et des risques d'extinction des populations dans les procédures d'évaluation du risque environnemental. Le modèle lymnée fait l'objet d'une étude visant à estimer l'importance des phénomènes populationnels liés à la réponse des organismes aux toxiques environnementaux, en complément de la recherche de biomarqueurs pertinents au niveau individuel (métabolisme énergétique, mécanismes moléculaires et cellulaires de défense...). Cette étude porte notamment sur les points suivants :

1. *Importance et prise en compte statistique de la variation génétique dans la réponse des populations exposées.* Les réponses actuellement mesurées dans ce cadre sont des estimations de fitness globale (mesure de traits d'histoire de vie tels que âge à maturité, fécondité, taux d'éclosion). Une première série d'expériences en mésocosmes a montré un degré significatif de variation intrapopulation (interlignées) pour l'écart de fitness mesuré en présence/absence du mélange herbicide-adjuvant. Ce type de protocole peut être appliqué à d'autres variables, telles que celles liées aux mécanismes de défense (réponse immunitaire, détoxification).

2. *Influence de l'exposition aux xénobiotiques sur la variation génétique et interaction avec la consanguinité.* La baisse de variabilité génétique réduit en théorie la capacité de réponse des individus aux modifications de l'environnement (érosion génétique, perte d'adaptabilité). L'homozygotie croissante diminue aussi les capacités de réponse de la population, car elle affecte entre autres l'expression des allèles délétères (dépression de consanguinité). Ces paramètres déterminent en grande partie les probabilités d'extinction d'une population et le suivi de leur évolution en présence de toxiques est donc informatif en évaluation du risque à long terme.

Chez la lymnée, l'évaluation de ces effets est envisagé sur des populations expérimentales (mésocosmes) au travers des mesures conjointes de phénotypes liés à l'histoire de vie (fitness, dépression de consanguinité), de réponses plus spécifiques (biomarqueurs) et de marqueurs neutres (microsatellites). Le modèle lymnée est ici particulièrement intéressant pour tester l'interaction xénobiotique / consanguinité sur le devenir des populations, car son système de reproduction est potentiellement mixte (autofécondation / fécondation croisée) et des niveaux élevés de consanguinité peuvent être atteints expérimentalement de façon rapide. Dans ce cadre, les résultats préliminaires obtenus en mésocosmes suggèrent une interaction synergique entre le xénobiotique testé et la consanguinité (dépression de consanguinité accrue en première génération, en présence de xénobiotiques).

UTILISATION DE BIOMARQUEURS ET D'INDICES ÉCOLOGIQUES POUR L'ÉVALUATION DE L'IMPACT DE LA DÉMOUSTICATION SUR LES INVERTÉBRÉS NON CIBLES DES ZONES HUMIDES LITTORALES DU MORBIHAN

Lagadic, L., Caquet, Th., Fourcy, D., Jumel, A., Heydorff

UMR INRA-ENSAR « Écobiologie et Qualité des Hydrosystèmes Continentaux »,
Équipe Écotoxicologie et Qualité des Milieux, 65, rue de Saint-Brieuc - CS 84215,
35042 Rennes cedex

Depuis 1998, le Conseil Général du Morbihan a mis en place, dans deux secteurs-pilotes, un programme de démoustication basé sur l'emploi du téméphos et du *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*). Afin d'évaluer l'impact potentiel de ces deux produits sur la faune des milieux traités, un programme de suivi écotoxicologique, portant sur les invertébrés non-cibles, a été associé aux opérations de démoustication. L'impact des insecticides a été suivi à deux niveaux, l'individu et la communauté. L'état de santé des individus a été évalué au moyen de biomarqueurs (acétylcholinestérase, carboxylestérases, Na^+/K^+ -ATPase) mesurés chez deux espèces-sentinelles, un chironome et une néréis. L'état des communautés a été évalué au moyen d'indices écologiques, qui décrivent l'abondance, la richesse spécifique, la diversité taxonomique et fonctionnelle, etc.

Chez les chironomes, l'analyse des données sur l'ensemble de la période d'étude (1998-2002) a montré que les variations des biomarqueurs ne s'écartaient pas significativement des variations naturelles, indiquant que, sur le long terme, les larvicides n'avaient pas eu d'effet important sur la physiologie de ces organismes. Toutefois, l'émergence des chironomes a été affectée par les larvicides : le téméphos a entraîné une diminution du taux de développement, sans modification du nombre final d'adultes émergents, alors que le *Bti* a été à l'origine d'une baisse du taux d'émergence. Chez les néréis en revanche, une inhibition significative (de l'ordre de 20%) des carboxylestérases a été montrée chez les individus exposés au téméphos. Même si cette inhibition n'atteint pas les niveaux de 30 à 50% généralement considérés comme dommageables aux espèces, elle pourrait être le signe d'une contamination préférentielle des individus par voie trophique.

La comparaison de l'abondance moyenne des individus de chacune des deux espèces-sentinelles dans les zones témoins et traitées n'a pas révélé d'effet des traitements au niveau populationnel. En fait, sur la période 1999-2001, les plus fortes variations d'abondance des chironomes et des néréis ont été observées à la suite de périodes d'assèchement des milieux.

Les communautés d'invertébrés des zones traitées et témoins sont restées similaires, aussi bien du point de vue structural que fonctionnel, durant la période 1999-2002. L'absence d'effet significatif des traitements sur les communautés d'invertébrés est liée au fait que les fluctuations naturelles (assèchement, salinité), dont l'amplitude est généralement très forte dans ce type d'écosystème, ont eu un impact beaucoup plus important que ceux liés à la présence des larvicides. En outre, la méthode de lutte employée ("prospection-traitement" à pied) permet d'introduire les quantités de produits nécessaires au contrôle des populations de moustiques tout en évitant une contamination généralisée des milieux par des concentrations importantes en larvicides.

CONTRIBUTION A L'EVALUATION DE L'IMPACT ECOTOXICOLOGIQUE DE LA VALORISATION AGRICOLE DES BOUES D'EPURATION URBAINES

*Christian Mougin¹, Jacques Einhorn¹, Claude Jolival², François Laurent³, Yves Lévi⁴,
Joseph Tarradellas⁵*

¹Unité de Phytopharmacie et Médiateurs Chimiques, UR INRA 258, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex

²Laboratoire de Synthèse Sélective Organique et Produits Naturels, UMR CNRS 7573, ENSCP, 11 Rue P. et M. Curie, 75231 Paris Cedex 05

³Laboratoire des Xénobiotiques, UMR INRA 1089, 180 Chemin de Tournefeuille, BP3, 31931 Toulouse Cedex

⁴Laboratoire Santé Publique et Environnement, Université Paris-Sud, 5 Rue J.B. Clément, 92296 Chatenay-Malabry

⁵Laboratoire de Chimie Environnementale et Ecotoxicologie, ENAC-ISTE, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, CH-1015, Ecublens

Actuellement, 60% de la quantité de boues de stations d'épuration urbaines sont valorisés en agriculture et les échéances réglementaires en matière d'assainissement urbain vont conduire à une augmentation prévisible des tonnages épandus. Le présent projet vise plusieurs objectifs. Tout d'abord, nous proposons de rechercher et de doser certains pesticides particulièrement utilisés en milieu urbain dans des boues provenant de plusieurs origines. Ceci permettra d'évaluer l'exposition à ces polluants après identification et analyse quantitative par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide. Dans un second temps, nous étudierons l'impact de l'épandage des boues sur l'écosystème sol. Nous prendrons en compte une modification du transfert des pesticides (qu'ils soient apportés par les boues ou déjà présents dans le sol) entre le sol et la plante, ainsi que des effets non-intentionnels sur les organismes du sol. Le potentiel de perturbateur endocrinien des percolats issus des mélanges sol/boue sera également évalué. En parallèle, nous proposons de développer un test fongique permettant le suivi de l'impact global des pesticides et autres polluants organiques sur l'écosystème sol.

EVALUATION DE L'IMPACT ECOTOXICOLOGIQUE RESULTANT DE L'USAGE DE MEDICAMENTS ANTIPARASITAIRES EN ELEVAGE EXTENSIF

Pierre Galtier¹, Michel Alvinerie¹, Philippe Berny², Jean-Claude Fournier³, Dominique Kerboeuf⁴, Jean-Pierre Lumaret⁵, Christian Mougin⁶

¹Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie INRA UR 66, 180 Chemin de Tournefeuille, BP3, 31931 Toulouse

²Unité de Métabolisme et Toxicologie Comparée des Xénobiotiques,, INRA UMR 188, ENVL, 1 Avenue Bourgelat, BP 83, 69280 Marcy-l'Etoile

³Unité de Microbiologie des Sols, INRA UR 111, 17 Rue Sully, BV 1540, 21034 Dijon cedex

⁴Laboratoire de Pathologie Aviaire et Parasitologie, INRA UR 86, 37380 Nouzilly

⁵Laboratoire de Zoogéographie, Université Montpellier 3

⁶Unité de Phytopharmacie et Médiateurs Chimiques, INRA UR 258, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex

! Dactones macrocycliques -

Les endectocides de type avermectines (ivermectine, abamectine, doramectine) ou mylbémécines (moxidectine) constituent un groupe de produits à large spectre insecticide et nématocide, très utilisées dans le monde entier. Etant donné leurs caractéristiques pharmacodynamiques (large spectre d'action) et pharmacocinétiques (faible métabolisation, longue rémanence, excrétion fécale), ces molécules font aujourd'hui l'objet d'une vigilance scientifique particulière. Or, l'autorisation de mise sur le marché de l'ivermectine sous la forme de bolus intestinal à relargage progressif du produit a précédé de peu la promulgation de la directive 93/40/CEE. Ainsi, l'évaluation du risque écotoxicologique associé a été sommaire, alors que des travaux scientifiques antérieurs avaient déjà attiré l'attention sur le risque environnemental de cette molécule.

Nos travaux ont montré que l'ivermectine administrée sous forme de bolus intraruminal se retrouve à des concentrations importantes dans les fèces de bovins pour une période supérieure à deux mois après le début du traitement. L'éprinomectine distribuée par voie trans-cutanée est excrétée à raison d'un cinquième de la dose par voie fécale, avec des concentrations maximales au cours de la première semaine suivant l'administration.

L'exposition d'insectes coprophages à des bouses provenant d'animaux traités a démontré l'effet toxique de l'ivermectine sur le développement larvaire d'*Aphodius constans* (Coléoptère, *Aphodiidae*) à de faibles concentrations.

L'ivermectine biologiquement active vis-à-vis des nématodes reste présente dans les bouses pendant une période prolongée après l'administration du bolus. Toutefois, la biodisponibilité pour les nématodes semble faible mais les concentrations existantes encore actives, semblent suffire pour entraîner la sélection de parasites résistants.

Les études réalisées sur les bactéries et champignons du sol n'ont pas permis la mise évidence d'effets globaux de l'ivermectine malgré l'utilisation de concentrations de produit très en excès des concentrations attendues dans le sol. Ces résultats sont probablement en rapport avec la faible biodisponibilité de l'ivermectine résultant de sa très faible hydrosolubilité.

