



Étude écotoxicologique de la sensibilité aux contaminants métalliques de la mulette perlière en Dronne amont, Dordogne

Magalie BAUDRIMONT, Patrice GONZALEZ, Alexia LEGEAY, Nathalie MESMER-DUDONS, Éric GOURSOLLE, Julie CHEVALIER, Bénédicte PÉCASSOU & Romain PAPIN-VINCENT



M. Baudrimont

F. Desmesure

La mulette perlière *Margaritifera margaritifera* est aujourd'hui peu représentée dans les rivières de France, avec toutefois une concentration importante de 15 000 individus recensée en Dronne (Dordogne). Bien que la qualité de l'eau de la Dronne soit considérée comme bonne, une source de pollution ponctuelle a été recensée récemment.



P. Gonzalez



A. Legeay



N. Mesmer-Dudons

P. Cîrîț

Il s'agit d'une décharge sauvage qui a reçu, pendant de nombreuses années, toutes sortes de déchets, incluant batteries et piles, dont le ruissellement se rejette dans la rivière au niveau d'un pavage de mulettes de 1 000 à 1 500 individus. Parmi les contaminants métalliques susceptibles d'être présents, le cadmium (Cd), par exemple, est un métal bien connu pour provoquer des dysfonctionnements cellulaires ou physiologiques plus ou moins importants selon les espèces (Perceval *et al.*, 2004 ; Gonzalez *et al.*, 2006 ; Marie *et al.*, 2006). Or, jusqu'à présent, aucune étude écotoxicologique concernant l'effet de la pollution métallique sur la mulette perlière n'a été développée.

Ainsi, les objectifs de cette étude sont d'apporter des connaissances nouvelles

sur les impacts potentiels des polluants métalliques sur *M. margaritifera* à partir d'études couplées de terrain et de laboratoire, à travers (i) l'étude *in situ* des potentiels effets néfastes issus du lessivage de la décharge sauvage sur les mulettes perlières de la Dronne ; (ii) l'étude en laboratoire de l'impact d'un métal toxique bien connu, le cadmium.

Matériels et méthodes

Étude de terrain

Des individus adultes de *M. margaritifera* ont été prélevés en avril et juillet 2009, puis en mars 2010, en amont et en aval de la

décharge sauvage, suite à une demande d'autorisation de prélèvement obtenue auprès du Ministère de l'Environnement en 2009 (effectif de 113 individus). Les analyses ont porté sur 10 individus de chaque site et sur les 3 périodes considérées.

1) Étude expérimentale avec le Cd

30 individus de *M. margaritifera* prélevés en juillet 2009 ont été utilisés pour réaliser une exposition au Cd en conditions contrôlées de laboratoire. 5 conditions expérimentales ont été mises en place, avec 6 individus introduits dans chaque unité expérimentale : « témoin amont » correspondant à des individus prélevés en amont de la décharge ; « témoin aval » correspondant à des individus prélevés à l'aval ; 2 conditions d'exposition au Cd par la voie directe à des concentrations de 2 et 5 µg/L ; et enfin une condition d'exposition à l'œstradiol à 100 µg/L en tant que témoin positif de perturbation endocrinienne, sachant que le Cd est un métal pouvant modifier les régulations endocrines des individus, et notamment des hormones de la reproduction (Pierron *et al.*, 2008). Après 14 jours d'acclimatation, les individus ont été exposés durant 7 jours à 12°C dans l'eau de la Dronne et sur un substrat de sable ultrapur de 7 cm d'épaisseur à chacune de ces conditions.

2) Paramètres analysés

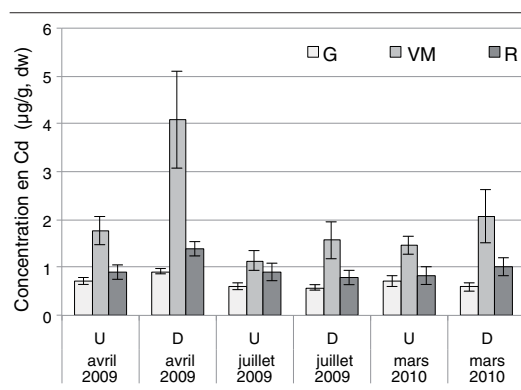
Des mesures morphométriques de la taille des coquilles ont été réalisées. Des indices de condition ont été calculés à partir du poids de chair par rapport au poids de la coquille. Puis, 3 ensembles tissulaires ont été prélevés : les branchies, la masse viscérale et le reste des tissus (manteau et muscles). Les concentrations en métaux ont été déterminées par ICP-MS ou spectrophotométrie d'absorption atomique. Les mécanismes de détoxification ont été évalués par la mesure des concentrations protéiques en métallothionéines (MTs), protéines cytosoliques capables de séquestrer les ions métalliques (Baudrimont *et al.*, 2003 ; Marie *et al.*, 2006 ; Paul-Pont *et al.*, 2010). Parallèlement, l'expression de gènes impliqués dans différentes fonctions cellulaires – lutte contre le stress oxydant (superoxyde dismutase cytoplasmique : *sod* et mitochondriale : *sodMn*), métabolisme mitochondrial (sous-unité 1 de la cytochrome c oxydase : *cox1* et gène ribosomique 12S) et détoxification métallique (métallothionéine : *mt*) – a été mesurée par PCR quantitative après caractérisation et séquençage des gènes non étudiés chez cette espèce, comparativement à un

