

## **Biomonitoring et biomarqueurs du risque dans l'environnement**

**Unité d'enseignement fondamentale :** UEF2 : Biomonitoring et biomarqueurs

**Crédit :** 8

**Coefficient :** 4

**Durée :** Cours 1h30      TD 1h30      TP de 3 h.

**Préparé par :**

Dr BOUNAR Amina      **E-mail :** amina.bounar@univ-jijel.dz

**Objectif :** à l'issue de cette enseignement, l'étudiant est censé avoir acquis des compétences dans le domaine de biosurveillance de la pollution de l'environnement, ainsi que des connaissances sur les différentes méthodes de biomonitoring et des indicateurs et biomarqueurs utilisés pour la surveillance de l'environnement.

**Pré-requis :** l'étudiant doit avoir des connaissances dans le domaine de biologie cellulaire, biologie animale, biologie végétale et écotoxicologie

### **Contenu de la matière**

#### **Chapitre 1 : Biomonitoring dans l'environnement**

- 1.1. Définition de biomonitoring
- 1.2. Principes des biomonitoring et biomarqueurs
- 1.3. Monitoring des polluants dans les écosystèmes

#### **Chapitre 2 : Bioindicateurs dans l'environnement**

- 2.1. Les Bioindicateurs dans l'Environnement
- 2.2. Types de bioindicateurs
- 2.3. Caractéristiques d'un bon bioindicateur
- 2.4. Espèces bioindicatrices et leurs usages

#### **Chapitre 3: Biomarqueurs**

- 3.1. Définition des biomarqueurs
- 3.2. Les principaux types de biomarqueurs
- 3.3. Utilisation de biomarqueurs dans différents types d'écosystèmes
- 3.4. Biomarqueurs et évaluation de l'impact écologique des polluants

## INTRODUCTION

La population générale est exposée, souvent à de faibles voire très faibles doses, à une multitude d'agents chimiques et de contaminants de l'environnement, soit par inhalation (air intérieur, air extérieur, aérosols, poussières...), contact cutané (cosmétiques, produits d'entretien...) ou ingestion (aliments, matériaux au contact des aliments, eau, poussières...).

Ces dernières années, les concentrations de polluants chimiques dans les matrices environnementales ont considérablement augmentées en raison des activités anthropiques.

La plupart de ces polluants sont omniprésents dans l'environnement et sont susceptibles d'avoir des effets néfastes sur la santé humaine : composés cancérogènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction (CMR), perturbateurs endocriniens, sensibilisants... Ils font généralement l'objet de réglementations (contrôle, interdiction, restriction, autorisation...) et, pour certains, d'une surveillance dans les milieux (eaux, aliments, air...). Certains polluants peuvent persister plusieurs années dans l'environnement, même après avoir été interdits, et continuer à exposer la population via les différents milieux dans lesquels ils sont présents (eau, air, sol et alimentation). La perte et la dégradation des habitats, la perte de biodiversité et l'altération des ressources naturelles sont quelques-uns des principaux impacts de la pollution sur les écosystèmes.

En ce qui concerne la santé humaine, la pollution est la plus grande cause environnementale de maladies et de décès dans le monde aujourd'hui.

Les effets négatifs des polluants s'exercent à différents niveaux d'organisation biologique et à différentes échelles de temps. L'exposition aux polluants peut d'abord induire des effets aux niveaux moléculaire, cellulaire et physiologique avant que des effets plus intégrés soient évidents à des niveaux plus élevés.

Les données chimiques seules de concentrations de polluants dans les matrices environnementales (air, eau, sédiments et sol) sont insuffisantes pour évaluer de façon fiable les risques potentiels de pollution pour les organismes vivants et la santé humaine

Dans ce cadre complexe, la nécessité d'une approche chimique et biologique intégrée dans la surveillance de la pollution s'est accrue et, à son tour, l'intérêt pour les effets mesurables des polluants chimiques sur les organismes vivants, y compris les humains, s'est développé.

La biosurveillance (biomonitoring), qui mesure la présence dans l'organisme de substances chimiques ou polluants issus de notre environnement, est un outil essentiel de santé publique pour évaluer notre exposition et les impacts sur notre santé.



## Chapitre 1 : Biomonitoring dans l'environnement

### 1.1. Définition de biomonitoring

La biosurveillance ou biomonitoring est la mesure des niveaux de concentration dans l'organisme et les écosystèmes de substances chimiques (et de leurs produits de dégradation) et de polluants présents dans notre environnement. Autrement dit, c'est la surveillance de l'état de santé de l'environnement, d'un organisme vivant ou d'un écosystème par l'étude d'indicateurs biologiques. Cette mesure se fait par le dosage de biomarqueurs dans des prélèvements biologiques (sang, d'urine, de cheveux, lait maternel...). Cette méthode permet d'avoir une bonne estimation de l'exposition interne des individus aux substances chimiques et autres polluants (ex : métaux lourds).

### 1.2. Principes des biomonitoring et biomarqueurs

Le biomonitoring repose sur une idée simple mais essentielle : **L'être vivant témoigne de l'état de son environnement**. En outre, le principe de la biosurveillance est d'avoir recours à des organismes vivants (végétaux, insectes ou animaux) pour indiquer la présence de polluants dans l'environnement.

Elle repose donc sur la faculté de certains organismes vivants à réagir aux changements de leur milieu. Ces réactions, lorsqu'elles sont correctement interprétées, permettent d'évaluer la qualité d'un écosystème de façon plus intégrée que ne le ferait une analyse chimique ponctuelle du sol, de l'eau ou de l'air.

Autrement dit, Le principe du biomonitoring s'appuie donc sur la capacité des organismes à servir de **témoins biologiques** : certains accumulent les polluants dans leurs tissus, d'autres réagissent par des modifications enzymatiques ou cellulaires, tandis que certaines espèces disparaissent ou deviennent dominantes lorsque les conditions environnementales se détériorent.

#### ➤ De l'état normal à la maladie : réponses biologiques à la pollution

L'exposition d'un organisme à des contaminants suit généralement une progression en plusieurs étapes, qui peut être évaluée à l'aide des biomarqueurs :

**a.État normal (homéostasie) :** L'organisme fonctionne normalement et maintient son équilibre physiologique. Les biomarqueurs restent à de faibles niveaux, souvent indétectables car les mécanismes internes compensent toute exposition minimale.