Le bivalve d'eau douce *Dreissena polymorpha* est un mollusque dont l'activité de filtration lui confère un pouvoir de bioaccumulation des composés organiques ou minéraux. En aquarium, ces mollusques ont été exposés à de l'ivermectine incorporée à des microparticules. En fait, la sensibilité des dreissènes à l'ivermectine est très marquée et compatible avec une exposition à des résidus dissous.

Station d'Hydrobiologie Lacustre, UMR CARTELE, BP 511, 74203 Thonon cedex

Les travaux passés, actuels et envisagés dans un futur proche seront présentés.

1 Flux de polluant ne implique pas forcément une ↓ de biodiversité
En fait: Effet sur le fonctionn. de l'écosystème

- si initial: milieu varié → perturbé
 ↳ si redondance (esp. disparus) → autre remplac.
- si peu varié → Δ change eq trophique → cata
 aut → Autres esp. prennent place / émergent.

Si teneur faible → Autre (+ C.)

AFFICHES

Commentées

UN MODELE BIOLOGIQUE POUR L'ECOTOXICOLOGIE TERRESTRE, LES MICROALGUES EDAPHIQUES

Bérard Annette^{1}, Dorigo Ursula², Martin-Laurent Fabrice³, Rimet Frédéric⁴,
Leboulanger Christophe², Mascle Odile¹, Humbert Jean-François²*

¹ INRA, Laboratoire Toxicologie Environnementale, UMR INRA-UAPV, 84914 Avignon cedex 9, France. berard@avignon.inra.fr

² INRA, Station d'Hydrobiologie Lacustre, UMR CARRETEL, BP 511, 74203 Thonon cedex France

³ INRA/Université de Bourgogne, UMR A111 Microbiologie et Géochimie des Sols, INRA/CMSE, BP 86510, 21065 Dijon Cedex

⁴ Centre de Recherche Public - Gabriel Lippmann, CREBS, 162a, avenue de la Faïencerie
1511 Luxembourg

Les algues terrestres sont présentes dans tous les sols, en quantité (matière sèche) et avec une diversité importante. La structure des communautés de ces microorganismes photosynthétiques telluriques varie, en particulier selon les pratiques agricoles et phytosanitaires. Notre hypothèse est que les caractéristiques (structure, activité et biomasse) des communautés algales du sol pourraient être des indicateurs précoces de perturbations des sols associées aux polluants. 1-Vers un bioindicateur de la qualité des sols: nous avons montré que les diatomées étaient faciles à échantillonner et à identifier dans les sols. Étant donné que ce groupe d'algues est déjà utilisé comme indice de la qualité des milieux aquatiques, les connaissances qui pourraient être acquises sur la distribution, les caractéristiques autoécologiques, et les sensibilités aux toxiques des algues édaphiques, pourraient de même être appliquées à l'élaboration d'indices de qualité des sols basés sur la biomasse et la structure des communautés d'algues en place. 2-Les algues édaphiques mémoire d'une pollution d'un sol : nous avons montré sur un exemple de sols agricoles que le concept sélection/tolérance des communautés (méthode PICT) était applicable aux algues édaphiques, pour relier des changements observés sur la structure des communautés algales dans le sol à la présence d'une pollution. Cette méthode pourrait être utilisée dans le cadre d'études de réhabilitation des sols. Ces approches axées sur la structure des communautés nécessitent des techniques complémentaires aux études taxonomiques classiques. Nous avons récemment appliqué des outils de la biologie moléculaire reposant sur l'extraction d'acides nucléiques des sols, et l'amplification avec des amorces spécifiques, de fragments d'ADN ciblant l'ARNr 18S (algues eucaryotes) et l'ARNr 16S (cyanobactéries) dans le but d'utiliser des techniques d'empreintes génétiques telles que l'ARDRA, la T-RFLP et la DGGE. Nous avons montré par ailleurs que l'on pouvait utiliser l'incorporation du ¹⁴C à la lumière comme mesure de l'activité photosynthétique des sols inhibée par certains toxiques (e.g. l'atrazine). 3-Des biotests normalisables ? : nous développons des biotests basés sur l'inhibition par le polluant de la croissance des souches d'algues édaphiques cultivées en microplaques sur milieu gélosé et sur sol stérile. Ainsi, dans le cadre d'études écotoxicologiques intégrant transferts et impacts des polluants dans les sols, la composante algale au sein des microorganismes édaphiques, caractérisée par son positionnement en surface et son activité photosynthétique, peut fournir un indicateur de qualité du sol complémentaire à d'autres indicateurs en cours de développement ciblant les communautés bactériennes et fongiques..

UN NOUVEAU BIOMARQUEUR PERMETTANT D'ESTIMER DES IMPACTS AU NIVEAU DE L'ÉCOSYSTÈME DU SOL : LE COMPORTEMENT DES VERS DE TERRE

Capowiez Yvan, Rault Magali, Mazzia Christophe et Luc Belzunces

UMR 406 « Écologie des Invertébrés », Site Agroparc, 84914 AVIGNON cedex 09

Le ver de terre occupe une place centrale dans l'écosystème du sol : ses différentes activités (création de galeries et enfouissement de la matière organique) peuvent grandement influencer les propriétés du sol ainsi que les autres composantes de l'écosystème (des racines jusqu'aux micro-organismes). Par conséquent, toute modification du comportement des vers peut avoir des répercussions importantes et mesurables sur le fonctionnement global du sol. Le comportement et notamment le comportement excavateur est donc une source intéressante de biomarqueurs d'effet pouvant nous renseigner sur les impacts aux niveaux hiérarchiques. C'est cette hypothèse que nous avons voulu tester en étudiant les modifications du comportement excavateur de deux espèces très différentes de ver de terre (*Aporrectodea nocturna* et *Allolobophora ictERICA*) en présence de faibles doses d'imidaclopride dans les sols. Cependant observer le comportement des vers, n'est pas une chose aisée et nous avons dû développer de nouveaux outils soit en 2D soit en 3D. Grâce à ces outils nous avons pu mettre en évidence des modifications comportementales très nettes (quantité de galeries creusées et forme de ces galeries) pour des doses de 0.5 à 1 ppm d'imidaclopride. Pour évaluer l'impact potentiel sur le fonctionnement du sol, nous sommes intéressés à un marqueur particulier, la diffusion des gaz, qui nous renseigne sur les propriétés d'aération des sols. Nous avons ainsi montré que la diffusion des gaz était diminuée de façon significative pour une dose de 0.5 ppm dans le cas du ver anécique (*A. nocturna*). Le comportement excavateur des vers de terre est donc un biomarqueur sensible et précoce qui permet d'intégrer des effets au niveau de l'écosystème du sol.

DÉVELOPPEMENT ET INTERCALIBRATION D'OUTILS BIOLOGIQUES (BIOMARQUEURS ET BIOINDICATEURS) POUR L'ÉVALUATION DE LA QUALITÉ D'HYDROSYSTÈMES CONTINENTAUX : APPLICATION À LA CONTAMINATION DIFFUSE PAR LES ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES D'UN BASSIN HYDROGRAPHIQUE DU MASSIF ARMORICAIN

Th. Caquet¹, L. Lagadic^{1,2}, D. Azam¹, J.L. Baglinière¹, P. Prunet^{1,2}, I. Leguen^{1,2}, B. Auperin^{1,2}, Th. Bailhache^{2,3}, A. Jaffrezic^{1,4}, G. Gruau^{3,4}, D. Ombredane¹, J. Haury¹, D. Huteau¹, F. Marchand¹, R. Delanoë¹, F. Pakdel^{2,3}, P. Jégo^{2,3}, M. Gueguen^{2,3}, M. Lecoz-Bouhnik^{3,4}, P. Petitjean^{3,4}

¹INRA (UMR EQHC, U3E, SCRIBE, SAS), Rennes; ²IFR 98 "Reproduction — Développement — Écophysiologie", Rennes; ³CNRS-Université de Rennes 1 (UMR 6026 Endocrinologie Moléculaire de la Reproduction, GéoSciences), Rennes, ⁴CAREN (Centre Armoricaïn de Recherche en Environnement), Rennes.

Des observations régulières font état de variations des densités de populations de Salmonidés entre différents points et/ou d'une année à l'autre dans les cours d'eau du Massif Armoricaïn, en particulier dans un site atelier de l'U3E, le bassin versant de l'Oir (Manche). Ces fluctuations sont notamment liées à des mortalités importantes des œufs et des alevins, dues au moins en partie à des apports de matières en suspension (et des éventuels contaminants associés) qui provoquent un colmatage des frayères. Des analyses préliminaires font état de la présence d'éléments traces métalliques (ETM), en particulier de cuivre et de plomb, à des concentrations non négligeables dans les sédiments de certains des affluents de l'Oir.

Ce programme est basé sur le suivi de la réponse de descripteurs mesurés à des niveaux d'organisation biologique variés sur des macrophytes, des macro-invertébrés et des poissons. Ces organismes seront échantillonnés dans une douzaine de stations réparties sur le bassin versant et au niveau desquelles la contamination par certains ETM (Cd, Pb, Fe, Cu, Zn) sera simultanément caractérisée. Le recours à des capteurs pour l'échantillonnage de l'eau interstitielle permettra de caractériser la spéciation de ces ETM et d'évaluer leur biodisponibilité. Les résultats permettront de procéder à une intercalibration des descripteurs biologiques en évaluant leur variabilité spatio-temporelle, leur sensibilité par rapport à divers facteurs environnementaux (dont les ETM), et le degré de redondance des informations qu'ils procurent.

Les analyses réalisées au cours de la première année permettront la caractérisation de la qualité du réseau hydrographique et l'évaluation de la biodisponibilité des éléments-traces métalliques. Dans une seconde phase, des travaux expérimentaux seront réalisés, dont la nature sera en partie conditionnée par les résultats obtenus sur le terrain. Ce projet permettra d'établir un lien entre les approches écologique et écotoxicologique au sein d'un site atelier, en intégrant dans une même démarche analyse chimique, biomarqueurs et bioindicateurs. Le positionnement de ce projet dans un ensemble d'autres études réalisées sur le même site (programme AQUAE par exemple) devrait permettre de mettre en relation la qualité du milieu et les usages du bassin versant.

IMPACTS DE PESTICIDES ORGANOCHLORES SUR L'ACTIVATION DES MAP KINASES CHEZ L'HOMME: APPROCHES MECANISTIQUE ET GENOMIQUE ✓

A. DUPUY D'UBY¹, N. LEDIRAC¹, X. GIDROL², R. RAHMANI¹

¹ INRA, UMR 1112, Toxicologie Cellulaire et Moléculaire, Antibes, France.