gène de référence codant pour la β -actine. Enfin, des analyses histologiques de la gonade ont été développées sur les mulettes perlières exposées en laboratoire au Cd afin de déterminer le sexe des individus.

Résultats et discussion

Étude de terrain

Les analyses de bioaccumulation du Cd et des autres métaux dans les tissus de mulettes perlières prélevées en amont et en aval de la décharge ont montré des accumulations significatives à l'aval par rapport à l'amont, en particulier pour le Cd [1], mais également pour Pb, Cr, As et Co, notamment en avril mais aussi en juillet 2009.



[1] Concentrations de Cd mesurées dans les tissus de mulettes perlières (G : branchies, VM : masse viscérale, R : reste du corps) prélevées sur la Dronne amont (U) ou aval (D) en avril, juillet 2009 et mars 2010 (moyennes $\pm$ écart-type, $n = 10$).

Les concentrations de Cd les plus élevées peuvent atteindre jusqu'à 10 µg/g (poids sec) dans la masse viscérale. Cette valeur dépasse le seuil de 5 µg/g (ps) autorisant la consommation humaine de coquillages. Certes, la mulette perlière n'est pas une espèce consommée, néanmoins, cette accumulation de Cd se montre ponctuellement élevée. Si nous comparons ces valeurs à des mesures réalisées dans des mulettes perlières provenant d'Allemagne ou de Finlande, qui respectivement présentent des concentrations de Cd de 50 et 7 µg/g (ps) dans leurs masses viscérales (Frank & Gerstmann, 2007), nous pouvons dire que ces concentrations sont parmi les plus faibles mesurées en Europe.

Fonction	Gène	Branchies	Masse viscérale	Rein
Lutte contre le stress oxydant	<i>sod</i>	1,09	1,91	0,72
	<i>sodMn</i>	0,65	1,65	0,79
Métabolisme mitochondrial	<i>12S</i>	0,75	0,75	0,51
	<i>cox1</i>	1,53	2,61	2,15
Détoxication	<i>mt</i>	0,31	1,81	0,58

[Tableau 1] Facteurs d'induction aval/amont des différents gènes étudiés chez *M. margaritifera* après prélèvement à l'amont et à l'aval de la décharge de Saint-Saud-Lacoussière en juillet 2009 (n = 10). Les facteurs > 2 représentent une induction significative et ceux < 0,5 une répression.

Les analyses d'expression de gènes mesurées en juillet 2009 indiquent que l'expression du principal gène impliqué dans le métabolisme mitochondrial (*cox1*) est plus élevée dans les individus issus de l'aval comparativement à l'amont, quel que soit l'organe [Tableau 1], démontrant une perturbation de la chaîne respiratoire mitochondriale chez les moules perlières. Les expressions des gènes *sod*, *sodMn* et *mt* dans la masse viscérale indiquent également un stress oxydant généré dans ce tissu. Les moules perlières semblent ainsi affectées par la contamination métallique observée précédemment, notamment au niveau de la masse viscérale et des reins, alors que pour cette période de prélèvement, les accumulations métalliques ne sont pas les plus marquées.

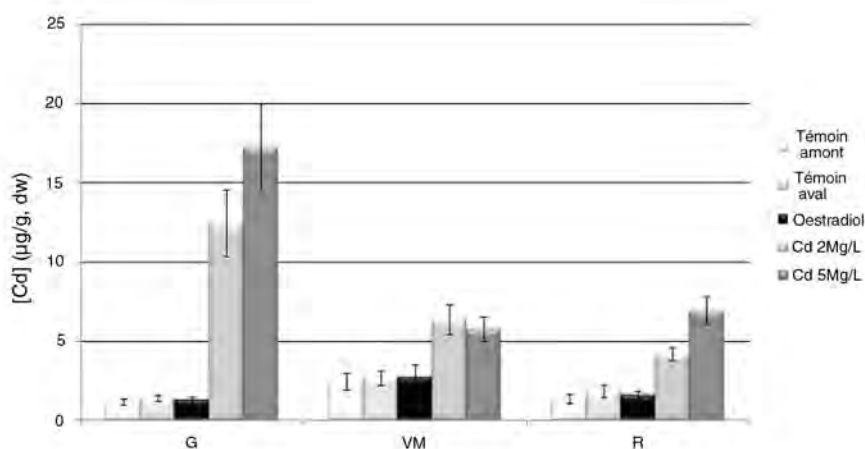
Concernant la synthèse protéique des métallothionéines (MTs), au mois de juillet 2009, une augmentation significative à l'aval par rapport à l'amont est observée, en cohérence avec les accumulations

métalliques observées. Le mécanisme de détoxication par ces protéines de défense s'est donc mis en place.