**b.État de stress (réponse détectable) :** Lorsque l'exposition dépasse la capacité de régulation normale, des modifications biologiques apparaissent. Les biomarqueurs deviennent mesurables, signalant un stress environnemental, mais l'organisme conserve encore une capacité de compensation.

**c.Phase de compensation insuffisante (toxicité réversible) :** L'organisme tente de neutraliser la contamination, mais n'y arrive pas, ses défenses deviennent insuffisantes. Les biomarqueurs atteignent des niveaux significatifs, reflétant une toxicité réversible (curable). Avec une intervention ou une réduction de l'exposition, le retour à un état normal reste possible.

**d.Phase irréversible (toxicité chronique ou létale) :** Lorsque la contamination dépasse les capacités de défense, les effets deviennent permanents. L'organisme ne peut plus compenser, et des signes sévères apparaissent, tels que l'infertilité ou la mort. Les biomarqueurs traduisent un état de dysfonctionnement irréversible.

### 1.3. Types de biosurveillance

La biosurveillance repose principalement sur deux approches complémentaires : **la biosurveillance passive** et **la biosurveillance active**.

#### a. La biosurveillance passive (méthode *in situ*) (Passive biomonitoring)

La biosurveillance passive consiste à analyser des organismes **présents naturellement** sur le site étudié et qui ont été exposés de manière continue aux contaminants de leur environnement. Ces organismes reflètent ainsi l'état réel du milieu, puisqu'ils intègrent la pollution sur des échelles temporelles longues, en tenant compte de la variabilité écologique et climatique.

Cette méthode est particulièrement appréciée pour sa simplicité et sa rapidité : les organismes ayant déjà accumulé les polluants, il suffit de les collecter puis de mesurer les concentrations présentes dans leurs tissus.

Le choix du nombre de prélèvements ainsi que leur répartition spatiale doit être adapté aux objectifs de l'étude. Il est également important de considérer les caractéristiques du milieu lors du prélèvement, notamment la nature du substrat.

#### b. La biosurveillance active (méthode des transplants) (Active biomonitoring)

La biosurveillance active repose sur l'**introduction** d'organismes prélevés ou élevés dans un milieu sain vers le site d'étude sous des conditions contrôlée.

Ces organismes, appelés *transplants*, sont généralement cultivés dans des conditions maîtrisées afin de garantir leur homogénéité physiologique et d'éliminer toute exposition préalable aux contaminants. Cette approche est particulièrement utile lorsque la biosurveillance passive n'est pas applicable, notamment en cas d'absence d'organismes correspondant aux critères de l'étude ou mauvaise répartition d'une espèce qui ne permet pas un échantillonnage représentatif de la zone d'étude.

En effet, il faut laisser le temps aux transplants (organismes provenant d'une zone dite saine) d'accumuler les polluants présents dans leur nouvel environnement, cette phase pouvant être plus ou moins longue selon l'espèce choisi et le polluant étudié. Le tableau 1 résume les caractéristiques de chaque méthode.

**Tableau 1 : Différence entre la biosurveillance passive et la biosurveillance active (source auteur)**

| Critères                 | Biosurveillance passive                                           | Biosurveillance active                                                                            |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Principe                 | Étude d'organismes présents naturellement dans le site.           | Introduction d'organismes provenant d'un milieu sain vers le site.                                |
| Origine des organismes   | Populations locales, déjà exposées.                               | Organismes contrôlés (cultivés ou prélevés en zone non polluée).                                  |
| Exposition aux polluants | Exposition réelle intégrant les conditions écologiques du milieu. | Exposition maîtrisée, débutant à l'installation dans le site.                                     |
| Durée d'exposition       | Dépend de l'histoire environnementale des organismes.             | Définie par l'expérimentateur (jours à semaines).                                                 |
| Variabilité biologique   | Souvent élevée (âge, alimentation, état physiologique).           | Faible grâce à la standardisation.                                                                |
| Représentativité du site | Excellente : reflète fidèlement les conditions réelles du milieu. | Bonne, si la durée et le choix des stations sont adaptés.                                         |
| Avantages                | Simple, rapide, faible logistique ; adaptée au suivi chronique.   | Comparaison standardisée entre sites ; contrôle de l'état des organismes.                         |
| Limites                  | Absence possible d'espèces indicatrices ; forte variabilité.      | Mise en place plus complexe ; temps d'accumulation nécessaire ; risque de stress des transplants. |
| Coût                     | Faible : collecte directe d'organismes locaux, matériel limité.   | Élevé : élevage/maintenance d'organismes, transport, matériel d'exposition et suivi régulier.     |
| Applications             | Diagnostic écologique, suivi de                                   | Études comparatives, évaluation de la                                                             |

|            |             |                                 |
|------------|-------------|---------------------------------|
| fréquentes | long terme. | biodisponibilité des polluants. |
|------------|-------------|---------------------------------|

#### 1.4. Sélection de la méthode de biomonitoring

Le choix d'une approche de biomonitoring ne se fait pas au hasard ; il doit être rigoureusement aligné avec les objectifs de l'étude, la nature des polluants ciblés et les caractéristiques de l'écosystème. Les principales méthodes peuvent être classées selon l'échelle biologique et les paramètres observés :

- Analyses chimiques des tissus (Bioaccumulation) : Cette méthode vise à quantifier la concentration de substances persistantes (ETMs, polluants organiques) au sein des organismes. Elle permet d'évaluer le transfert des contaminants dans la chaîne trophique.
- Études morphologiques et histopathologiques : Elles consistent à identifier les altérations structurelles, qu'elles soient macroscopiques ou cellulaires. Ces anomalies servent d'indicateurs visuels d'un stress environnemental prolongé.
- Bio-essais en milieux contrôlés : Ces protocoles mesurent les réponses biologiques (toxicité, croissance, reproduction) dans des conditions standardisées. Ils peuvent être réalisés *in situ* (transplantation d'organismes) ou en laboratoire (tests de toxicité aiguë ou chronique).
- Approches écologiques (Indices biotiques) : Basées sur l'étude des populations, ces méthodes analysent la structure, la richesse spécifique et la diversité des communautés. Elles permettent d'évaluer l'état de santé global d'un écosystème.
- Marqueurs physiologiques et biochimiques (Biomarqueurs) : Cette approche se focalise sur les réponses précoces au niveau moléculaire ou métabolique (ex: activité enzymatique, stress oxydatif). Elle offre l'avantage de détecter une exposition à un polluant avant même que les effets ne soient visibles à l'échelle de l'individu ou de la communauté.

