

Université Libre de Bruxelles

Ecotoxicologie

(BIOL-F-441)

Philippe Dubois

Philippe DUBOIS

- phdubois@ulb.ac.be
- Tél: 2839
- Local: UC5.149
- <http://biomar.ulb.ac.be/>
- Recherche:
 - Ecophysiologie du benthos dans le cadre du changement global
 - Effets de l'acidification et de l'accroissement de température et de l'hydrodynamisme sur les organismes marins
 - Interactions entre acidification et contamination par les métaux

Structure du cours

- 4 leçons théoriques
 - But:
 - Introduction aux principes
 - Exemples
- Travail personnel: par groupes de 4 (présentation 11 octobre): Etudes de cas
- Evaluation: Travail personnel (pas d'examen de théorie)

Plan du cours

- Concepts généraux: introduction à l'écotoxicologie
 - Types de contaminants
 - Dynamique dans les écosystèmes
 - Monitoring, bioindicateurs, biomarqueurs, bioessais
- Métaux et organo-métalliques
- Pesticides

Supports pédagogiques

- Copie des diapositives
- Syllabus
- Liste d'ouvrages de référence (BST) et de sites internet intéressants
- <http://biomar.ulb.ac.be/staff/academics/philippe-dubois/>

Horaire

Semaine	Date	Horaire	
21	6/2	10-12h	Ecotoxicologie: aspects généraux
22	13/2	10-12h	Introduction aux travaux personnels Métaux lourds et composés organométalliques (1 ^{ère} partie)
23	20/2	10-12h	Métaux lourds et composés organométalliques (2 ^{ème} partie) Pesticides (1 ^{ère} partie)
24	27/2	10-12h	Pesticides (2 ^{ème} partie) Préparation des travaux personnels
27	20/3	10-12h	Préparation des travaux personnels
28	27/3	10-12h	Préparation des travaux personnels
28	29/3	9-15h30	Présentation des travaux personnels

Introduction à l'écotoxicologie

1. Définitions et objet de l'écotoxicologie

- Ecotoxicologie: étude de la contamination des écosystèmes, des mécanismes d'accumulation des contaminants et des effets de ceux-ci sur les organismes vivants à tous les niveaux d'intégration (de l'individu à l'écosystème)
- Contamination: présence de concentrations supérieures au bruit de fond dans un site donné et un organisme donné

1. Définitions et objet de l'écotoxicologie

- **Pollution**: contamination anthropique et nocive pour les êtres vivants (directement par toxicité ou indirectement en portant atteinte aux activités humaines) (selon les auteurs, uniquement d'origine humaine ou inclut aussi les contaminations naturelles)
- **Xénobiotique**: litt. « étranger à la vie »; composé qui ne fait pas partie de la biochimie normale d'un organisme

1. Définitions et objet de l'écotoxicologie

- **Composantes d'une étude écotoxicologique**
 1. **Définition de la contamination**: nature, concentration, distribution, origine des contaminants
 2. **Détermination de la dynamique des contaminants**: devenir dans les compartiments biotiques et abiotiques de l'écosystème
 3. **Détermination des effets des contaminants** sur les individus, les populations et les communautés et implication pour la santé humaine, les ressources en nourriture, les intérêts commerciaux et la conservation de la nature

1. Définitions et objet de l'écotoxicologie

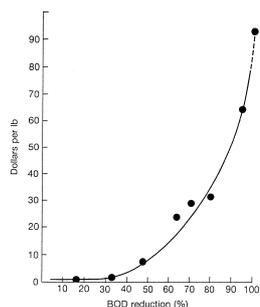


Fig. 1.1. Cost of reducing the organic content (as measured by BOD) of the wastes from a sugar beet factory.

Conflits possibles entre réduction des effets et coûts économiques, sociaux, bien-être de la population

- Production d'énergie et gaz à effet de serre
- Pollution pétrolière et dispersants
- Activité touristique, plongée et pollution côtière

2. Principaux types de contaminants

- 2.1. Classification systématique
 - Physiques: température, radioactivité
 - Chimiques
 - Biologiques: excès de matière organique, microorganismes pathogènes

2. Principaux types de contaminants

- 2.2. Classification fonctionnelle
 - Dégradables: matière organique sujette à attaque bactérienne (processus oxydatif générant CO_2 , H_2O , NH_3)
 - Majeure partie des résidus urbains
 - Lessivage des terres agricoles (engrais)
 - Pollution pétrolière
- Conséquence: eutrophisation