Étude expérimentale avec le Cd

Les résultats de bioaccumulation du Cd par la voie directe d'exposition montrent des accumulations de Cd marquées dans les conditions 2 et 5 µg/L dans les branchies [2]. Ces concentrations sont dépendantes de la dose d'exposition, notamment dans les branchies et le reste du corps. Au contraire, les concentrations mesurées dans les conditions « témoin aval » et « œstradiol » ne présentent aucune accumulation de ce métal. La moule perlière *M. margaritifera* possède donc bien des capacités d'accumulation du Cd relativement importantes, puisqu'en 7 jours, elle multiplie sa concentration dans les branchies d'un facteur autour de 15.

Les concentrations de MTs, mesurées en parallèle, ne montrent qu'une faible réponse à ce métal comparativement à la



[2] Concentrations de Cd mesurées dans les trois organes de *Margaritifera margaritifera* (G : branchies, VM : masse viscérale, R : reste du corps), en fonction des conditions d'exposition (moyennes ± écart-type, n = 6)

condition « témoin amont » [3]. Ceci veut dire que, contrairement à la plupart des espèces, la moule perlière semble très peu réagir en matière de détoxification par ces protéines à la présence du Cd. Ce résultat est intéressant car il pourrait suggérer une sensibilité particulière de la moule perlière à ce métal. En revanche, une très forte induction de ces protéines est mesurée dans la masse viscérale des moules perlières provenant du site aval. Ces valeurs se rapprochent de celles mesurées *in situ* en juillet 2009, suggérant la présence d'autres contaminants induisant cette réponse.

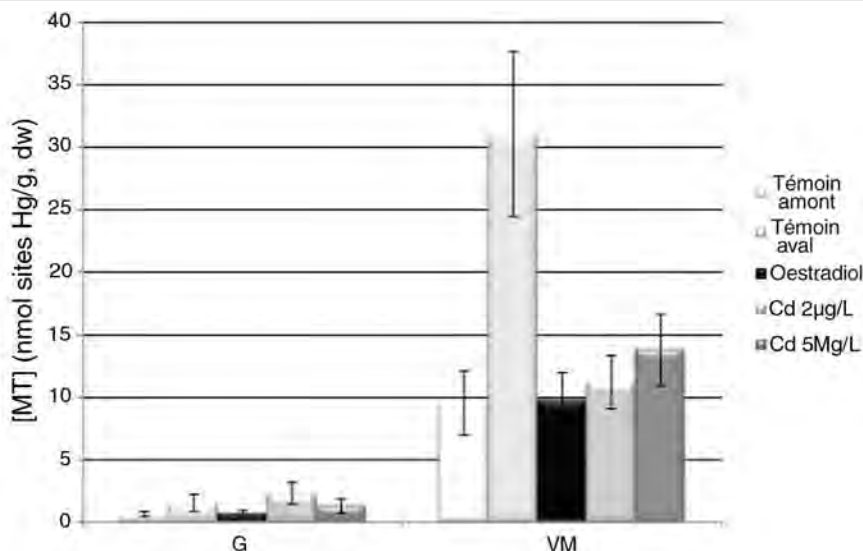
Les expressions génétiques comparées entre l'amont et l'aval montrent la génération d'un stress oxydant dans les branchies par la surexpression du gène *sodMn*. L'expression du principal gène impliqué dans le métabolisme mitochondrial (*cox1*) est également plus élevée, démontrant une perturbation du métabolisme mitochondrial. Enfin, pour le gène *mt*, la plus forte surexpression est notée au niveau du rein, suivi par les branchies et la masse viscérale. Ces résultats sont en cohérence avec les mesures de concentrations protéiques. Concernant l'exposition au Cd, une réponse dose dépendante a été déterminée dans les trois organes étudiés. Dans les branchies, le Cd provoque une surexpression des gènes *cox1* et *mt*, mais également une répression de la *sod* cytoplasmique. Les mêmes tendances sont retrouvées dans le rein et la masse viscérale. Ces résultats sont en accord avec des études précédentes d'exposition

au Cd chez des organismes modèles tels que le poisson zèbre *Danio rerio* (Gonzalez *et al.*, 2006) ou les bivalves *Corbicula fluminea* et *Crassostrea gigas* (Legeay *et al.*, 2005 ; Marie *et al.*, 2006).