² CEA, Service de Génomique Fonctionnelle, Evry, France

Bien que largement étudiés chez l'animal, les effets d'une exposition prolongée aux pesticides organochlorés restent mal connus chez l'homme. De récents travaux menés sur lymphocytes humains indiquent que l'heptachlore provoque des perturbations du cycle cellulaire et d'enzymes clés de la signalisation cellulaire, les Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK). Les effets de pesticides organochlorés sur l'activation de ces kinases ont dans ce cadre été étudiés sur kératinocytes et hépatocytes humains. Quel que soit le modèle cellulaire, tous les organochlorés testés activent significativement les MAPK (ERK, JUNK et p38). Une très forte activation de la sous-famille ERK est observée sur la lignée de kératinocytes humains HaCaT. Cette activation prolongée (≥ 6 hr) semble être médiée par des voies de signalisation, différentes selon le composé: (i) le DDT et l'heptachlore activent les ERK1/2 par la voie PKC > Raf > MEK, avec une forte réduction (75%) de cette activation en présence de N-actétyl cystéine (NAC), indiquant l'implication d'un stress oxydant; (ii) l'activation des ERK1/2 par la dieldrine semble être Raf- et PKC-indépendante et insensible au NAC. Une approche plus globale sur biopuces a permis d'étudier les effets de l'heptachlore sur HaCaT après 24 hr de traitement. Les résultats mettent en évidence que certains gènes sont réprimés, en particulier ceux codant pour des enzymes du métabolisme. D'autres sont induits, notamment ceux associés aux processus de cancérogenèse (v-RAB, v-myc, phospholipase A2) ou à l'homéostasie cellulaire ionique (canaux chlore, potassium...). Ces données indiquent aussi une perturbation de phosphatases pouvant intervenir dans la désactivation des ERK1/2. Nos travaux confirment donc la multiplicité des effets biologiques des organochlorés chez l'homme et soulignent l'importance des ERK1/2 comme intermédiaire clé dans la transduction du signal après exposition à ces pesticides.

INFLUENCE DU DEGRÉ D'ISOLEMENT SUR LA RESTAURATION DES COMMUNAUTÉS D'INVERTÉBRÉS DANS DES MÉSOCOSMES AQUATIQUES CONTAMINÉS PAR UN INSECTICIDE PYRÉTHRINOÏDE, LA DELTAMÉTHRINE

¹Lagadic, L., ¹Caquet, Th., ¹Coutellec, M.-A., ¹Azam, D., ^{1,2}Hanson, M.L., ³Soulas, G.,
⁴Graham, D.W., ¹Roucaute, M., ¹Heydorff, M., ¹Quemeneur, A., ¹Huteau, D.

¹INRA (UMR EQHC et U3E), Rennes ; ²University of Guelph, Ontario, Canada ;
³INRA, Dijon ; ⁴University of Kansas, Lawrence KS, USA

Dans les documents de référence concernant l'emploi d'écosystèmes expérimentaux pour l'évaluation du risque écotoxicologique des pesticides, le protocole expérimental retenu doit permettre d'étudier non seulement la phase qui suit la contamination et où se manifestent les effets de cette dernière, mais aussi la phase de "restauration" ou "récupération" (*recovery*) des systèmes. La restauration d'un écosystème est ici définie comme la possibilité qu'a un système perturbé de revenir à un état "comparable" à celui d'un système témoin, non perturbé. De l'analyse de ces divers documents, notamment dans le cadre des travaux du Groupe MARE, il ressort que les critères de restauration restent assez vagues, les quelques recommandations ne concernant que l'abondance des espèces-clés (sans précisions) et le nombre d'espèces dans les systèmes perturbés. En revanche, aucune indication n'est donnée sur les aspects fonctionnels de la restauration de l'écosystème.

Dans un tel contexte, le présent programme de recherche se propose de traiter prioritairement les questions suivantes :

- le degré d'isolement des mésocosmes conditionne-t-il leur capacité de restauration, et influence-t-il la composition des communautés "restaurées" ?
- lors de la restauration, le remplacement de certaines espèces permet-il le maintien de la fonctionnalité des mésocosmes ?
- à partir de quel niveau de réduction d'effectif la variabilité génétique peut-elle être affectée au point de compromettre le devenir d'une population ?

Pour ce faire, une expérimentation spécifiquement destinée à étudier les conditions dans lesquelles la restauration de la communauté d'invertébrés peut s'opérer dans des mésocosmes lenticques contaminés avec un insecticide (deltaméthrine), a été mise en œuvre. Trois aspects, permettant d'apporter des éléments de réponses aux questions posées, font l'objet d'une attention particulière :

1. l'influence du degré d'isolement des mésocosmes sur la dynamique de leur restauration, sur la composition et la structure de la communauté, et sur les caractéristiques (densité) des populations de quelques espèces-modèles ;
2. la relation entre structure de la communauté et fonctionnalité écologique des systèmes ;
3. l'effet de la densité de population de lymnées sur la variation et la structure génétique à des locus choisis pour leur grande variabilité (locus microsatellites).

Les résultats obtenus devraient conduire à mieux cerner les critères permettant de s'assurer que les conditions nécessaires à la restauration sont réunies (composition initiale, connectivité des systèmes, degré de trophie, durée de l'étude, etc.) et à identifier des points critiques (durée minimale des phases de colonisation/maturation avant traitement, valeurs-seuils de diversité taxonomique de la communauté d'invertébrés, etc.) dans les plans expérimentaux des études en mésocosme, à destination des experts chargés de l'évaluation du risque des pesticides en milieu aquatique.

Distribution et métabolisme de l'imidaclopride chez le tournesol.

François LAURENT, Laboratoire des Xénobiotiques, 180, Chemin de Tournefeuille, BP3, 31931 Toulouse Cedex 9, France.

L'imidaclopride est un insecticide néo-nicotinique utilisé depuis une dizaine d'années en traitement par pelliculage (formulation Gaucho®) des semences de différentes grandes cultures. Ce traitement protège le système racinaire mais aussi les parties végétatives contre les insectes (broyeurs ou piqueurs-suceurs). En France, jusqu'à ces dernières années, le tournesol était avec le maïs la principale culture traitée par le Gaucho®. Cela permettait une protection efficace des parties aériennes seulement durant les deux premiers mois de la culture (les plus sensibles à ces dégâts). Cependant, les apiculteurs observèrent, en parallèle, un comportement anormal de leurs abeilles avec une diminution des récoltes de miel et un dépérissement de leurs ruches lors de miellées sur tournesol. Ils établirent alors une relation entre ce dépérissement et la présence d'imidaclopride dans la plante. De ce fait, un moratoire interdisant le traitement Gaucho® des semences de tournesol a été établi en France depuis 1999.

Dans ce travail, nous avons étudié la distribution de l'imidaclopride (radiomarké au carbone 14 sur le cycle imidazolidine) chez des plants de tournesol issus de semences traitées au Gaucho®. L'absorption de l'imidaclopride par les plants est inférieure à 10% de la dose déposée sur les graines et la majeure partie de la radioactivité se retrouve dans les cotylédons (environ 80%). La concentration décroît ensuite fortement dans les feuilles. Au stade "préfloraison", la concentration dans les feuilles supérieures est 20 fois plus faible que dans les premières paires de feuilles qui sont elles-mêmes cinquante fois moins concentrée que les cotylédons. Dans les feuilles, le composé parent représente 50% de la radioactivité, le reste étant des métabolites : les dérivés hydroxy-imidaclopride et oléfinique, composés possédant une activité insecticide ; les dérivés guanidine et urée qui sont inactifs.

Dans le capitule floral, les concentrations varient de 4 à 33 ng/g de matière fraîche. Dans le pollen, ces concentrations sont en moyenne de 13 ng/g (mf) mais avec une forte variabilité. Le pollen de tournesol est donc bien contaminé par des résidus d'imidaclopride quant ce dernier est appliqué en traitement de semences. Cette contamination n'est toutefois qu'un épiphénomène du transfert dans la plante et la forte variabilité pourrait dépendre de deux facteurs, la "réserve" d'imidaclopride dans le sol et la remobilisation des résidus foliaires.

Réactions des microalgues planctoniques aux gradients de pollution: le cas des additifs anti fouling dans le Léman

Christophe Leboulanger^{1*}, Frédéric Le Bihan², Annette Bérard³ - ¹ INRA, UMR CARRTEL, BP 511, 74203 Thonon les Bains cedex 3, France; ² IRD, centre de Bel Air, BP 1386, Dakar, Sénégal; ³ INRA, LTE UMR INRA/UAPV, 84914 Avignon cedex, France)

Résumé:

Les microalgues sont d'un emploi courant dans les études écotoxicologiques, que ce soit comme organismes de laboratoire dans les tests normalisés, ou comme bioindicateurs des pressions de pollution par les pesticides dans les milieux aquatiques. Dans ce dernier cas, les pesticides sont supposés agir à la fois sur la structure et la sensibilité des communautés naturelles, et il est bien souvent difficile de faire la part des divers facteurs environnementaux et des niveaux de contamination proprement dits sur les variations observées. Une situation idéale est celle où seule la concentration du xénobiotique varie, spatialement ou temporellement, permettant une comparaison rigoureuse des diverses communautés de microalgues, exposées ou non à la pollution. Ce cas de figure se rencontre avec le phytoplancton du Léman, soumis de façon saisonnière - durant l'été - et localisée - dans les ports de plaisance - à une contamination par le cuivre et l'Irgarol 1051, deux additifs couramment utilisés dans les peintures anti fouling.

Suite à des études préliminaires entamées en 1999 (Nyström et al. 2002), nous avons testé durant l'été 2001 la sensibilité à court terme au cuivre et à l'Irgarol 1051 des communautés phytoplanctoniques naturelles du Léman, prélevées dans deux ports et un site de référence. Ces tests ont pris la forme de courbes dose-effet utilisant la fluorescence in vivo ou l'incorporation du carbonate radioactif comme point final de mesure. La pression de sélection induite par les deux toxiques a parallèlement pu être mise en évidence lors d'expérimentations en microcosmes, et indirectement par l'isolement de souches phytoplanctoniques dans les sites étudiés, marquée par une sensibilité réduite lors des tests à court terme des microalgues préalablement soumises à une contamination. Aucun phénomène de co-tolérance pour les deux molécules n'a pu être montré. Cette étude montre l'intérêt d'associer tests de sensibilité (physiologique) et mesure de diversité des communautés (taxonomique), dans des systèmes expérimentaux de complexité croissante, lorsque l'on souhaite évaluer les effets d'une pollution de faible intensité sur les communautés phytoplanctoniques.