2. Principaux types de contaminants

- Dissipatifs
 - Température (eaux de refroidissement)
 - Acides et bases (pouvoir tampon de l' eau de mer)
 - Cyanure (dissociés dans eau de mer)
 - Particulaires
 - Boues de forage
 - Argiles
 - Contaminants organiques
- Conséquences: diminution de la photosynthèse, modification de la nature des fonds, gêne pour les organismes filtrants

2. Principaux types de contaminants

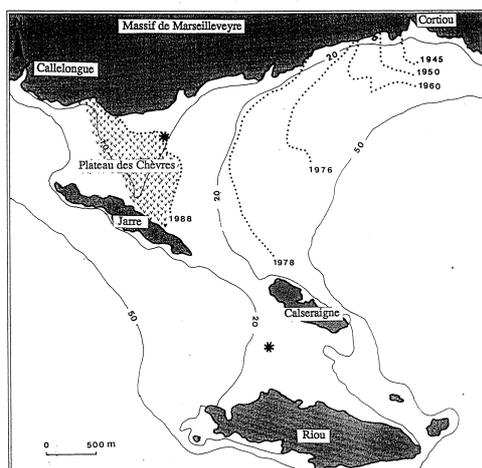


Figure 1 : Evolution de la position de la limite inférieure de l'herbier à *Posidonia oceanica* entre la Calanque de Cortiou et la Calanque de Calalogue depuis 1945 (d'après BLANC et JEUDY de GRISSAC, 1978). La position actuelle (1988) et l'emplacement des balisages (*) sont indiqués.

Particulaires:
régression des
herbiers de
phanérogames
marines



2. Principaux types de contaminants

- Conservatifs: non sujets à attaque bactérienne, ni dissipatifs mais réactifs ou toxiques vis-à-vis des organismes vivants
 - Métaux lourds
 - Hydrocarbures halogénés
 - Éléments radioactifs

3. Dynamiques des contaminants dans les organismes vivants

3.1. Absorption

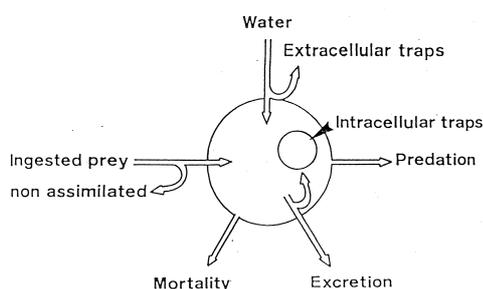


Fig. 12. Model of contamination of a trophic level in an aquatic ecosystem

- Directe: eau de mer
- Indirecte: nourriture
- Dépend
 - Contaminant: type, spéciation, facteurs physico-chimiques de l'environnement)
 - Organisme vivant (physiologie, sexe etc)

3. Dynamiques des contaminants dans les organismes vivants

3.1. Absorption

Ex: Contaminant polaire vs lipophile

Table 3. Concentrations of mercury (ng g^{-1} wet. wt.) and quantity of metal accumulated in eels contaminated for 1 month in sea water containing 1 ng g^{-1} mercury as HgCl_2 or CH_3HgCl . (After Bouquegneau 1975)

	Controls	Contamination by	
		HgCl_2	CH_3HgCl
Muscles	220	345	750
Skin	50	495	250
Digestive tract	100	290	660
Gills	80	1450	1130
Liver	150	500	1540
Kidney	90	790	1080
Whole body	200	390	720
Hg accumulated in fish (ng g^{-1} wet wt):		190	520

3. Dynamiques des contaminants dans les organismes vivants

3.1. Absorption

Ex: Contaminant polaire vs lipophile

Table 4. Percentages of ingested mercury assimilated by some aquatic organisms depending on whether the prey have been directly contaminated by HgCl_2 or CH_3HgCl

Food chain	HgCl_2	CH_3HgCl	Reference
<i>Dunaliella bioculata</i> - <i>Artemia salina</i>	5.7	28.8	Bouquegneau et al. (1979)
Artificial food, <i>Praunus</i> sp.	20.0	43.0	Bouquegneau et al. (1985 a)
Artificial food, <i>Leptomysis</i> spp.	19.0	26.0	Bouquegneau et al. (1985 a)
<i>Chlorella vulgaris</i> - <i>Daphnia magna</i> (10°C)	6.0	21.0	Boudou and Ribeyre (1981)
<i>Chlorella vulgaris</i> - <i>Daphnia magna</i> (18°C)	6.0	58.0	Boudou and Ribeyre (1981)
<i>Tubifex tubifex</i> - <i>Lebistes reticulata</i>	0.7	45.2	Bouquegneau et al. (1979)