#### 1.4. Monitoring des polluants dans les écosystèmes

La connaissance des expositions de la population aux substances chimiques et autres polluants de l'environnement est essentielle pour évaluer les risques sanitaires encourus et pour suivre l'efficacité des politiques publiques visant à les réduire. Les polluants sont omniprésents dans les aliments, les produits de consommation multiples, les milieux environnementaux...etc, il est très difficile d'évaluer de façon précise l'exposition de la population à ces substances par leur mesure dans les différents milieux. Les études de biomonitoring en population générale permettent, en complément des mesures environnementales, d'estimer

de façon directe l'exposition biologique interne (ou imprégnation) de la population aux différents polluants. Ces études contribuent également à mieux connaître toutes les expositions auxquelles est soumis un individu pendant sa vie entière (prenant en compte les expositions environnementales aux agents chimiques, physiques, biologiques et les facteurs socio-économiques).

Historiquement, le premier type de mesure ayant donné lieu à un monitoring des polluants a eu pour objet l'analyse de leur concentration dans les biotopes, en particulier dans l'air, les eaux et les sols, c'est-à-dire dans la composante abiotique des écosystèmes.

D'abord, connaître la concentration d'un polluant dans un milieu donné n'informe pas nécessairement sur son impact biologique réel. En effet, de nombreuses études expérimentales ont montré qu'une même concentration peut avoir des effets très différents selon les conditions écologiques (température, salinité, pH, structure trophique, etc.) propres à chaque écosystème.

Ensuite, les techniques analytiques, bien que de plus en plus performantes, peuvent manquer de sensibilité pour assurer une surveillance continue. Cette limite est particulièrement critique pour les composés chimiques labiles : une pollution ponctuelle peut passer inaperçue si elle survient entre deux prélèvements. De manière générale, les mesures réalisées à intervalles réguliers mais espacés dans le temps risquent d'ignorer des pics de contamination de courte durée, mais potentiellement très nocifs.

Ainsi, la plupart des programmes de surveillance se sont longtemps concentrés sur la détection des polluants dans les milieux, ainsi que sur leur distribution spatio-temporelle, tandis qu'un nombre beaucoup plus restreint d'études s'intéressait aux effets sur les organismes, les populations ou les écosystèmes.

Le monitoring environnemental repose sur une combinaison de méthodes complémentaires afin d'évaluer de manière exhaustive la pollution et ses effets sur les écosystèmes. Il comprend principalement:

- **La mesure des concentrations** : il s'agit de quantifier les polluants présents dans le milieu (eau, sol, sédiments) ainsi que dans les organismes, afin d'évaluer la bioaccumulation et la contamination réelle des habitats.
- **Les observations in situ** : elles permettent d'apprécier directement sur le terrain l'état des populations et des communautés écologiques, en détectant les changements structurels et fonctionnels résultant de la pollution.
- **L'analyse des biomarqueurs** : cette approche vise à identifier les effets sublétaux et précoces de la pollution au niveau **cellulaire, biochimique ou physiologique** des organismes. L'utilisation de

biomarqueurs complète les mesures de concentrations et les observations écologiques, en révélant les impacts biologiques avant l'apparition de symptômes visibles au niveau des populations ou des communautés.

Ainsi, l'intégration de ces trois axes fournit une vision complète et précise de l'état écologique d'un milieu, en reliant l'exposition aux polluants, les réponses biologiques des organismes et les effets sur l'écosystème.

Le biomonitoring peut être subdivisé en quatre principaux groupes d'activités :

- **Observer les changements dans les communautés et populations** : il s'agit de suivre les variations d'abondance, la présence ou l'absence d'espèces sensibles, ainsi que les modifications de la structure des peuplements ou des communautés. Ces changements reflètent directement la pression exercée par les polluants sur l'écosystème.
- **Évaluer l'accumulation des contaminants dans les organismes** : cette approche repose sur des bioindicateurs capables de stocker les polluants dans leurs tissus. L'analyse des concentrations de métaux lourds, pesticides ou autres contaminants permet d'estimer la biodisponibilité réelle des polluants dans le milieu, au-delà des fluctuations momentanées des matrices environnementales.
- **Analyser les effets des polluants au niveau individuel** : cette démarche consiste à mesurer les réponses morphologiques, physiologiques ou comportementales des organismes exposés, et à les mettre en relation avec les concentrations de polluants détectées dans leurs tissus. Les données sont interprétées en tenant compte des indicateurs abiotiques (p. ex. température, pH, salinité) et biotiques (p. ex. interactions trophiques).
- **Identifier les souches résistantes parmi les espèces pollutolérantes** : il s'agit de détecter l'existence éventuelle de populations ayant développé une tolérance ou une résistance naturelle à certains polluants, constituant ainsi un indicateur biologique supplémentaire de la pression de contamination sur l'écosystème.

**1.5.Importance du Monitoring des Polluants** : Le monitoring des polluants dans les écosystèmes est essentiel pour plusieurs raisons :

- **Protection de la biodiversité** : En surveillant les niveaux de contamination, il est possible de prévenir des dommages irréversibles aux espèces et aux habitats naturels.

- **Prévention des risques pour la santé humaine** : La surveillance des contaminants permet d'identifier les risques potentiels pour les populations humaines, notamment en ce qui concerne les polluants qui s'accumulent dans les chaînes alimentaires.
- **Conformité réglementaire** : Les gouvernements et les organisations internationales mettent en place des normes de qualité environnementale que les industries et les collectivités doivent respecter. Le monitoring des polluants permet de vérifier la conformité avec ces réglementations.
- **Détection précoce** : Le suivi régulier des polluants permet de détecter rapidement les problèmes de pollution émergents et d'agir avant que des dommages importants ne surviennent.