Nyström et al. (2002) Water Research 36: 2020-2028

MESURE *IN VITRO* DE L'ACTIVATION DU RECEPTEUR AUX ANDROGENES PAR CERTAINS PESTICIDES ORGANOCHLORES

G. LEMAIRE¹, B. TEROUANNE², C. SULTAN², J. C. NICOLAS², R. RAHMANI¹.

¹ INRA, UMR 1112, Toxicologie Cellulaire et Moléculaire, Antibes, France

² INSERM U439, Pathologie Moléculaire des Récepteurs Nucléaires, Montpellier, France

De nombreux pesticides organochlorés induisent des dysfonctionnements physiologiques et présentent notamment, chez l'homme et l'animal, des effets sur la reproduction et le développement. Ces xéno-hormones provoqueraient des désordres de la fonction de reproduction masculine, tels que des altérations de l'appareil génital, du compte spermatique.... Leur mécanisme d'action pouvant résulter d'une interaction avec le récepteur aux androgènes (AR), certains organochlorés connus pour leurs effets *in vivo*, ont été testés pour leur capacité à interagir avec ce récepteur, par des expériences de liaison et de transactivation. L'activation du AR a été mesurée par référence à l'agoniste de synthèse R1881, en utilisant la lignée cellulaire stable d'origine prostatique, PALM, contenant le AR humain et son élément de réponse (MMTV) couplé à une luciférase. Les expériences de liaison montrent que le DDT, l'o,p'-DDT, le chlordane, l'endosulfan, le methoxychlore, la dieldrine, le chlordane, l'endrine, l'aldrine sont capables de déplacer la liaison du [³H]-R1881 au AR. De plus, l'analyse des activités agoniste ou antagoniste (concentrations de 0.5 à 10 µM) montre que tous ces composés présentent un effet antagoniste vis à vis du AR (DDT > o,p'-DDT > chlordane > endosulfan ≈ methoxychlor > dieldrine ≈ chlordane > endrine > aldrine). Ces résultats démontrent que ces pesticides sont donc capables d'interagir avec le AR et de perturber la voie de signalisation de la testostérone. Compte tenu de l'importante persistance et bioaccumulation de ces molécules, ils accréditent également l'hypothèse selon laquelle l'accroissement des désordres sexuels mâles pourrait être lié à une exposition accrue aux organochlorés présents dans l'environnement.

Programme « Surveillance écologique des sols par les bioindicateurs » : relations doses-effets de 4 contaminants pris individuellement.

Saint-Denis M., Mench M., Bessoule J.J., Etchebers O., Kedziorek M., Bourg A., Crabos J.L., Bassères A., Ribera D.

Ce programme initié en 2000, a pour objectif d'évaluer des biomarqueurs et bio-indicateurs pour la surveillance de la qualité des sols. Des sols prélevés à Montardon (64) ont été contaminés par des doses croissantes (par kg de sol) de 4 composés : plomb (50, 250 et 1250 mg Pb), benzo(a)pyrène (1, 10 et 100 mg B(a)P), phénoclor (1, 10 et 100 mg DP6) et atrazine (2, 10 et 50 µg At). Des bacs de 50 kg de sols ont été laissés en évolution (soumis aux aléas climatiques) pendant 6 mois. En début d'expérience (T0) et au bout de 3 mois (T3) et 6 mois (T6), des échantillons ont été collectés afin de déterminer (1) les paramètres physico-chimiques et les teneurs en plomb dans les eaux de lixiviation, (2) les teneurs en contaminants dans les sols et (3) les effets sur des végétaux et des invertébrés (T0 et T6).

Divers paramètres biométriques (germination, croissance, biomasse) et biochimiques ont été déterminés sur le haricot et la tomate. A T0, les expositions aux Pb, DP6 et B(a)P induisent une diminution de la croissance du haricot. A T6, les expositions à l'At et au B(a)P induisent également une diminution de la croissance du haricot. La densité de chlorophylle des feuilles de haricot et de tomate est augmentée lors des essais avec du Pb et du DP6. L'analyse des acides gras (AG) des feuilles de tomate montre que, pour les deux séries de mesures, l'exposition au Pb n'a pas entraîné d'effet sur la composition en AG alors que celles à l'At et au DP6 ont induit une augmentation du rapport AG saturés/insaturés. Concernant les expositions au B(a)P, ce rapport n'est augmenté qu'à T6.

L'approche multimarqueurs (analyse simultanée de 6 biomarqueurs) chez le ver *Eisenia fetida andrei* a montré que le Pb induit des effets importants à T0 mais faibles à T6. Les résultats obtenus avec les composés organiques varient en sens inverse : les effets les plus marqués sont observés à T6.

Les analyses chimiques ont révélé une forte évolution des teneurs en contaminants dans les sols et les lixiviats. Cette étude a montré que les contaminants induisent des effets au niveau moléculaire chez la tomate et le ver et au niveau biométrique chez le haricot. Mais l'amplitude de ces effets varie en fonction de l'évolution du sol. Les résultats des expositions au Pb sont à relier avec les teneurs mesurées dans les mésocosmes ou les lixiviats qui évoluent fortement sur la période d'étude.

Comment évaluer un effet phytotoxique -

Exposition au zinc et risque phytotoxique: évaluation de la valeur PNEC par des critères d'effets biochimiques.

Mench M., Denaix L., Riff M., Van Oort F., Masson P.

Le rapport de la concentration prédite dans l'environnement (PEC) à la concentration sans effet néfaste dans l'environnement (PNEC) caractérise le risque écotoxique. Pour les végétaux, on propose de quantifier la concentration en métal libre dans la solution du sol et la concentration sans effet néfaste vis-à-vis de fonctions végétales. L'hypothèse est testée dans le cas du zinc sur la zone agricole de Mortagne-du-Nord. Le risque phytotoxique dépendrait de l'exposition au zinc labile dans la solution du sol et non de la concentration totale de la terre fine. Des sols sableux de même type pédologique (Brunisols) avec 4 niveaux de contamination en Zn et de pH croissants ont été choisis sur la zone agricole de Mortagne-du-Nord. La solution du sol a été prélevée par des mini-bougies poreuses mises en dépression. La concentration en Zn total dans la solution du sol dépend plus du pH que de la concentration totale dans la terre fine. L'exposition au Zn dans le cas du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) augmente l'activité de l'ascorbate peroxydase (APx), de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH), de l'enzyme malique (ME) et de l'isocitrate déshydrogénase (ICDH) dans les feuilles primaires. La quantification des concentrations effectives par l'équation de Hill montre que les paramètres biométriques sont modifiés après les paramètres biochimiques. La valeur PNEC sur l'ensemble des critères d'effets est de 11 μM Zn dans la solution du sol. Les sols de la zone agricole de Mortagne-du-Nord avec une concentration en Zn dans la solution du sol supérieure à la valeur PNEC présentent une probabilité de risque phytotoxique vis-à-vis du haricot. Une carte de probabilité du risque phytotoxique peut être construite en quantifiant les valeurs PEC.

✓

**LA NAGEOIRE ANALE DE LA GAMBUSIE (GAMBUSIA HOLBROOKI) :
UN BIOMARQUEUR D'EXPOSITION AUX PERTURBATEURS
ENDOCRINIENS ANDROGENIQUES ET ANTI-ANDROGENIQUES**

G. MONOD, A. LECANU, V. DRÈZE, M. GUELFUCCI & F. LE GAC

*INRA, SCRIBE, Sexualité et Reproduction des Poissons,
Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France.
monod@beaulieu.rennes.inra.fr*

L'influence possible de la pollution chimique de l'environnement sur le fonctionnement des systèmes endocriniens de l'homme et des autres espèces animales a généré, en particulier sous l'égide de l'OCDE, la recherche de bioessais *in vivo* spécifiquement dédiés à l'identification de l'activité perturbatrice endocrinienne des xénobiotiques chez le poisson. Les bioessais actuellement en cours de mise au point concerne la révélation d'effets œstrogéniques. À l'avenir, l'utilisation de caractères sexuels secondaires, présents chez le mâle de certaines espèces, pourrait permettre la caractérisation de biomarqueurs d'effets (anti)androgéniques. La gambusie est un poisson qui exprime un dimorphisme sexuel très marqué. Ainsi, les caractéristiques morphologiques de la nageoire anale du mâle (le gonopode, utilisé lors de la fécondation des femelles) dépendent de l'action d'hormones androgènes. Cette étude a visé à évaluer la possibilité d'utiliser la nageoire anale de la gambusie comme biomarqueur d'(anti)androgénicité des xénobiotiques.

Dans une première expérience, nous avons montré une masculinisation complète de la nageoire anale d'individus femelles exposés durant 5 semaines à 0,2 µg/l de méthyltestostérone (MT, androgène synthétique utilisé en élevage). La transformation débute dès après 10 jours d'exposition. La réponse est plus sensible à la MT qu'à la 11-ketotestostérone, un dérivé 11-oxygéné considéré comme l'androgène actif chez de nombreuses espèces de poissons. Dans une deuxième expérience, nous avons montré que l'exposition simultanée à la MT et à la vinclozoline, fongicide démontré anti-androgénique chez les mammifères, inhibe de manière dose-dépendante la masculinisation du gonopode constatée chez les individus exposés à la MT seule. La vinclozoline diminue également la réserve spermatique d'individus mâles exposés durant leur puberté.

Notre étude montre que, en utilisant la gambusie, des protocoles relativement simples de mise en œuvre et ne nécessitant pas de technique d'analyse très sophistiquée pourraient permettre la mise au point de bioessais révélateurs d'effets (anti)androgéniques chez le poisson.

Étude financée en partie par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement

ANTI-ŒSTROGENICITE *IN VIVO* D'UN LIGAND DU RECEPTEUR Ah, LA β -NAPHTOFLAVONE, CHEZ LA GAMBUSIE (*GAMBUSIA HOLBROOKI*) ✓

H. Rime, E. Aubry & G. Monod

INRA, SCRIBE, Sexualité et Reproduction des Poissons,
Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France.
monod@beaulieu.rennes.inra.fr

La contamination de l'environnement aquatique par des xénobiotiques à activité œstrogénique a amené la caractérisation de biomarqueurs d'exposition comme l'induction de la synthèse de protéines œstrogéno-dépendantes chez le poisson mâle. Mais ce type de réponse pourrait être modulé par certains polluants, ligands du récepteur Ah (dioxines, PCBs, HAPs). Ceux-ci auraient en effet une activité anti-œstrogénique. Partant de ces éléments, nous avons essayé de déterminer si une exposition à un ligand modèle du récepteur Ah, la bêta-naphtoflavone (BNF), pouvait inhiber la synthèse des protéines œstrogéno-dépendantes chez la gambusie (*Gambusia holbrooki*).

Nos résultats montrent que, chez la gambusie mâle, une exposition à la BNF à des concentrations de 0,25, 1,0 ou 4,0 $\mu\text{g/l}$ pendant 2 jours, suivie d'une exposition simultanée à ces concentrations en BNF et à l'éthinylœstradiol (EE2) à la concentration de 0,1 $\mu\text{g/l}$ durant 1 semaine, se traduit par une synthèse de protéines œstrogéno-dépendantes hépatiques plus faible, voire totalement inhibée, par rapport à celle induite par l'EE2 chez des individus n'ayant pas été exposés préalablement à la BNF. La diminution observée est d'autant plus prononcée que la concentration en BNF augmente. Aucune synthèse n'est d'ailleurs observée chez les individus exposés à 4,0 $\mu\text{g/l}$ de BNF. L'induction de l'activité enzymatique hépatique EROD (marqueur de l'induction du cytochrome P4501A) chez les individus exposés à la BNF atteste que cette dernière a activé les voies de signalisation régulées par le récepteur Ah.

Notre étude montre que l'induction de la voie du récepteur Ah par la BNF s'accompagne d'un effet anti-œstrogénique chez la gambusie mâle. Dans ce cas, la mesure de l'induction de protéines œstrogéno-dépendante n'est pas un biomarqueur représentatif d'une d'exposition aux xénoestrogènes. Un tel antagonisme entre xénobiotiques devrait sans doute être envisagé lors d'études de suivi environnemental visant à évaluer le niveau de contamination du milieu par les xénoestrogènes en utilisant le dosage de protéines œstrogéno-dépendantes chez les poissons mâles.