3. Dynamiques des contaminants dans les organismes vivants

3.2. Elimination

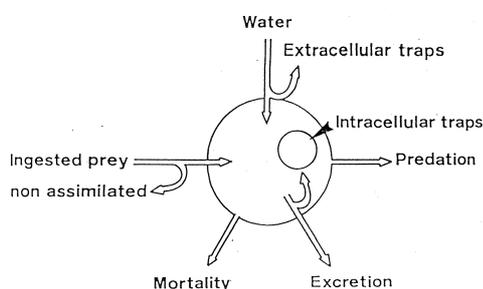


Fig. 12. Model of contamination of a trophic level in an aquatic ecosystem

- Diffusion, excrétion
 - Reins: urine
 - Branchies: eau
 - Intestin, foie: fécès
- Réduction absorption
 - Ex: augmentation de la production de mucus (téléostéens)

3. Dynamiques des contaminants dans les organismes vivants

3.3. Accumulation

- Contaminants conservatifs
 - Métaux
 - Protéines spécifiques ou non
 - Accumulation dans les lysosomes ou granules de l'hépatopancréas
 - Organiques
 - Stockage dans les structures lipidiques

3. Dynamiques des contaminants dans les organismes vivants

3.3. Accumulation

- Bilan: facteur de bioconcentration

$$BCF = \frac{[\text{Contaminant}]_{\text{org}}}{[\text{Contaminant}]_{\text{source}}}$$

- Direct: source = eau de mer
- Indirect: source = nourriture

3. Dynamiques des contaminants dans les organismes vivants

3.3. Accumulation: bioamplification

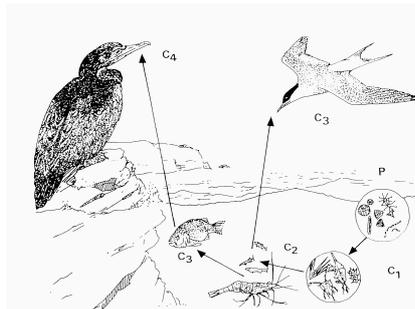


Figure 14.6. Effet de concentration de la dieldrine dans l'écosystème-océan. La concentration est exprimée en ppm (parties par million). Dans l'eau de mer la dieldrine est décelée mais indosable. Producteurs P (phytoplancton : 10^{-3} ppm) ; consommateurs de 1^{er} ordre C1 (zooplancton : 2×10^{-2} ppm) ; consommateurs de 2^e ordre C2 (poissons microphages et crustacés : 3×10^{-1} ppm) ; consommateurs de 3^e ordre (poissons ou sternes : 0,2ppm) ; consommateurs de 4^e ordre C4 (cormoran, foie : 1,6ppm ; œuf : 1,2 ppm)

- Bioamplification (Engl: biomagnification) = bioconcentration à plusieurs niveaux successifs de la chaîne trophique

Phytoplancton: 10^{-3} µg/g
 Zooplancton: $2 \cdot 10^{-2}$ µg/g
 Poissons microphages et crustacés: $3 \cdot 10^{-2}$ µg/g
 Poissons, sternes: 0,2 µg/g
 Cormoran: 1,6(foie); 1,2(œuf) µg/g

3. Dynamiques des contaminants dans les organismes vivants

3.3. Accumulation: bioamplification

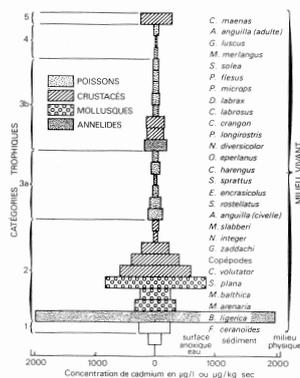


Figure 4-18 — Concentration du Cadmium dans les divers compartiments d'un écosystème estuarien. Sont figurées les concentrations dans le biotope et dans diverses espèces d'invertébrés et de Poissons constituant la communauté (d'après AMIARD et coll., in AMIARD, Bull. Ecol., 20, 1989, n° 2, p. 133).