## Chapitre 2 : Bioindicateurs dans l'environnement

L'évaluation biologique de la contamination s'appuie sur trois niveaux complémentaires, chacun correspondant à un concept spécifique :

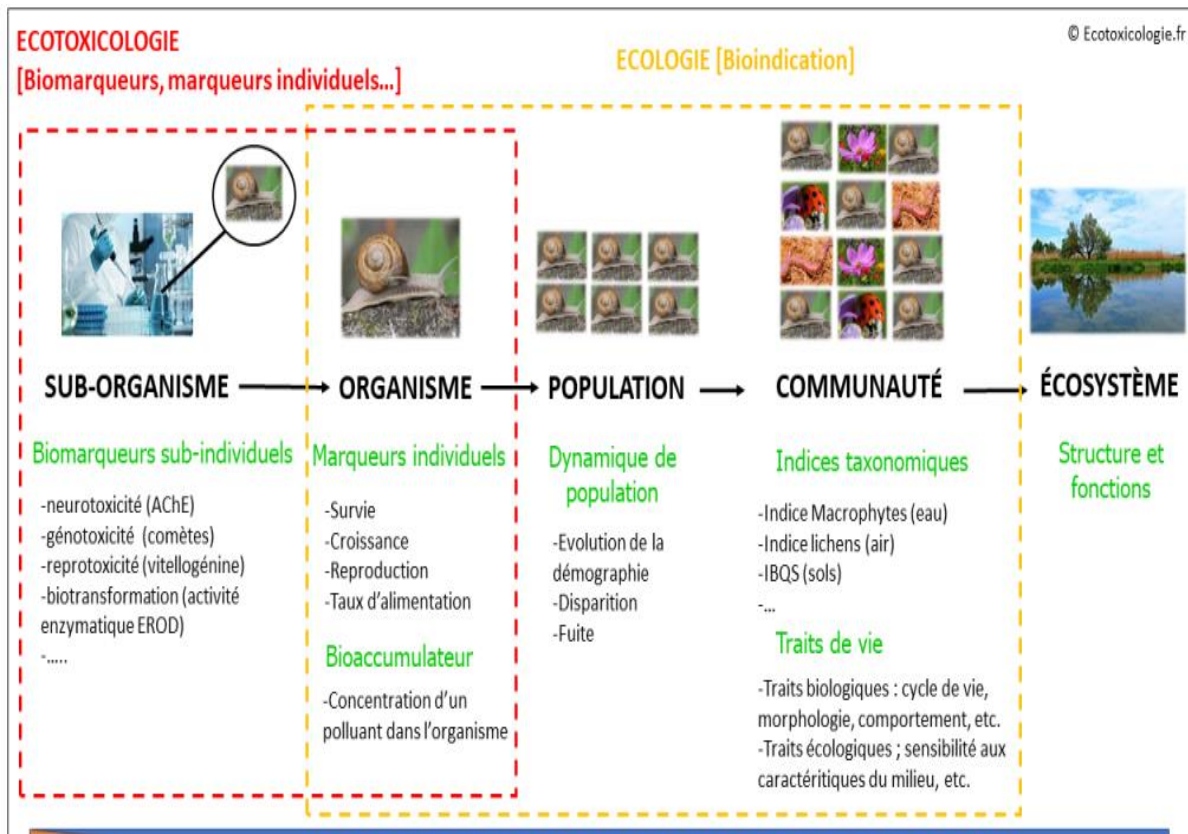
- **Les biomarqueurs (Biomarkers) – effets invisibles**

Les biomarqueurs se situent au niveau **infra-individuel**. Ils regroupent tous les paramètres biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementaux qui peuvent être mesurés dans les tissus, les fluides ou sur l'organisme entier, afin de détecter l'exposition à un ou plusieurs contaminants et/ou leurs effets. En écotoxicologie, un biomarqueur peut également révéler la présence actuelle ou passée de polluants dans l'environnement, ainsi que l'impact de certaines pratiques anthropiques.
- **Les bioindicateurs (Bioindicators) – effets visibles**

Les bioindicateurs se situent au niveau **individuel**. Il s'agit d'organismes vivants (plantes, planctons, animaux, insectes, microbes/bactéries, etc.) utilisés pour évaluer la santé des écosystèmes et observer les changements biogéographiques ou écologiques. Chaque organisme fournit une indication sur l'état de son environnement. Par exemple, certaines espèces peuvent servir à évaluer la qualité du sol ou détecter la pollution de l'eau. Sur une parcelle agricole, quelques observations simples peuvent apporter des informations précieuses avant de recourir à des analyses biochimiques plus complexes et coûteuses.
- **Les biointégrateurs (Biointegrators) – effets visibles**

Les biointégrateurs se situent au niveau de la **population ou de la communauté**. Ils permettent d'évaluer les impacts environnementaux en considérant la présence ou l'absence d'espèces, les variations de densité ou la composition des communautés.

La **figure 1** suivante récapitule les différents niveaux de biosurveillance



**Figure 1 : Différents niveaux de biosurveillance (Geffard, 2009 ; Lamonica, 2016)**

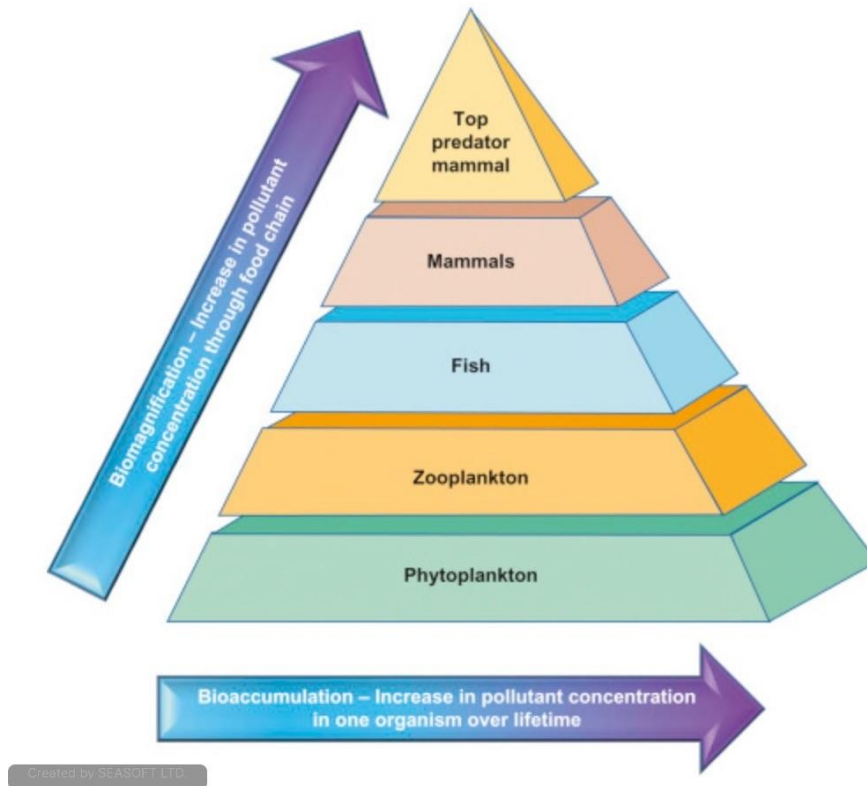
## 2.1. Types de bioindicateurs

Les organismes utilisés ne donnent pas tous le même niveau de l'information, on distingue :

**2.1.1. Les bioindicateurs d'accumulation (accumulation bioindicators)** (effets invisibles) : La **bioaccumulation** et la **bioamplification** sont deux processus complémentaires qui permettent de comprendre comment les polluants se propagent dans les écosystèmes (**figure 2**). La bioaccumulation correspond à l'accumulation progressive de substances toxiques dans les tissus d'un organisme vivant, tandis que la bioamplification reflète l'augmentation de ces substances le long de la chaîne trophique, entraînant des concentrations plus élevées chez les prédateurs situés aux niveaux trophiques supérieurs. Ce qui conduit à des effets néfastes sur sa santé et, à plus grande échelle, sur l'environnement.