Étude financée en partie par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement

IMPACT DES PESTICIDES SUR LA DYNAMIQUE DE POPULATION D'UN POISSON (LA GAMBUSIE) EN MESOCOSME : ÉLABORATION D'UN MODÈLE BASÉ SUR LES INDIVIDUS POUR AIDER À L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS ET À LA PLANIFICATION DES EXPÉRIENCES

V. Ginot¹ & G. Monod²

¹ INRA, Unité de Biométrie, Avignon

² INRA, SCRIBE, Sexualité et Reproduction des Poissons, Rennes
monod@beaulieu.rennes.inra.fr

La mise en œuvre d'écosystèmes artificiels de taille réduite (micro- ou mésocosme ; ici réunis sous l'expression "cosme") peut permettre de développer des protocoles expérimentaux d'étude de l'écotoxicité des xénobiotiques sur des processus biologiques complexes (développement de populations et de communautés). Depuis quelques années, nous développons une approche visant à mettre au point les conditions de l'étude des effets des xénobiotiques sur la dynamique de population d'un poisson, la gambusie (*Gambusia holbrooki*). Cependant, lors d'études en cosme, la mise en œuvre d'un grand nombre de réplicats n'est pas facile (coût, charge de travail, surface nécessaire importante). De là découle la question de la représentativité des populations "témoins" qui seraient observées à partir d'un faible nombre de réplicats (classiquement 2 ou 3). Une issue pourrait passer par la simulation de l'ensemble des populations témoins possibles dans le contexte écorégional dans lequel ont lieu les expérimentations. Nous disposerions alors d'un référentiel auquel pourrait être confronté les populations de gambusie obtenues expérimentalement lors d'expositions à des xénobiotiques. Or, les développements récents en matière de modélisation informatique, mais aussi dans la puissance et les capacités mémoire des ordinateurs, permettent aujourd'hui d'imaginer de véritables « mondes artificiels » dans lesquels le devenir d'une population n'est plus vu comme un comportement moyen (entaché au mieux d'un peu de variabilité) mais comme la résultante du comportement individuel de chaque entité. Ce type de modélisation, dite individu-centrée, et qui s'oppose dans une certaine mesure aux modèles plus classiques que l'on pourrait qualifier de population-centrés, ouvre des perspectives intéressantes dans la mesure où, dans bien des cas, il est difficile de prévoir le devenir d'une population sans considérer les variations des performances individuelles (fécondité, croissance, survie, ...).

L'objectif du présent travail est donc principalement de construire un modèle basé sur les individus pour simuler en terme probabiliste la dynamique de population "normale" de gambusie en cosme dans les conditions écorégionales rennaises. Elle pourra servir de référentiel aux résultats obtenus en cosme avec des xénobiotiques. En outre, ce modèle pourrait permettre, par le jeu de simulations, de suggérer des "scénarios à risque" et ainsi aider à la planification des expériences et à leur interprétation. La démarche suivie, ainsi que les premiers résultats sont présentés.

Étude financée en partie par la Structure Scientifique Mixte INRA/DGAL

VERS L'INGENIERIE DES LACCASES POUR UNE APPLICATION ENVIRONNEMENTALE

Claude Jolivalt¹, Pierre Briozzo², Thomas Bertrand³, Catherine Madzak⁴, Eliane Caminade⁵, Christian Mougin⁵

¹Laboratoire de Synthèse Sélective et Produits Naturels, UMR CNRS 7573, ENSCP, 11 rue P. et M. Curie, 75231 Paris Cedex 05

²Laboratoire de Chimie Biologique, UMR 206 INRA-INAPG, 78850 Thiverval-Grignon

³Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales, UPR CNRS 9063, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex

⁴Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire, INRA, 78850 Thiverval-Grignon

⁵Unité de Phytopharmacie et Médiateurs Chimique, route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex

Les laccases fongiques (EC 1.10.3.2) constituent un groupe d'oxydoréductases multicuivrées impliquées dans la dégradation de la lignine, la morphogenèse, la pathogenèse et la virulence fongique, ainsi que dans l'oxydation de nombreux xénobiotiques. Les laccases sont utilisées dans de nombreux procédés de l'industrie des colorants, de la papeterie et des textiles. Une large gamme de substrats a un intérêt environnemental, comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques et pesticides. D'autre part, les laccases fongiques sont inductibles par certains xénobiotiques et sont susceptibles d'être utilisées comme biomarqueurs. Le poster présente des résultats relatifs au clonage du gène codant pour la laccase IIIb de *Trametes versicolor*, ainsi que les résultats obtenus quant à la détermination de la structure cristalline de l'enzyme. Ces études prennent place dans un programme plus vaste visant à l'utilisation optimisée de ces enzymes pour des applications environnementales comme l'évaluation des effets des xénobiotiques ou la biodépollution.

SUIVI DE LA CONCENTRATION EN NICOSULFURON ET EN ATRAZINE DANS DES MESOCOSMES AQUATIQUES

Sylvie Nélieu (1), Roselyne Guichon (1), François Perreau (1), Christian Bry (2),
Jacques Einhorn (1)

(1) *Unité de Phytopharmacie et Médiateurs Chimiques, INRA, Route de Saint-Cyr,
78026 Versailles cedex, France*

(2) *Laboratoire d'Ecologie Aquatique, INRA, 65 rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes
cedex, France.*

La présence de pesticides dans les eaux naturelles peut entraîner un risque écotoxicologique pour un écosystème aquatique. L'évaluation de ce risque nécessite de connaître à la fois le niveau d'exposition et l'impact des contaminants sur les individus susceptibles de déséquilibrer la chaîne trophique. Cet impact a été étudié dans des mésocosmes aquatiques, permettant de maîtriser les paramètres expérimentaux tout en gardant un niveau d'organisation représentatif d'un milieu naturel (zone de frayère en eaux calmes). Les effets induits par l'atrazine ont été comparés à ceux du nicosulfuron, une sulfonilurée qui constitue un substitut possible. L'évolution de la concentration en pesticides a fait l'objet d'un suivi, de façon à la corréler avec les effets biologiques.

Dans le cadre de cette étude, nous avons développé une procédure pour l'analyse du nicosulfuron adaptée à son caractère instable et polaire. Le pesticide est préconcentré par extraction liquide-solide sur un support polymérique, puis analysé par HPLC avec détection UV-barrette de diodes. La spécificité de cette méthode est basée sur l'utilisation alternée des formes neutre et anionique de la molécule (pK_a 4,6), tout en tenant compte de sa sensibilité à l'hydrolyse. Le rendement et la reproductibilité du protocole ont été vérifiés dans différentes matrices.

Le suivi analytique du nicosulfuron et de l'atrazine a été réalisé dans des mésocosmes aquatiques, lors de deux campagnes d'étude. La confrontation des résultats avec les données biologiques vise à dégager des informations au plan écotoxicologique.

Des travaux se poursuivent au laboratoire en vue de l'extension ou de l'adaptation de cette méthodologie à d'autres sulfonilurées et/ou à leurs produits de dégradation. Cette étude prend en compte les différences de pK_a et de polarité, ainsi que la sensibilité à l'hydrolyse.

comp. Traces



LES POLLUANTS ORGANIQUES DANS LES SYSTEMES DE TRAITEMENT DES EAUX

D. Patureau, E. Trably, N. Delgenes, J.P. Delgenes
INRA LBE, avenue des Etangs, 11100 Narbonne, France, tel : 04 68 42 51 69,
email : patureau@ensam.inra.fr

Les stations d'épuration constituent un nœud privilégié de convergence des eaux résiduaires urbaines, industrielles et souvent des eaux pluviales. Ces eaux drainent des pollutions organiques, minérales et des germes. La pollution organique comprend en majorité des molécules facilement biodégradables et d'autres dites réfractaires à la biodégradation, et/ou toxiques, et/ou présentes à l'état de trace. Certains de ces Composés Traces Organiques (CTO), de par leur propriétés physico-chimiques, traversent les systèmes de traitement avec ou sans transformation (biologique ou physico-chimique) et se retrouvent concentrés dans les boues d'épuration (sous-produit du traitement des eaux). Afin de pérenniser la filière majoritaire en France de l'épandage des boues, un arrêté datant de janvier 98 fixe des seuils en ces CTO pour la valorisation des boues sur terres cultivées. Si beaucoup de travaux portent actuellement sur la mesure de l'impact écotoxicologique de ces composés sur différents écosystèmes, peu de données existent sur les potentialités des systèmes de traitement des eaux et des boues à réduire l'impact sur les écosystèmes receveurs (sols et rivières). Or, ces systèmes de traitement font intervenir des biomasses riches et diverses (aérobies, anaérobies, fixées...), mises en œuvre dans des procédés divers (biomasse libre, fixée, couplage avec procédés physico-chimiques), et qui peuvent largement contribuer à la transformation de ces molécules à l'instar des réactions rencontrées dans les sols. Il est donc nécessaire de considérer le rôle de ces systèmes épurateurs dans un contexte global du devenir des CTO au sein de notre écosystème.

Projet norme boues : [nonylphenol] $< 50 \text{ mg/kg mat. sèche}$
→ actuel : soit 1000 mg/kg

HAP bien ↓ par trait^e des boues.

Boues stabilisées de façon h²s ≠ : chaulage
compostage
etc----

Etudes mécanistiques depuis 3 ans.
A

Implication de l'équipe « Physiologie de l'Adaptation et du Stress chez les Poissons » de SCRIBE dans les recherches en écotoxicologie aquatique

P. Prunet, B. Aupérin, I. Leguen

INRA-SCRIBE, campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex

• Introduction

Face à des modifications du milieu environnant (naturelle: température, salinité..., ou anthropiques: pollution industrielle, agricole ou urbaine), les poissons subissent **des perturbations de leur homéostasie**. La régulation de la balance hydrominérale et acide-base, de la respiration et de l'excrétion de déchets azotés constituent les principaux mécanismes conduisant à l'homéostasie chez les poissons. Les travaux développés par l'équipe concernent **le métabolisme hydrominéral et sa régulation**. Ils ont pour but de caractériser des **biomarqueurs, indicateurs de l'état de santé du poisson** face à des perturbations du milieu extérieur. Ces biomarqueurs seront validés par leur pertinence écotoxicologique dans le cadre de collaborations avec nos collègues écologistes et écotoxicologistes.