- Bioamplification
 - Relativement rare
 - Principale voie de contamination en milieu aquatique: eau

4. Effets biologiques

4.1. Effets biochimiques

4.1.1. Réponses protectrices

- Préventives: détoxification
 - ↓ [contaminant] libre
 - Induction d'enzymes (organo-chlorés)
- Curatives: mécanismes
 - Protéines de stress
 - fonction de chaperon
 - réparation de l'ADN

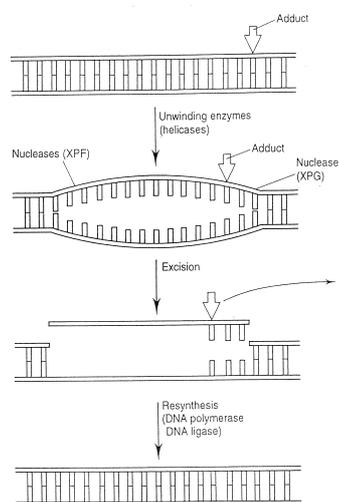


Figure 7.2 Mechanism of DNA repair after adduct formation to remove covalently bound adduct.

4. Effets biologiques des contaminants

4.1. Effets biochimiques et moléculaires

4.1.2. Effets toxiques

- Inhibition
 - Activités enzymatiques
 - Récepteurs: agonistes ou antagonistes
- Altérations
 - ADN

4. Effets biologiques des contaminants

4.1. Effets biochimiques et moléculaires

4.1.2. Effets toxiques

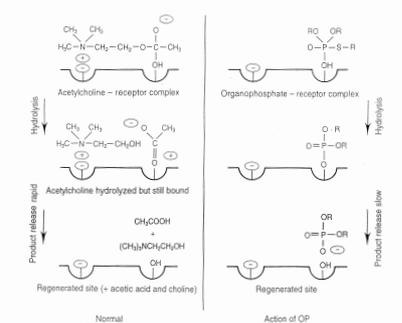


Figure 7.3 Mechanism of action of AChE. Under normal conditions acetylcholine binds to acetylcholinesterase and is then broken down (hydrolyzed) to yield acetic acid and choline which break away from the enzyme. Organophosphates bind to a hydroxyl group belonging to the amino acid serine which is part of the binding site shown on the right hand side of the enzyme surface. When this happens the enzyme is inhibited and can no longer hydrolyze acetylcholine. There is currently dispute over the nature of the binding site for acetylcholine shown on the left hand side of the diagram.

Ex: inhibition Ach estérase par les OP

– Normal

- ACh-AChE = acétylation

- $\tau_{1/2}$ complexe = 0,1ms

– Contamination par les OP

- OP-AChE = phosphorylation

- $\tau_{1/2}$ complexe: 10^6 ms !

4. Effets biologiques des contaminants

4.2. Effets cytologiques

- Altération du fonctionnement cellulaire
 - Apoptose (mort cellulaire programmée)
 - Organites
 - Vacuolisation
 - Membrane nucléaire
 - Réduction des microvillosités
 - RER dilaté
 - Membranes des mitochondries

4. Effets biologiques des contaminants

4.2. Effets cytologiques

Ex: effets du plomb sur épithélium branchial de l'huître



Fig. 7. — Huître contaminée par $Pb(NO_3)_2$ par voie directe pendant 21 jours. Épithélium branchial : Altérations cytotypiques dans la contamination : vacuolisation du noyau (N) du cytoplaste, effacement des microvillosités (Mv) et des cils (C). M : mitochondrie; N : noyau.

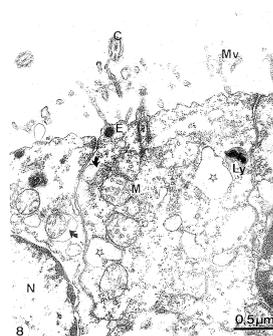


Fig. 8. — Huître contaminée par $Pb(NO_3)_2$ par voie directe pendant 21 jours. Épithélium branchial : Chônes du réticulum endoplasmique granulaire dilaté (E). Les mitochondries ont des cilles qui se raréfient et une membrane externe bossuée (E). Les liposomes (L) contiennent significativement du plomb, associé aux extrémités habituels (x 50000). C : cil; E : endosome; M : mitochondrie; Mv : microvillosité; N : noyau.