De ce fait les **bioindicateurs d'accumulation** sont des organismes capables de stocker les polluants dans leurs tissus, fournissant ainsi des informations fiables sur la contamination réelle d'un milieu et sur la biodisponibilité des substances toxiques. La biosurveillance par accumulation consiste à utiliser la propriété

de certaines espèces à accumuler les polluants dans leurs tissus, il s'agit de doser ou de quantifier (mesurer la quantité) des polluants.



**Figure 2: Principe de bioaccumulation et bioamplification (Popek, 2017)**

**2.1.2. Les bioindicateurs d'effet :** Un bioindicateur d'effet est un organisme chez lequel on peut mesurer des réponses biologiques reflétant l'impact d'un contaminant. Ces réponses peuvent être physiologiques, biochimiques, cellulaires ou comportementales, et permettent de détecter les effets du stress environnemental, souvent avant que des changements visibles n'apparaissent dans les populations ou les écosystèmes.

## **2.2. Caractéristiques d'un bon bioindicateur**

L'utilisation de bioindicateurs constitue une approche essentielle pour évaluer la qualité des écosystèmes et détecter les effets des pollutions environnementales. En effet, certaines espèces possèdent la capacité d'accumuler, de refléter ou de réagir aux contaminants présents dans leur milieu, fournissant ainsi des informations précises et intégrées sur l'état réel de l'environnement. Pour être fiables, ces organismes

doivent toutefois répondre à un ensemble de critères spécifiques permettant d'assurer la validité des observations et des mesures réalisées.

- **Relation avec le milieu :** Les organismes doivent présenter une corrélation claire entre leur teneur en polluants et la contamination du biotope ou de leur alimentation. Il doit exister une relation directe entre la quantité de polluant accumulée et celle présente dans l'eau, le sol, l'air ou les ressources alimentaires. Sans cette relation, l'organisme ne peut pas être considéré comme un bon bioindicateur.
- **Tolérance aux polluants :** Les espèces doivent pouvoir accumuler les polluants sans subir de mortalité ni de perturbations majeures de leur reproduction aux niveaux rencontrés dans l'environnement.
- **Sédentarité :** Les organismes doivent être peu mobiles afin de garantir que les concentrations mesurées reflètent fidèlement la contamination locale.
- **Abondance et distribution :** Les espèces choisies doivent être suffisamment représentées dans la zone étudiée et, si possible, disposer d'une large distribution géographique pour permettre des comparaisons entre différents sites.
- **Longévité :** Les organismes à longue durée de vie facilitent l'étude des expositions prolongées et permettent l'échantillonnage de plusieurs classes d'âge.
- **Taille suffisante :** Les espèces doivent fournir une quantité adéquate de tissu biologique pour permettre les analyses nécessaires, notamment lorsqu'il s'agit de doser des organes spécifiques.
- **Facilité d'échantillonnage :** Les organismes doivent être faciles à prélever, manipuler et transporter, afin de permettre un suivi régulier et fiable dans le temps.
- **Pertinence écologique :** Les espèces retenues doivent jouer un rôle important dans l'écosystème étudié, afin de refléter fidèlement son état général.
- **Réponse mesurable et reproductible :** Les réponses observées (accumulation, biomarqueurs, altérations physiologiques) doivent être proportionnelles au niveau de contamination, quantifiables et reproductibles dans des conditions comparables.
- **Robustesse :** Les bioindicateurs doivent être capables de survivre et de rester fonctionnels malgré la présence de polluants, garantissant ainsi la continuité du suivi environnemental.

## **2.3. Espèces bioindicatrices et leurs usages**

Les espèces bioindicatrices occupent une place centrale dans l'évaluation de la qualité environnementale. Leur sensibilité, leur capacité d'accumulation ou leurs réponses physiologiques face aux polluants en font des outils précieux pour comprendre l'état réel d'un écosystème. Cependant, leur utilisation nécessite une analyse rigoureuse, car plusieurs paramètres biologiques et environnementaux peuvent influencer la fiabilité des résultats obtenus.

### **2.3.1. Avantages de l'utilisation des bioindicateurs**

L'avantage d'analyser des êtres vivants plutôt que les composants abiotiques des écosystèmes contaminés résultent de plusieurs particularités :

- La plupart des polluants persistants, qu'ils soient organiques ou minéraux, atteignent chez les organismes vivants des concentrations bien supérieures à celles mesurées dans leur environnement, en raison des processus de bioconcentration et parfois de bioamplification le long de la chaîne trophique.
- L'analyse des organismes mesure la disponibilité réelle des polluants, ce qui est beaucoup plus significatif en définitive que la connaissance, de la concentration d'un polluant dans le milieu inerte.
- Les organismes vivants accumulent les contaminants au fil du temps, ce qui leur permet de refléter l'exposition réelle et prolongée à la pollution. Ils offrent ainsi un avantage par rapport aux milieux abiotiques, où la présence de polluants peut n'être que temporaire ou liée à un événement ponctuel.

En pratique, les critères définissant une espèce bioindicatrice idéale sont tellement nombreux et stricts qu'aucun organisme ne parvient réellement à les satisfaire entièrement. Lorsqu'on passe de la théorie au terrain, on se heurte rapidement à des limites : même les espèces présentant plusieurs qualités recherchées ne répondent pas à l'ensemble des attentes. Par ailleurs, si l'on considère seulement le premier critère — une relation simple et directe entre la concentration du polluant dans l'environnement et celle retrouvée dans les tissus — on constate que ce type de corrélation est rare. Elle n'est observée que dans quelques cas particuliers, comme chez certaines bryophytes aquatiques qui peuvent refléter assez fidèlement les niveaux de PCB ou de métaux lourds du milieu.