C'est dans ce contexte scientifique que les trois axes suivant sont développés au sein de l'équipe :

- 1. Impact des xénobiotiques sur la physiologie branchiale
- 2. Développement de tests permettant d'évaluer l'impact de xénobiotiques sur la production de cortisol chez le poisson en situation de stress. *cortisol = principale hormone de stress/poisson*
- 3. Développement de tests pour évaluer les effets de perturbateurs endocriniens sur le fonctionnement des récepteurs minéralocorticoïdes et glucocorticoïdes de truite.

mécanisme induisant mort cellulaire
(en vieillissement accéléré)



INDUCTION DE L'APOPTOSE PAR LE CADMIUM VIA LA VOIE MITOCHONDRIALE: IMPLICATION DU STRESS OXYDANT ✓

C. RISSO-DE FAVERNEY, G. DE SOUSA, R. RAHMANI

INRA, UMR 1112, Toxicologie Cellulaire et Moléculaire, Antibes, France

Au cours de nos précédents travaux, nous avons démontré que le cadmium (Cd) induisait le stress oxydant et l'apoptose dans des hépatocytes de truite. La présente étude porte sur l'analyse des mécanismes moléculaires conduisant à cette mort cellulaire et sur l'implication du stress oxydant à ce niveau. L'exposition des hépatocytes de truite au Cd (2-10 μM) provoque une activation dose-dépendante des caspases 3 (55 et 113%, après 24 et 48h d'exposition à 10 μM), et des caspases 8 et 9 (+940 et 1130%, après 24h). De plus, les analyses par Western Blots montrent une libération du Cyt-c dans le cytosol et une redistribution de la protéine pro-apoptotique Bax au niveau mitochondrial après 24 et 48h. Une diminution de l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-XL, connue pour être régulée par le stress oxydant, est également observée, en réponse à des concentrations de 2 et 5 μM en Cd, au bout de 6 et 24h d'exposition. Cette expression augmente cependant à 10 μM après 48h d'exposition. Par ailleurs, 2 types d'antioxydants, le TEMPO (100 μM) et la N-acétyl cystéine (NAC, 100 μM), ont été utilisés afin de déterminer l'implication du stress oxydant dans l'apoptose induite par le Cd. Un traitement simultané des hépatocytes au Cd et à l'un de ces antioxydants réduit significativement l'activation des caspases 3, après 48h d'exposition, mais également celle des caspases 8 et 9, après 24h. Dans les mêmes conditions de traitement, la présence de TEMPO ou de NAC atténue le relargage cytosolique du Cyt-c provoqué par le Cd, ainsi que le niveau de Bax dans les fractions mitochondriales, après 24 et 48h d'exposition. Enfin, nos données montrent que ces antioxydants permettent de maintenir un niveau d'expression élevé de Bcl-XL dans les hépatocytes de truite co-traités au Cd. En conclusion, ces résultats démontrent le rôle déterminant des mitochondries dans la cascade d'évènements conduisant à l'apoptose en réponse au Cd, ainsi que la relation existant entre le stress oxydant et la mort cellulaire des hépatocytes de truite.

LES RÉACTIONS HÉMOCYTAIRES EN TANT QUE DE BIOMARQUEURS D'EXPOSITION DE *LYMNAEA STAGNALIS* À L'ATRAZINE

^{1,2}Russo, J. et ¹Lagadic L.

¹UMR INRA-ENSAR « Écobiologie et Qualité des Hydrosystèmes Continentaux », Équipe Écotoxicologie et Qualité des Milieux, 65 rue de Saint-Brieuc - CS 84215, 35042 Rennes cedex. ²UMR 6553 'Ecobio' CNRS, Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex.

L'objectif premier de cette étude consiste en la caractérisation, chez l'espèce modèle *Lymnaea stagnalis*, de biomarqueurs d'immunotoxicité répondant à la présence d'un herbicide, l'atrazine. Les immunomarqueurs mesurables au niveau des individus seront évalués au cours d'une deuxième étape au niveau populationnel. En effet, depuis plusieurs années, cette espèce est utilisée dans le cadre d'études écotoxicologiques combinant identification de biomarqueurs individuels en laboratoire et validation des réponses sur des populations en mésocosmes. Ce programme est donc en continuité avec une démarche pluridisciplinaire étudiant l'impact des pesticides sur les fonctions physiologiques des invertébrés d'eau douce.

Le suivi des effets individuels de l'atrazine sur les limnées prend en compte d'une part la relation concentration-réponse (10, 23, 50, 100 µg/l) et d'autre part la relation temps-réponse (24, 48, 72, 96, 168, 336, 504 et 672 heures d'exposition). Les paramètres cytologiques analysés pour évaluer les effets de l'exposition des individus à l'atrazine sont le nombre d'hémocytes circulants, la phagocytose et le burst oxydatif. Une seule catégorie cellulaire a été identifiée, avec deux sous-populations caractérisées par la taille et la granulométrie : les petites cellules rondes immatures et les grandes cellules granuleuses qui sont des phagocytes.

L'exposition à l'atrazine entraîne une augmentation du nombre total d'hémocytes circulants. Chez les individus exposés, un pic de densité cellulaire apparaît après un temps de latence d'environ 96 h, puis le nombre de cellules se stabilise à un niveau toujours supérieur à celui observé chez les témoins. Quelle que soit la concentrations en atrazine, les courbes présentent un profil similaire, sans qu'aucun effet concentration-réponse ne soit observable.

L'exposition de courte durée (24h, 96h) se manifeste par une diminution de la phagocytose des billes de latex ou d'*E. coli*, avec un effet concentration-réponse : plus la concentration en atrazine est élevée, plus la phagocytose est faible. Après une exposition chronique, durant trois semaines, le xénobiotique continue d'inhiber la phagocytose d'*E. coli*. Le burst oxydatif mesuré après activation par *E. coli* ou par le Phorbol Myristate Acetate (PMA) n'est pas modifié par l'atrazine.

Ces résultats montrent que des concentrations en atrazine proches de celles rencontrées dans le milieu naturel ont un impact sur le système immunitaire de la limnée. La réaction au xénobiotique se traduit par une stimulation de la concentration hémocytaire et une diminution de la phagocytose.

Cette première approche en laboratoire a permis de tester la sensibilité des variables étudiées. L'identification de ces biomarqueurs offre des perspectives favorables à un validation sur le terrain. Dans cette optique, des études en micro- et mésocosmes devraient permettre d'évaluer la variabilité intra-populationnelle des biomarqueurs d'immunotoxicité identifiés chez la limnée.

CS ADSORPTION ON TROPICAL ARABLE AND FOREST SOILS OF TAIWAN

STAUNTON S. & C. Y. CHUI

Unité de Science du Sol, INRA, place Viala, 34060 Montpellier Cedex, FRANCE,
staunton@ensam.inra.fr

Much of the research on the fate of radiocaesium in soils has been devoted to soils of the temperate regions and so little information is available on tropical and sub-tropical eco-systems. The installation of nuclear power reactors in tropical countries and the consequent risk of introduction of radioisotopes to the environment require that this deficiency be rectified. We have therefore investigated the Cs adsorption properties, by measurement of the distribution coefficient, K_d , of various arable and forest soils from Taiwan. All measurements were carried out in dilute suspension under controlled conditions of temperature and ionic strength. Various ionic conditions were compared, particularly the effect of varying potassium concentration. One of the shortcomings of the K_d measurement to understand and predict the dynamics of radiocaesium in soil is that it takes no account of the reversibility of adsorption, whereas in any real situation both processes occur. The reversibility of adsorption was assessed by resuspending ^{137}Cs contaminated soil in a solution of stable CsCl and comparing the desorption K_d with the adsorption K_d obtained at the same initial stable Cs concentration. The data are examined with particular reference to the mineral and organic composition of the soils, pH, nutrient status and pedoclimatic conditions under which the soil was developed.

UPTAKE OF RADIONICKEL FROM SOIL BY ROOTS AND DISTRIBUTION BETWEEN ROOTS AND SHOOTS

^{1,2}Pinel, F., ²Leclerc-Cessac, E. & ¹Staunton, S.

¹Unité de Science du Sol, INRA, place Viala, 34060 Montpellier, France

²Service Biosphère et Environnement, ANDRA, parc de la Croix Blanche,
1-7 rue J. Monnet, 92298 Châtenay-Malabry, France.
pinel@ensam.inra.fr

1. Introduction

A long-lived radio-isotope of nickel is likely to be present in nuclear waste destined for long-term storage. Radioprotection analysis therefore requires a good understanding of the mechanisms that determine its mobility in soil and its uptake by biological systems, and particularly its entry into the human food chain. Nickel is naturally present in many soils as trace element and its mobility in soil is known to be a function of soil characteristics, especially pH. At trace levels, nickel is an essential element for plants. The uptake and translocation of radionickel within plants are therefore expected to vary between soil types and plant species.

Our aim is to compare soil-to-root transfer and the subsequent root-to-shoot transfer for various edible plant species grown on two contrasting soils. The plant species chosen were rape, red fescue, sheep fescue, rye grass, clover, radish and tomato.

2. Materials and Methods

Plants were grown in a special cropping device which allows soil-plant exchange without direct contact, thereby allowing easy separation with no risk of contamination of root tissue by soil. The soils used are a rendzina with a pH of 7.5 and a CEC of 217 mol_e/kg and a sandy silt with a pH of 4.9 and a CEC of 56 mol_e/kg. The radionickel adsorption properties of the soils, and thus their capacity to restrict bioavailability, were assessed by measuring the distribution coefficient, K_d, defined as the ratio of concentrations in the solid phase and in solution. The K_d value of the rendzina was 123 dm³ kg⁻¹ and that of the sandy silt, 2.8 dm³ kg⁻¹. Young plants were grown on nutrient solution then placed in contact with soil containing *circa* 5 kBq g⁻¹ ⁶³Ni for 7 days. The soil was then removed and roots and shoots separated, weighed and dried. The radionickel content of the plant tissues was measured by liquid scintillation after acid digestion.

3. Results and Discussion

Figures 1 and 2 show that there is little variation in the amount of radionickel transferred from soil to plants between species grown on a given soil. However there is a large contrast between soils, there is a 10-fold greater transfer from the acid sandy silt than from the rendzina. Figures 3 and 4 show that the soil causes a marked contrast in the pattern of translocation from roots to shoots. About 40% of absorbed ⁶³Ni is transferred to shoots for all species grown on the rendzina, whereas this percentage varies in the range 10-80 for the other soil. Biomass production on both soils is similar and so cannot be the reason for differences in translocation. These differences will be discussed in relation to soil pH, the nutrient status of the plants and the uptake of stable Ni from each soil. We consider it is important to consider both root uptake and translocation in assessing the risk of contamination of the food chain, rather than simply measuring the overall transfer from soil to above-ground organs.

Acknowledgements

This study was partially financed by the doctoral programme of the ANDRA (Agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs, France).