4. Effets biologiques des contaminants

4.3. Effets au niveau des organes

- Organe cible particulier
 - ^{125}I accumulée dans la thyroïde des vertébrés → cancer
 - Cd accumulé dans les reins des mammifères → altération des cellules rénales, protéinurie
- Importance d'analyser les organes séparément

4. Effets biologiques des contaminants

4.4. Effets au niveau des individus

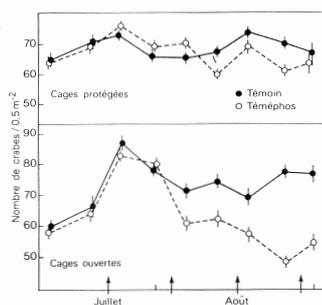
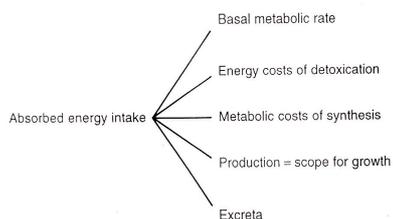


Figure 2-5 — Comparaison des effets d'un traitement au Temephos sur le comportement de fuite de Crabes. On été comparées, la densité de Crabes placés sur des parcelles protégées par un grillage afin de réduire la pression de prédation (témoins) avec celle dans des cages ouvertes à leur face supérieure, ce qui permet l'accès des Oiseaux prédateurs. On constate que dans les témoins la différence de taux de survie n'est pas significative alors qu'elle l'est dans les cages ouvertes. Les flèches représentent les périodes d'application du Temephos, les symboles les valeurs moyennes les traits verticaux les intervalles de confiance (d'après WARD *et al.*, Marine Biology, 1976).

4. Effets biologiques des contaminants

4.4. Effets au niveau des individus

- Mesure de l'effet sur la production: scope for growth
 - SFG= différence entre prise d'énergie et pertes métaboliques totales



4. Effets biologiques des contaminants

4.4. Effets au niveau des individus

Ex: effet du TBT sur le SFG de *Mytilus edulis*

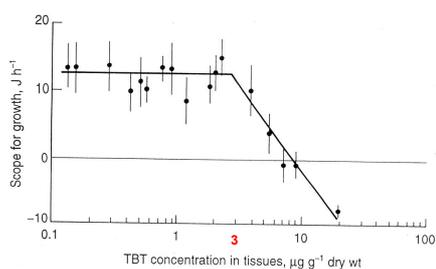


Figure 8.11 Effect of TBT (tributyltin) on scope for growth (SFG) in the mussel, *Mytilus edulis*. From Widdows and Donkin (1992).

4. Effets biologiques des contaminants

4.5. Effets sur les populations et les communautés

- Population
 - Production
 - Survie
 - Reproduction
 - Développement
- Ex: teneur en DDE des œufs et succès de la reproduction des pélicans bruns

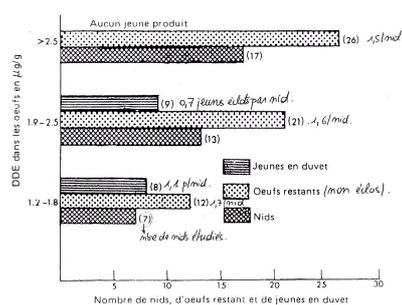


Figure 2-4 — Corrélation entre la teneur en DDE des œufs et le succès de reproduction des Pélicans bruns de Caroline du Sud. Remarquer l'échec total de reproduction dans les nids dont les œufs renferment plus de 2,5 µg de DDE, le métabolite du DDT prépondérant chez les Oiseaux (d'après BLUS *et al.*, Environ. Poll., 4, 1974).

4. Effets biologiques des contaminants

4.5. Effets sur les populations et les communautés

- Communauté
 - Disparition de la proie
 - Disparition du consommateur
 - Modification du milieu
 - Changement d'état d'équilibre
- Ex: effet d'une pollution pétrolière sur les bancs de *Macrocystis*

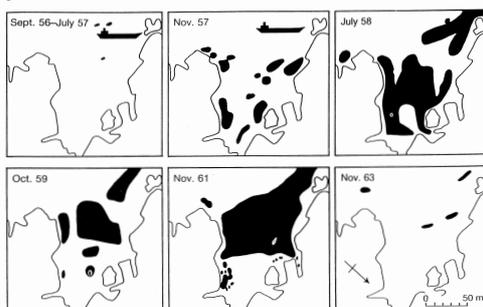


Fig. 4.1. Growth of the giant kelp *Macrocystis* (shown in black) following pollution by diesel fuel from a wrecked tanker on the Mexican Pacific coast.