### 2.3.2. Facteurs influençant la fiabilité des bioindicateurs

La fiabilité d'un bioindicateur dans l'estimation de la concentration des polluants dépend de nombreux facteurs qui peuvent être regroupés en deux catégories :

- Des facteurs **intrinsèques** (propres aux caractéristiques de l'espèce bioindicatrice),
- Des facteurs **extrinsèques** (abiotiques environnementaux).

Il est important aussi de tenir compte des éventuelles interactions physio-toxicologiques entre polluants lorsque l'on étudie des espèces bioindicatrices.

#### A. Facteurs intrinsèques (Intrinsic factors)

##### a. Taux d'accumulation (Ta) et d'excrétion (Te) (accumulation and excretion rate)

La concentration d'un polluant dans un organisme dépend de l'équilibre entre le taux d'accumulation (Ta) et le taux d'excrétion (Te). Le Ta correspond à la vitesse à laquelle l'organisme absorbe et stocke le contaminant dans ses tissus, influencée par la biodisponibilité du polluant, le régime alimentaire, le métabolisme et la durée d'exposition. Le Te, quant à lui, représente la vitesse à laquelle le polluant est éliminé par des processus biologiques tels que l'excrétion ou la détoxification enzymatique. L'interaction entre ces deux taux détermine la concentration finale du polluant dans les tissus et la capacité de l'organisme à servir de bioindicateur d'accumulation fiable, en reflétant l'exposition réelle et prolongée à la contamination.

Ces taux constituent un paramètre important qui conditionne la fiabilité d'un bio-indicateur. Selon que le taux d'excrétion et/ou d'élimination d'un composé est comparable ou nettement inférieur au taux d'accumulation, le comportement de l'espèce bio-indicatrice pour un polluant considéré sera très différent.

- Lorsque le **taux d'accumulation (Ta)** est supérieur au **taux d'excrétion (Te)**, le polluant s'accumule dans l'organisme, atteignant des concentrations plus élevées que celles mesurées dans le biotope.
- Lorsque **Ta** et **Te** sont équivalents, la concentration du polluant dans l'organisme reflète directement celle de l'environnement, fournissant ainsi une mesure représentative de la contamination réelle.

Ce rapport entre accumulation et excrétion dépend à la fois de l'espèce bioindicatrice et des propriétés physico-chimiques du contaminant étudié.

### b. Âge et taille des organismes bio-indicateurs

Parmi les facteurs biologiques propres aux espèces bioindicatrices, **l'âge, la taille et le sexe** sont particulièrement déterminants. Les individus plus âgés ou plus grands tendent à accumuler davantage de polluants, tandis que les différences physiologiques et hormonales entre mâles et femelles peuvent influencer la sensibilité aux contaminants et leur capacité d'accumulation.

### c. Interactions toxicologiques des polluants (toxicological interactions of pollutants)

Les polluants présents dans un milieu ne se comportent pas toujours de manière isolée. Lorsqu'ils coexistent, leurs effets sur les organismes peuvent **s'additionner, se potentialiser ou s'inhiber**, modifiant ainsi la toxicité globale par rapport à celle de chaque substance prise individuellement.

Exemple : la bioaccumulation du cuivre et du cadmium dans les poissons est **plus forte** lorsqu'ils sont pris **ensemble** que lorsque des individus sont exposés à une même concentration de ces métaux isolés. Cela peut se traduire par une augmentation des dommages oxydatifs aux cellules et aux tissus.

À l'opposé, des recherches effectuées sur trois insecticides organochlorés : la dieldrine, le DDT et le méthoxychlore chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus gairdneri*) ont montrées que le DDT et le méthoxychlore **réduisaient** la bioconcentration de la dieldrine et réciproquement le DDT et la dieldrine **réduisaient** la bioaccumulation du méthoxychlore. Cela peut être dû à une compétition pour les sites d'absorption ou à des mécanismes physiologiques qui modifient la manière dont ces pesticides sont métabolisés par les poissons.

#### ➤ Mécanismes influençant l'absorption et le relargage des micropolluants en interaction

- ✓ Compétition pour les sites d'absorption
- ✓ Réduction ou augmentation de l'absorption suite à la formation de complexes entre polluants
- ✓ Modifications physiologiques induites par un des xénobiotiques présents
- ✓ Variation de la perméabilité des membranes, modifiant la pénétration des polluants
- ✓ Inhibition ou stimulation du système enzymatique de détoxification (MFO)
- ✓ Interaction avec des substances organiques dissoutes dans l'eau ou adsorbées sur des particules, modifiant leur biodisponibilité et leur comportement dans l'environnement.

Lors de la mise en place d'une étude il est nécessaire d'évaluer les interactions éventuelles entre polluants

#### **d. Niveau trophique des organismes (Trophic level of organisms)**

Le niveau trophique d'un organisme joue un rôle déterminant dans son potentiel comme bioindicateur, car il influence à la fois l'exposition aux polluants et la manière dont ils s'accumulent dans les tissus.

Les organismes occupant différents niveaux trophiques ne réagissent pas de la même manière face aux mêmes stress environnementaux. Dans les écosystèmes terrestres, il est bien établi que les polluants persistants (métaux lourds ou de composés organiques peu ou non biodégradables) ont tendance à **s'amplifier le long des chaînes alimentaires**. Ce processus de bioamplification fait que les concentrations augmentent progressivement d'un niveau trophique à l'autre, atteignant leurs valeurs les plus élevées chez les **prédateurs supérieurs**, notamment les oiseaux rapaces et les mammifères carnivores. Ces espèces, situées au sommet de la pyramide écologique, accumulent en effet les contaminants ingérés via leurs proies, ce qui en fait des indicateurs sensibles des pressions chimiques à large échelle.

Pour les communautés aquatiques, le problème est plus complexe du fait de l'absorption simultanée des polluants par contact percutané et transbranchial directement à partir de l'eau et par voie alimentaire.