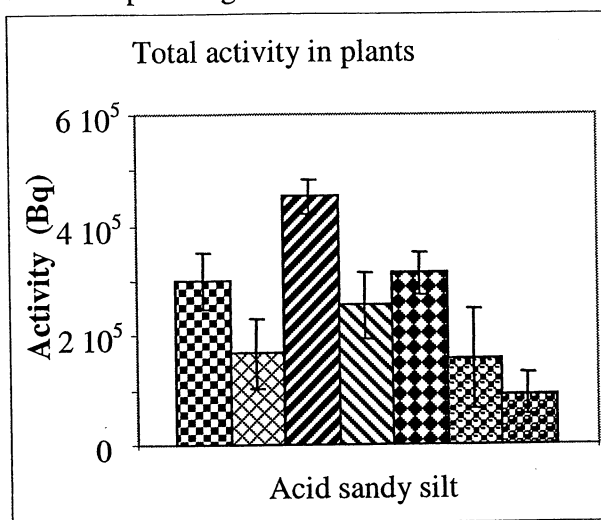


Figure 1: Amount of ^{63}Ni in the plants grown on the acid sandy silt soil

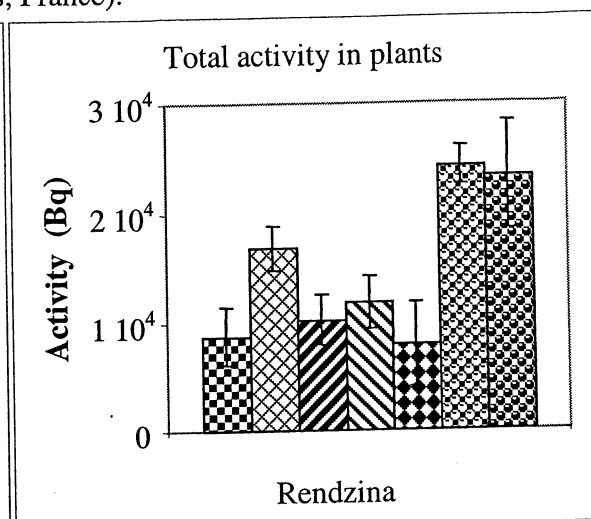


Figure 2: Amount of ^{63}Ni in the plants grown on the rendzina

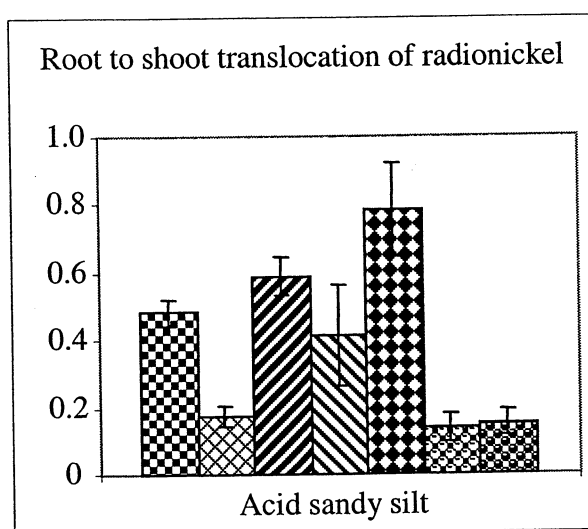


Figure 3: Proportion of absorbed ^{63}Ni transferred from roots to shoots in the plants grown on acid sandy silt soil

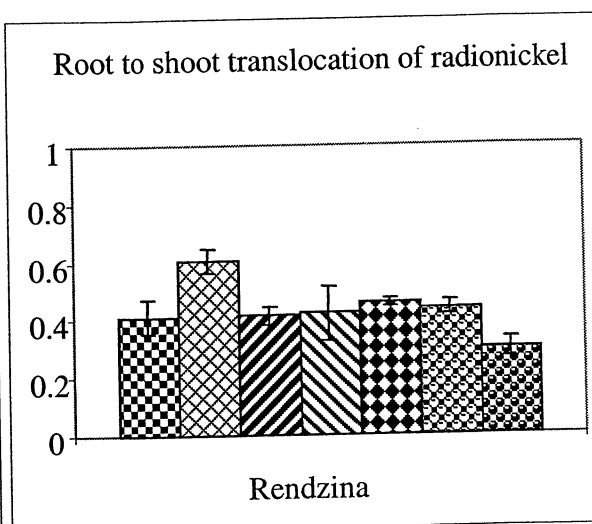
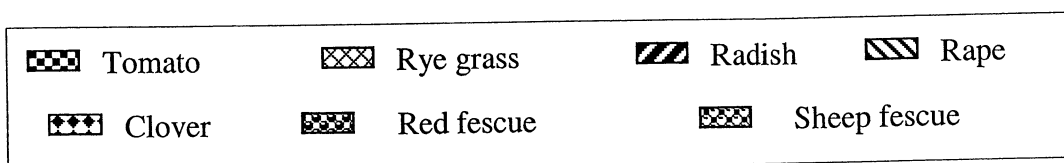


Figure 4: Proportion of absorbed ^{63}Ni transferred from roots to shoots in the plants grown on rendzina



UPTAKE OF RADIOCAESIUM BY ROOTS AND DISTRIBUTION BETWEEN ROOTS AND SHOOTS

¹Pinel, F., ²Leclerc-Cessac, E. & ¹Staunton, S.

¹Unité de Science du Sol, INRA, place Viala, 34060 Montpellier, France

²Service Biosphère et Environnement, ANDRA, parc de la Croix Blanche,
1-7 rue J. Monnet, 92298 Châtenay-Malabry, France.

pinel@ensam.inra.fr

1. Introduction

The presence of radiocaesium in soils, a radionuclide with a relatively long half-life is observed and its behaviour has been studied for many years. This radionuclide has been introduced in the environment essentially by atmospheric nuclear tests (1950-1960) and Chernobyl accident (1986). The transfer of this element from soil to plants is one of the principal means of entry into the food chain. In soils, the bioavailability of caesium is essentially determined by its adsorption (Coughtrey & Thorne, 1983, Kirk & Staunton, 1989). Observations *in situ* and in laboratory have shown differences for soil to plant transfer with various plant species on the same soil. Our aim is to investigate whether these differences are due to root uptake or to redistribution of caesium within plants.

2. Materials and Methods

Plants are grown in a special cropping device which allows soil-plant exchange but without direct contact. The soil used is a sandy-silt with a pH of 6.7 and a CEC of 146 mol/kg. Its distribution coefficient, K_d , in adsorption is $3.4 \times 10^3 \text{ dm}^3 \text{ kg}^{-1}$; this value is intermediate in the range of observed soil K_d values (e.g. $10^2 - 10^5 \text{ dm}^3 \text{ kg}^{-1}$ in Smolders et al, 1997). Young plants were placed in contact with soil containing $40 \text{ kBq g}^{-1} \text{ }^{137}\text{Cs}$ for 7 days. After contact, the activity in plant roots and shoots was measured by liquid scintillation on acid extracts. Plant species are typical of edible plant parts which contribute, directly or indirectly, to human food (rape, red fescue, sheep fescue, wheat, tomato).

3. Results and Discussion

Total quantity of radiocaesium in plants varies little between all the species, as seen in figure 1. There is a correlation between the activity taken up and plant growth during the period of soil-plant contact (data not shown). However the variation in the distribution between roots and shoots is greater. The proportion of absorbed ^{137}Cs which has been transferred to the shoots varies from 0.23 for red fescue to 0.58 for rape. Differences in translocation may thus be more important than root uptake. Part of the reason may lie in differing growth patterns.

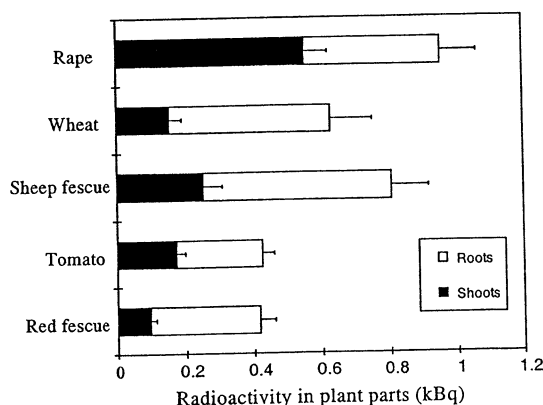


Figure 1. ^{137}Cs found in roots and shoots of various plants after 1 week of growth in contact with contaminated soil (40 MBq kg^{-1}). The same data may be expressed as the ratio of concentrations of ^{137}Cs (Bq g^{-1} dry matter) in shoots and roots. Figure 2 shows the relation between ^{137}Cs distribution in plants and resource allotment for growth of shoots and roots. If the redistribution of ^{137}Cs was determined by biomass production, then the ratios of the amount of ^{137}Cs in shoots and roots would be linearly related to the corresponding ratio of dry matter mass, whereas the concentration ratio would be constant. Figure 2 shows that this is not the case. In general, the ratio of ^{137}Cs concentrations in shoots and roots (C_S/C_R) tends to increase with decreasing mass ratio (M_S/M_R). Concentrations in root are always greater than in corresponding shoots. Ratio between root and shoot concentrations differ with species and vary by a factor of 7.

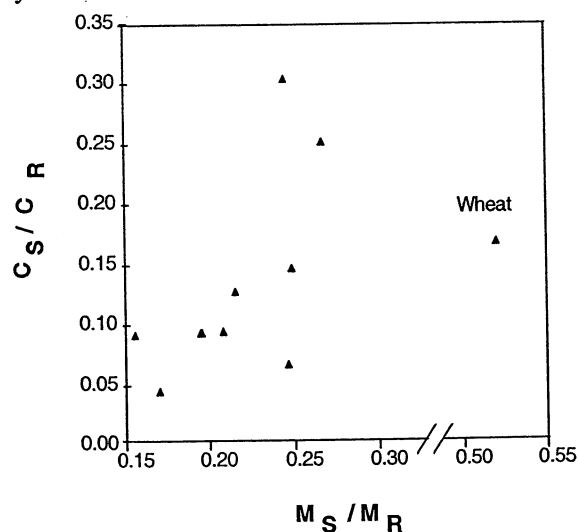


Figure 2. Relation between the ratio caesium concentration in shoots and roots and the corresponding mass ratio.

Variations are also seen in a same genus (a factor of 2 difference between the 2 fescue).

4. Conclusions

We have seen differences in the radiocaesium distribution between roots and shoots in various plants, with no direct relation with plant biomass. Most of the absorbed ^{137}Cs remains in the roots. Much of the observed differences in soil to plant transfer probably arises from variation in the translocation of ^{137}Cs after root uptake. This is therefore an important factor to investigate in studies of contamination of the food chain.

5. References

- Coughtrey, P.J. & Thorne, M.C. (1983). Radionuclide distribution and transport in terrestrial and aquatic ecosystems: Vol. 1., A.A. BALKEMA / Rotterdam, 321-424.
- Kirk, G.J.D. & Staunton, S. (1989). On predicting the fate of radioactive caesium in soil beneath grassland. *Journal of Soil Science*, **40**, 71-84.
- Smolders, E.; Van der Brande, K. & Merckx, R. (1997). Concentrations of ^{137}Cs and K in soil solution predict the plant availability of ^{137}Cs in soils. *Environmental Science & Technology*, **31**, 3432-3438.

Acknowledgements

This study was financed by ANDRA (Agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs, France).

Implication des phytosidérophores dans la mobilisation du cuivre dans la rhizosphère du blé cultivé dans un sol viticole contaminé par des apports de fongicides cupriques.