Enfin, l'analyse histologique des gonades a permis de mettre en évidence pour les individus témoins une prédominance d'individus hermaphrodites. Il est majoritairement admis que les moules perlières possèdent des sexes séparés, néanmoins, en conditions défavorables, les individus femelles pourraient développer un hermaphrodisme de façon à maintenir leur reproduction (Bauer, 1987). En ce qui concerne les moules perlières de la Dronne, il semble que nous soyons dans cette situation, ce qui est positif dans le sens où ces individus sont bien aptes à se reproduire (gonades mûres avec des ovocytes et des spermatozoïdes). En revanche, ces résultats semblent indiquer une réaction ou adaptation des populations à leur situation actuelle sur cette rivière, qui peut être jugée de façon plutôt défavorable. ■

Bibliographie

BAUDRIMONT M., ANDRÈS S., DURRIEU G. & BOUDOU A. 2003 – The key role of metallothioneins in the bivalve *Corbicula fluminea* during the depuration phase, after an *in situ* exposure to Cd and Zn. *Aquatic Toxicology*, 63, pp. 89-102.



[3] Concentrations de metallothionéines (MTs) mesurées dans les deux principaux organes de *Margaritifera margaritifera* (G : branchies et VM : masse viscérale), en fonction des conditions d'exposition (moyennes $\pm$ écart-type, n = 6)

BAUER G. 1987 – Reproductive strategy of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*. *Journal of Animal Ecology*, 56, pp. 691-704.

FRANK H. & GERSTMANN S. 2007 – Declining Populations of Freshwater Pearl Mussels (*Margaritifera margaritifera*) are burdened with heavy metals and DDT/DDE. *Ambio*, 36 (7), pp. 571-574.

GONZALEZ P., BAUDRIMONT M., BOUDOU A. & BOURDINEAUD J.-P. 2006 – Comparative effects of direct cadmium contamination on gene expression in gills, liver, skeletal muscles and brain of the zebra fish (*Danio rerio*). *Biometals*, 19, pp. 225-235.

LEGEAY A., ACHARD-JORIS M., BAUDRIMONT M., MASSABUAU J.-C. & BOURDINEAUD J.-P. 2005 – Impact of cadmium contamination and oxygen levels on biochemical responses in the Asiatic clam *Corbicula fluminea*. *Aquatic Toxicology*, 74, pp. 242-253.

MARIE V., BAUDRIMONT M. & BOUDOU A. 2006 – Cadmium and zinc bioaccumulation and metallothionein response in two freshwater bivalves (*Corbicula fluminea* and *Dreissena polymorpha*) transplanted along a polymetallic gradient. *Chemosphere*, 65, pp. 609-617.

PAUL-PONT I., GONZALEZ P., BAUDRIMONT M., JUDE F., RAYMOND N., BOURASSEAU L., LE GOÏC N., HAYNES F., LEGEAY A., PAILLARD C. & DE MONTAUDOUIN X. 2010 – Interactive effects of metal contamination and pathogenic organisms on the marine bivalve *Cerastoderma edule*. *Marine Pollution Bulletin*, 60, pp. 515-525.

PERCEVAL O., COUILLARD Y., PINEL-ALLOUL B., GIGUÈRE A. & CAMPBELL P.G.C. 2004 – Metal-induced stress in bivalves living along a gradient of Cd contamination: relating sub-cellular metal distribution to population-level responses. *Aquatic Toxicology*, 69, pp. 327-345.

PIERON F., BAUDRIMONT M., DUFOUR S., ÉLIE P., BOSSY A., BALOCHE S., MESMER-DUDONS N., GONZALEZ P., BOURDINEAUD J.-P. & MASSABUAU J.-C. 2008 – How cadmium could compromise the completion of the European eel's reproductive migration. *Environmental Science and Technology*, 42, pp. 4607-4612.

Magalie BAUDRIMONT, Patrice GONZALEZ, Alexia LEGEAY, Nathalie MESMER-DUDONS, Julie CHEVALIER, Bénédicte PÉCASSOU & Romain PAPIN-VINCENT : Université de Bordeaux, UMR CNRS EPOC 5805, Écotoxicologie Aquatique, Station Marine, Arcachon, France
m.baudrimont@epoc.u-bordeaux1.fr
Éric GOURSOLLE : Université de Bordeaux, UMR CNRS EPOC 5805, Écotoxicologie Aquatique, Station Marine, Arcachon, France, DREAL Dordogne, Périgueux, France
eric.goursolle@agriculture.gouv.fr