5. Monitoring d'une contamination

5.1. Nature et niveau de la contamination

- Compartiments abiotiques: air, eau, sédiments, sols
 - + Concentrations effectives dans l'environnement
 - + Données sur sources et flux
 - Problèmes analytiques (air, eau)
 - Signification biologique? ↔ biodisponibilité
 - Variations temporelles rapides (déplacement des masses d'eau estuariennes, des masses d'air)

5. Monitoring d'une contamination

5.1. Nature et niveau de la contamination

- Compartiments biotiques
 - + Concentrations mesurables (bioconcentration)
 - + Mesure de la biodisponibilité réelle
 - + Intégration de la contamination environnementale sur une période à déterminer

- Réponses différentes selon les organismes
- Impossible d'analyser tous les organismes d'une communauté

5. Monitoring d'une contamination

5.1. Nature et niveau de la contamination

- Bioindicateurs
 - Définition: organisme employé pour quantifier l'abondance et la biodisponibilité d'un contaminant
 - Caractéristiques d'un bon bioindicateur
 - Sessile ou sédentaire
 - Abondant, facile à identifier
 - Quantité suffisante de tissus pour l'analyse
 - Tolérant aux hautes concentrations en contaminants
 - Reflète la concentration en contaminants dans l'environnement

5. Monitoring of a contamination

5.1. Nature and level of the contamination

- Bioindicators: evaluation

1) experimental contamination



Ex: leaves of
P. oceanica

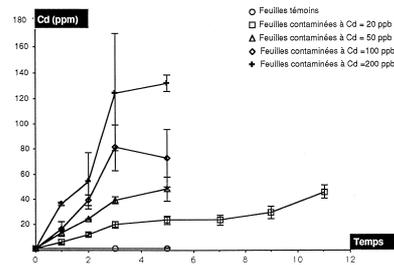


Figure 3.9 : Evolution de la teneur en Cd des feuilles photosynthétiquement actives de *Posidonia oceanica* contaminées au cours de contamination expérimentale *in situ* par le Cd (moyenne \pm déviation standard, n=3)

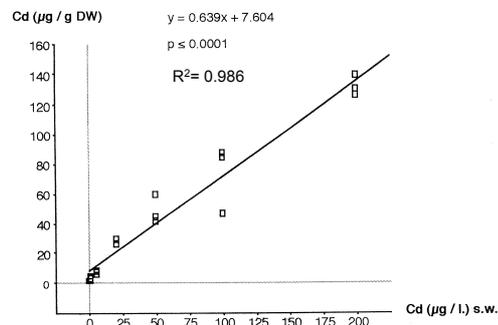
5. Monitoring of a contamination

5.1. Nature and level of the contamination

- Bioindicators: evaluation

2) Relation $[\text{contaminant}]_{\text{env}} / [\text{contaminant}]_{\text{org}}$

Ex: leaves of
P. oceanica



5. Monitoring d'une contamination

5.1. Nature et niveau de la contamination

- Bioindicateurs: évaluation

3) Echelle temporelle

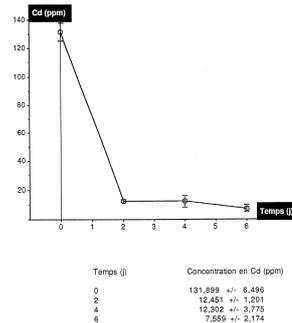


Figure 3.11. : Evolution de la teneur en Cd des feuilles photosynthétiquement actives de *Posidonia oceanica* au cours d'une expérience de décontamination in situ (moyenne ± déviation standard, n=3)

Ex: feuilles de
P.oceanica

5. Monitoring d'une contamination

5.2. Impact des contaminants

5.2.1. Tests de toxicité (Engl: bioassays)

But: établir la relation dose-réponse d'un contaminant



Paracelse (1493-1541):
« Toutes les substances sont des poisons. La dose distingue le poison du remède » (Il n'y a pas de substance toxique, il n'y a que des doses toxiques).