Valérie CHAIGNON, Delphine DI MALTA et Philippe HINSINGER
UMR Sol & Environnement, place Pierre Viala, 34060 Montpellier cedex 1, France,

Dans les sols, la mobilisation des éléments traces métalliques par les plantes cultivées peut varier suivant l'espèce considérée, en partie à cause de différences de processus rhizosphériques mis en œuvre par les racines (Hinsinger, 2001) : prélèvement d'éléments, modifications de pH et de potentiel rédox et libération d'exsudats racinaires dont certains ont des propriétés complexantes vis à vis des métaux. Ce dernier processus est reconnu jouer un rôle fondamental dans l'acquisition de métaux nutritifs tels que Fe ou Zn chez les graminées (Marschner, 1995 ; Rengel et Römheld, 2000). Il met en jeu des acides aminés spécifiques, les phytosidérophores, dont l'exsudation est stimulée en situation de carence en Fe, voire en Zn ou en Cu (Marschner, 1995 ; Rengel et Römheld, 2000 ; Hinsinger, 2001). De la sorte, il est possible que la contamination de telles espèces végétales par des métaux soit plus élevée que prévu en sols calcaires, comme cela a pu être montré dans le cas de sols viticoles contaminés par Cu par des apports de fongicides à base de sels cupriques (Brun et al., 2001 ; Chaignon, 2001).

L'objectif de cette recherche était d'évaluer, dans le cas de deux génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum*, cv Aroona et Songlen), l'influence de l'exsudation de phytosidérophores sur l'acquisition de Cu (i.e. la biodisponibilité de Cu) dans un sol viticole brun calcaire ayant reçu de longue date des apports répétés de fongicides cupriques. Pour cela une culture en pots a été conduite à l'aide d'un dispositif expérimental permettant un accès facile aux racines et au sol rhizosphérique, adapté de celui de Guivarch *et al.* (1999) comme décrit par Chaignon et Hinsinger (2001). Avant mise en contact avec le sol, les plantules de blé avaient été soumises ou non à une carence en Zn ou en Fe, afin de stimuler la libération de phytosidérophores. La carence en Zn n'a pas été suffisamment sévère pour se traduire par des symptômes visuels. De la sorte, aucun des deux génotypes n'a libéré davantage de phytosidérophores sous carence en Zn. Cependant le génotype reconnu comme le plus efficace pour l'acquisition de Zn (Aroona, cf Rengel et Römheld, 2000) a mobilisé plus de Cu du sol. En revanche, la carence en Fe a résulté (i) en une augmentation de la libération de phytosidérophores (d'un facteur multiplicatif de 2 à 3) chez les deux génotypes et, par suite, (ii) en une augmentation significative de la biodisponibilité de Cu du sol (d'un facteur multiplicatif de 3 à 4). Les phytosidérophores exsudés par les racines ont donc significativement contribué à l'acquisition de Cu par le blé dans ce sol calcaire modérément contaminé en Cu. Cependant, aucune teneur préoccupante (phytotoxique) n'a été atteinte dans les parties aériennes du blé, probablement parce que la majeure proportion de Cu prélevé a été bio-accumulée au niveau des racines. Il faut noter toutefois que la proportion de Cu associé aux parois cellulaires (Cu apoplasmique) des racines a nettement diminué chez les plantes déficientes en Fe. Les phytosidérophores seraient donc en outre impliqués dans la mobilisation de Cu apoplasmique au niveau des racines en modifiant la partition apoplasme/sytoplasme dans le sens d'une absorption accrue de Cu dans les cellules.

Références

- Brun L. A., Maillet J., Hinsinger P. et Pépin M. 2001. *Environmental Pollution* 111 : 293-302.
- Chaignon, V. 2001. Spéciation et biodisponibilité de Cu dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées - Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse de doctorat, Université Aix-Marseille III.

- Chaignon, V. et Hinsinger, P. 2001.** *Journal of Environmental Quality* (soumis)
- Guivarch, A., Hinsinger, P. et Staunton, S. 1999.** *Plant and Soil*, **211**, 131-138.
- Hinsinger P., 2001.** Bioavailability of trace elements as related to root-induced chemical changes in the rhizosphere. In *Trace Elements in the Rhizosphere* (G.R. Gobran, W.W. Wenzel & E. Lombi Eds.), CRC Press LCC, Boca Raton, Florida, USA, pp. 25-41.
- Marschner H. 1995.** Mineral nutrition of higher plants. Second Editions, Academic Press, 889pp.
- Rengel Z. et Römheld V. 2000.** *Plant and Soil* **222** : 25-34.

Biodisponibilité du cuivre et modifications de pH dans la rhizosphère du colza cultivé dans un sol viticole acide après chaulage ou non.

Marie QUESNOIT, Valérie CHAIGNON et Philippe HINSINGER

UMR Sol & Environnement, place Pierre Viala, 34060 Montpellier cedex 1, France,

Dans les sols viticoles, l'apport massif et répété depuis la fin du 19^{ème} siècle de fongicides à base de sels de cuivre pour lutter en particulier contre le mildiou a conduit à une augmentation significative des teneurs en cuivre (Cu) des sols. Dans les horizons de surface, les teneurs en Cu total atteignent fréquemment 100 à 1000 mg Cu kg⁻¹ sol, alors qu'elles sont de l'ordre de 10 à 30 mg Cu kg⁻¹ sol en sols non contaminés (Chaignon, 2001). En Languedoc-Roussillon, le remplacement récent de la vigne par d'autres cultures sur une large part du territoire (plus de 100 000 ha depuis 1975) pose actuellement la question de la biodisponibilité de Cu pour ces espèces cultivées. Est considérée comme biodisponible la fraction d'un métal présente dans le sol dans un état susceptible d'être prélevé par un être vivant considéré, par les racines dans le cas des végétaux supérieurs. Cette définition sous-entend implicitement que la biodisponibilité dépend de l'être vivant considéré. S'agissant de plantes, une part des différences de biodisponibilité entre espèces considérées tient aux différents processus rhizosphériques impliqués dans l'acquisition des métaux par les racines (Hinsinger, 2001). En effet, en prélevant des éléments, en libérant des exsudats racinaires dont certains ont des propriétés complexantes vis à vis des métaux, en modifiant le potentiel rédox et plus encore le pH, les racines peuvent considérablement modifier la spéciation et, par suite, la biodisponibilité des métaux dans la rhizosphère.

L'objectif du présent travail était d'évaluer comment l'impact de modifications de pH rhizosphérique induites par les racines sur l'extractibilité chimique et la biodisponibilité de Cu variaient avec le pH du sol résultant d'un chaulage plus ou moins important. Le colza (*Brassica napus* cv Goeland) a été utilisé comme plante-test. Pour cela, il a été cultivé en conditions contrôlées de laboratoire sur un échantillon de sol viticole contaminé par des apports de fongicides cupriques plus ou moins anciens (horizon superficiel présentant un niveau de 173 mg Cu kg⁻¹ sol). Ce sol initialement très acide (ferralsol du bassin versant de Roujan – Hérault ; pH = 3,7 en présence de CaCl₂) a été chaulé avec 10 niveaux d'apport différents de Ca(OH)₂ comprenant en outre un témoin sans apport, afin de couvrir une gamme de valeurs de pH allant de 3,7 à 6,1. Le dispositif de culture utilisé a été adapté de celui de Guivarch *et al.* (1999), comme décrit par Chaignon et Hinsinger (2001). L'avantage majeure de cette technique est de permettre un accès aisé aux racines, mais aussi au sol rhizosphérique situé à leur contact immédiat (distance < 1,5 mm), en vue de leur analyse.

Le chaulage a résulté en une nette diminution de l'extractibilité de Cu mesurée avec CaCl₂, dans une gamme de pH comprise entre 3,7 et 5,4. Peu d'effet du chaulage été constaté en revanche au-delà de cette valeur de pH. Contrairement aux résultats précédents, la biodisponibilité de Cu, mesurée au travers des prélèvements réalisés par les plantes, n'a pas varié significativement avec le pH résultant du chaulage, sur l'ensemble des 10 traitements effectués. Cependant, un résultat remarquable est que le colza a acidifié sa rhizosphère pour des valeurs de pH du sol supérieures à 4,8 et l'a alcalinisée pour des valeurs de pH inférieures. Ainsi, l'absence de dépendance au pH de la biodisponibilité de Cu peut être en partie expliquée par le jeu de ces modifications de pH rhizosphériques qui ont partiellement contrebalancé l'effet du

chaulage: une gamme plus réduite de valeurs de pH du sol et conséquemment, de teneurs en Cu extractible par CaCl_2 ont en effet été trouvées dans la rhizosphère, comparativement au sol témoin non cultivé. De plus, la teneur en Cu apoplasmique des racines est apparue augmenter avec le pH de la rhizosphère, probablement en liaison avec une augmentation de la dissociation et de l'affinité pour Cu des constituants des parois cellulaires. Pour vérifier de telles conclusions, il est donc nécessaire de tester d'autres espèces végétales et de plus longues périodes d'exposition à des sols contaminés par Cu.

Références

Chaignon, V. 2001. Spéciation et biodisponibilité de Cu dans la rhizosphère de différentes plantes cultivées - Cas de sols viticoles contaminés par des fongicides. Thèse de doctorat, Université Aix-Marseille III.

Chaignon, V. et Hinsinger, P. 2001. *Journal of Environmental Quality* (soumis)

Guivarch, A., Hinsinger, P. et Staunton, S. 1999. *Plant and Soil*, **211**, 131-138.

Hinsinger P., 2001. Bioavailability of trace elements as related to root-induced chemical changes in the rhizosphere. In *Trace Elements in the Rhizosphere* (G.R. Gobran, W.W. Wenzel & E. Lombi Eds.), CRC Press LCC, Boca Raton, Florida, USA,

REGULATION DES MECANISMES DE DETOXICATION ET DE SURVIE HEPATOCYTAIRES EN REPONSE AU LINDANE

N. ZUCCHINI, J. PIZZOL, G. de SOUSA, R. RAHMANI

INRA, UMR 1112, Toxicologie Cellulaire et Moléculaire, Antibes, France.

Le lindane, pesticide organochloré persistant et bioaccumulé le long des chaînes trophiques, est reconnu comme un promoteur de tumeur hépatique chez le rat. Il est biotransformé au niveau du foie selon un schéma complexe conduisant à de nombreux métabolites réactifs. Afin de compléter les données toxicologiques chez l'animal, nous avons analysé les impacts de ce composé sur les mécanismes de détoxification et de survie hépatocytaires. L'expression des cytochromes P450 et des protéines anti-apoptotiques ont ainsi été mesurées après exposition de primo-cultures d'hépatocytes de rat au lindane. Les résultats obtenus par Western blots et par dosage des activités enzymatiques démontrent que cette molécule induit significativement l'expression de la sous-famille CYP3A. De plus, elle inhibe les processus apoptotiques par sur-expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-xL et par inhibition de l'activation de la caspase 3. Ce mécanisme de protection n'entraîne toutefois pas une survie hépatocytaire totale car à fortes concentrations, le lindane provoque un phénomène de nécrose. Des résultats récents de notre laboratoire ont montré que d'autres inducteurs prototypes du CYP3A étaient capables d'inhiber eux aussi l'apoptose hépatocytaire. Nos résultats suggèrent donc que les effets de promotion tumorale du lindane seraient liés à l'inhibition de l'apoptose de cellules, qui auraient normalement dû disparaître suite aux potentielles agressions génotoxiques de ce pesticide. Ces données seront prochainement complétées grâce à une approche toxicogénomique, nous permettant d'analyser plus globalement les impacts du lindane sur les processus de détoxification et de survie hépatocytaires.