Ainsi, même si dans la plupart des cas (composés organochlorés, méthylmercure) s'est observée une bioamplification dans les réseaux trophiques aquatiques, il a été détecté pour la majorité des polluants organiques des concentrations semblables à tous les niveaux de la pyramide écologique et donc une absence de bioamplification. Parfois même, les coefficients de concentration décroissent, le maximum s'observant dans le phytoplancton et/ou les algues macrophytiques. Pour les polluants non radioactifs, il se trouve souvent un facteur de concentration maximale chez les algues unicellulaires du phytoplancton dû en grande partie à ce qu'une adsorption sur la surface cellulaire vient s'ajouter aux quantités de polluant réellement incorporées par l'organisme. Ainsi, dans le cas du plutonium, qui ne traverse par la barrière intestinale, les facteurs de concentrations les plus élevés ont été relevés chez les lichens marins, les algues et les Spongiaires qui sont des organismes microphages.

#### **B. Facteurs extrinsèques (extrinsic factors)**

Les paramètres abiotiques du milieu (température, précipitations, pH, salinité, oxygène dissous, etc.) influencent fortement la bioconcentration et la biodisponibilité des polluants chez les espèces bioindicatrices. Ces conditions environnementales modulent le métabolisme, l'activité et parfois même la présence des organismes, ce qui peut altérer la stabilité des mesures.

Les variations saisonnières jouent également un rôle important : certains bioindicateurs deviennent moins actifs, migrent ou modifient leur comportement selon la période de l'année, entraînant des fluctuations non liées à la pollution elle-même. Ainsi, pour garantir la fiabilité des données, il est essentiel de tenir compte de ces facteurs abiotiques et de réaliser un suivi sur plusieurs saisons ou idéalement sur toute l'année.

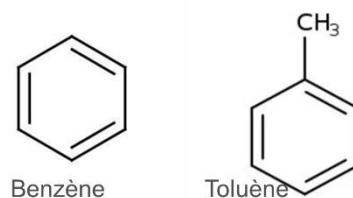
#### a. Facteurs influençant la toxicité des polluants

Tous les toxiques n'ont pas le même degré de toxicité. Certains, comme le sel de table, peuvent être relativement peu toxiques même en grandes quantités, tandis que d'autres, comme le Cadmium et l'Arsenic, peuvent être extrêmement toxiques même à faibles doses.

Les effets toxiques des substances peuvent être influencés par plusieurs facteurs, notamment :

**b. Facteurs liés à la substance toxique :** La toxicité d'un polluant dépend de sa dose, de sa forme chimique, de la durée de l'exposition et de sa capacité à provoquer des effets néfastes sur les organismes vivants. Certains polluants peuvent avoir des effets aigus (à court terme) ou chroniques (à long terme) sur la santé.

- **La nature de la substance toxique :** Les variations d'effets toxiques entre différents polluants peuvent en partie s'expliquer par les différences dans leur **structure chimique (figure 3)**. Par exemple, le toluène est beaucoup moins cancérigène que le benzène. Ces différences structurales influencent la manière dont les substances interagissent avec les systèmes biologiques, affectant leur capacité à perturber le fonctionnement de l'organisme.



**Figure 3: Structure chimique du Benzène et du Toluène (Popek, 2017)**

En outre, les caractéristiques **physico-chimiques**, tel que la taille des particules, la volatilité, la mobilité et la solubilité dans l'eau jouent également un rôle essentiel dans le comportement et la toxicité des polluants. Par exemple, des particules plus petites peuvent pénétrer plus profondément dans les voies respiratoires, tandis que des substances volatiles peuvent s'échapper facilement dans l'air, augmentant le risque d'exposition.

- **La dose :** Bien que la toxicité d'une concentration donnée peut varier d'un individu à l'autre en fonction de facteurs tels que l'âge, la génétique, et l'état de santé, la relation entre la concentration d'un polluant et l'effet observé (toxicité) suit souvent un modèle dose-réponse, où des doses plus élevées entraînent des effets plus marqués. Néanmoins, certaines substances sont toxiques à de très faibles doses.
- **La durée de l'exposition :** l'exposition aux produits chimiques et aux polluants peut avoir des effets à court et à long terme. Une exposition répétée à de faibles doses sur une longue période peut entraîner une toxicité chronique, tandis qu'une exposition à des doses élevées sur une courte durée peut provoquer une toxicité aiguë.

**c. Facteurs liés à l'espèce (individu) :** Chaque individu réagit différemment aux substances toxiques en fonction de divers facteurs.

- **Type d'organisme :** Les différentes espèces peuvent avoir des degrés de sensibilité variables aux polluants. Certaines d'entre eux peuvent être plus tolérantes à certains polluants que d'autres. (Espèces polluo-sensibles et espèces polluo-résistantes).
- **Facteurs génétiques (différences entre les espèces et les races):** Les différences génétiques peuvent significativement influencer la capacité des individus à transformer et éliminer les toxiques. Une compréhension approfondie de ces variations peut aider à mieux évaluer les risques de toxicité et à concevoir des stratégies de prévention adaptées.
- **Facteurs physiopathologiques :** La sensibilité individuelle à la toxicité des substances varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment l'âge, le sexe et l'état de santé. Les espèces en mauvaise santé sont plus sensibles aux effets des polluants que ceux en bonne santé.

**d. Facteurs liés à l'environnement :** L'exposition à des mélanges de substances chimiques est une réalité et représente l'un des défis majeurs à prendre en considération. Les interactions entre ces substances déterminent leurs biodisponibilités et par conséquent leurs toxicité. De plus, certains facteurs environnementaux telles que la lumière et la température peuvent influencer la toxicité.

**2.3.3. Impact d'un mauvais choix de bioindicateurs :** Le choix inapproprié de bioindicateurs peut avoir des conséquences significatives sur l'évaluation de la santé des écosystèmes et la gestion environnementale. L'utilisation de bioindicateur qui ne permet pas d'interpréter adéquatement l'état du milieu étudié présente une perte de temps et d'argent.

-Si les bioindicateurs sélectionnés ne sont pas sensibles aux polluants ou aux changements environnementaux, cela peut conduire à des résultats erronés et évaluation inexacte de la qualité du milieu étudié. Des décisions basées sur des données erronées peuvent entraîner des mesures de **gestion inefficaces**, entraînant des **dépenses inutiles** pour les gouvernements et les entreprises.

-Lorsque les bio-indicateurs sélectionnés sont pertinents et efficaces, ils permettent de détecter de manière précoce les problématiques environnementales afin d'en prévenir les conséquences écologiques. L'utilisation d'un bio-indicateur inadéquat ne permet pas l'atteinte de ces objectifs. Par conséquent, certaines problématiques environnementales pourraient ne pas être détectées après un délai important, ce qui se traduit par des impacts environnementaux qui auraient pu être évités par la sélection d'un bio-indicateur plus adéquat.