Ex: oxygène

5. Monitoring of a contamination

5.2. Impact of contaminants

5.2.1. Toxicity tests (Engl: bioassays)

Mesure (Engl. end point)

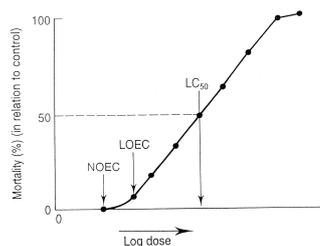


Figure 6.1 Toxicity after 96 h exposure in an aquatic toxicity test. It should be noted that NOEC can be determined only where LOEC is known – otherwise there would be no indication of a concentration that can be toxic. NOEC = no observed effect concentration; LOEC = lowest observed effect concentration; LC_{50} = median lethal concentration at 96 h.

- Tests léthaux: LC_{50} , LD_{50}
 - Rarement atteint dans l'environnement
 - Comparaison entre composés
- Tests subléthaux: EC_{50}

5. Monitoring of a contamination

5.2. Impact of contaminants

5.2.1. Toxicity tests (Engl: bioassays)

Mesure (Engl. end point)

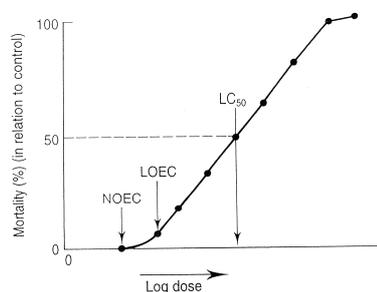


Figure 6.1 Toxicity after 96 h exposure in an aquatic toxicity test. It should be noted that NOEC can be determined only where LOEC is known – otherwise there would be no indication of a concentration that can be toxic. NOEC = no observed effect concentration; LOEC = lowest observed effect concentration; LC_{50} = median lethal concentration at 96 h.

- NOEC
- LOEC

5. Monitorage d'une contamination

5.2. Impact des contaminants

5.2.1. Tests de toxicité (Engl: bioassays)

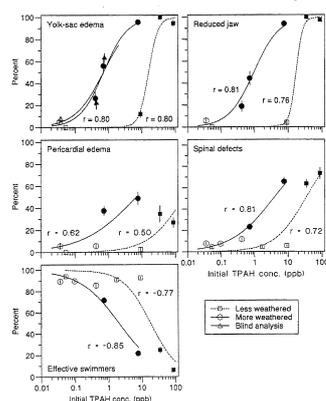


Fig. 5. Incidence of abnormalities and swimming ability as functions of initial total polynuclear aromatic hydrocarbon (TPAH) concentration. Incidence of yolk sac edema was verified by blind assessment in the more weathered experiment. Curve fits were estimated with logistic regression. Data displayed are means \pm SE; r equals estimated correlation coefficients. Solid symbols indicate significant differences from controls.

Ex: toxicité des PAH sur le développement larvaire du saumon



5. Monitorage d'une contamination

5.2. Impact des contaminants

5.2.1. Tests de toxicité (Engl: bioassays)

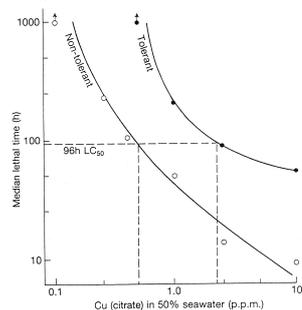


Fig. 5.2. The 96h LC₅₀ of copper determined from the relationship between copper concentration (as citrate) in 50 per cent seawater and the median lethal time for copper-tolerant (from Restronguet Creek) and copper-intolerant (from the Avon estuary) *Nereis diversicolor*.

- Toxicité affectée par de nombreux facteurs
 - Spéciation
 - Facteurs environnement (temp, salinité, MO etc.)
 - Etat physiologique
 - Synergie/antagonisme entre contaminants
 - Adaptation génétique

5. Monitoring d'une contamination

5.2. Impact des contaminants

5.2.2. Biomarqueurs

- Définition: réponse biologique à un contaminant qui donne une mesure d'exposition et parfois de l'effet toxique
- Biomarqueur d'exposition: indique l'exposition au contaminant sans donner d'information sur le degré éventuel de toxicité (ex: métallothionéines)
- Biomarqueur d'effet toxique: indique un effet toxique

5. Monitoring d'une contamination

5.2. Impact des contaminants

5.2.2. Biomarqueurs

- Niveaux moléculaire à individuel
- Spécificité
 - Absolue (ex imposex et TBT)
 - Large (induction des MFO par organochlorés et PAH)
 - Détermine usage ou non de l'effet étudié comme biomarqueur