-Certains perturbations environnementales pourraient ne pas être détectées. De ce fait, les **organismes sensibles** à ces perturbations pourraient être affectés de façon importante, voire la **disparition** de ces organismes ce qui conduit à la perturbation des chaînes trophiques et par conséquent l'écosystème.

-Risque de **dépassement de seuils réglementaires** ou non-respect de la réglementation.

-Un choix inapproprié de bioindicateurs peut entraîner une exposition prolongée à des polluants qui n'ont pas été détectés, augmentant ainsi le risque sur la santé de la population.

## 2.4. Utilisation des Bioindicateurs dans l'environnement :

Bactéries, champignons, animaux ou végétaux, certaines formes de vie sont de précieux révélateurs de la dégradation de notre environnement. Des espèces vivantes ont également la propriété de concentrer dans leurs tissus les substances polluantes : l'élément toxique peut alors être dosé dans l'organisme « bio-accumulateur ».

### 2.4.1. En milieu aquatique

#### 2.4.1.1. Végétaux

Les plantes sont des outils très délicats pour prédire et reconnaître le stress des écosystèmes. Récemment, après l'industrialisation et l'urbanisation, la pollution des écosystèmes terrestres et aquatiques s'est intensifiée. La plupart des plantes favorisent une estimation utile de l'état de l'écosystème pollué, car elles sont immobiles et atteignent facilement un équilibre dans leur environnement naturel.

### ➤ Macrophytes aquatiques (Aquatic macrophytes)

Les macrophytes sont des végétaux aquatiques (végétaux supérieurs et algues filamenteuses) visibles à l'œil nu. Ils peuvent appartenir à différents groupes taxonomiques : **phanérogames (plantes à fleurs)**, **bryophytes (mousses)**, **ptéridophytes (fougères)** et **algues (figure 4)**.

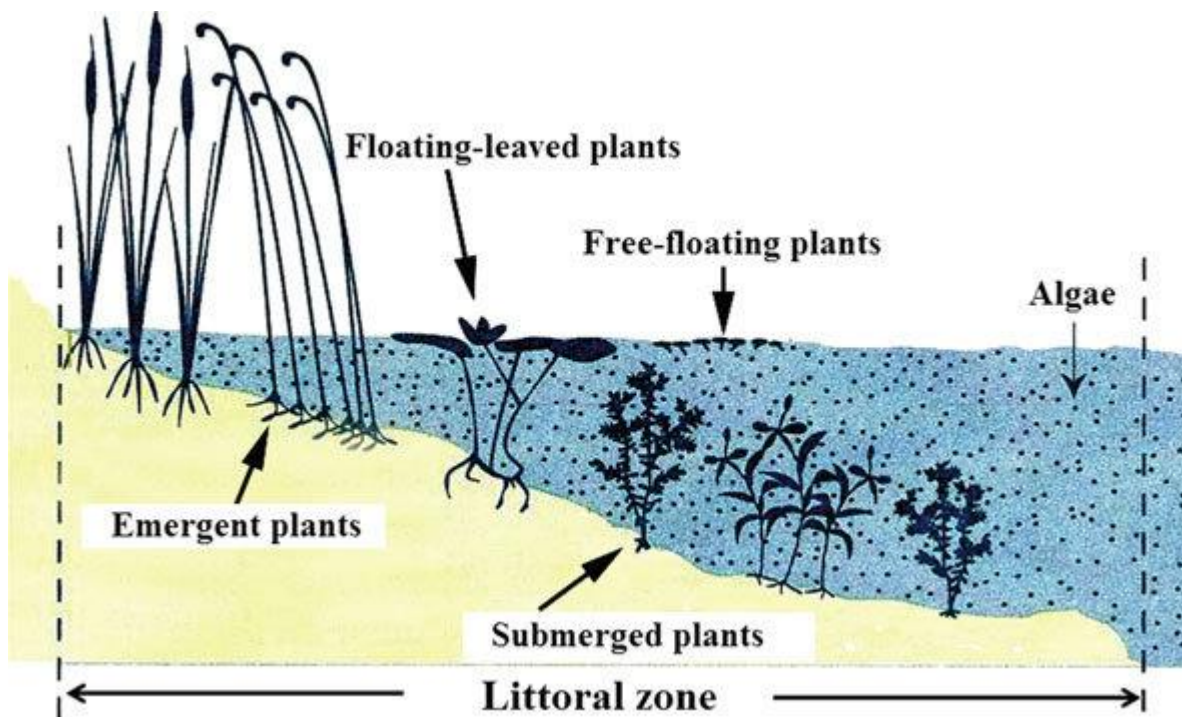


Figure 4 : Différents types de macrophytes (Rana, 2020)

Les macrophytes sont de bons indicateurs de la qualité des milieux aquatiques, grâce à leurs capacités bio-indicatrices. La présence, la prolifération ou la disparition d'espèces de macrophytes indiquent le niveau de pollution des eaux.

En milieu naturel, un déclin dans une communauté de macrophytes peut indiquer des problèmes de qualité de l'eau et des changements dans l'état écologique du plan d'eau. Ces problèmes peuvent être le résultat d'une turbidité excessive, de la présence d'herbicides ou une salinisation. À l'inverse, des niveaux de nutriments trop élevés peuvent créer une surabondance de macrophytes, qui peut à son tour interférer avec la chimie de l'eau du plan d'eau.

#### 2.4.1.2. Animaux

##### a. Invertébrés

### ✓ Mollusques lamellibranches

Les lamellibranches (bivalves) sont des invertébrés appartenant à la classe de mollusques qui se caractérisent, comme leur nom l'indique, par une coquille formée de deux valves fermées dorsalement qui recouvrent et protègent le corps de l'animal. Il en existe environ 13 000 espèces dans le monde, et la plupart d'entre elles sont marines.

Les mollusques lamellibranches ou bivalves sont des excellents indicateurs de contamination des eaux continentales et marines, grâce à leur aptitude à la bioaccumulation et leurs caractéristiques favorables à leur emploi comme bioindicateurs :

- ✓ Caractère sédentaire (organismes sessiles)
- ✓ Cycle vital long (plusieurs mois à plusieurs années)
- ✓ Échantillonnage qualitatif et quantitatif aisé (taxonomie connue)
- ✓ En milieu continental - bivalves de grande taille (*Anodonta*, *Dreissena polymorpha*) à régime microphage filtreur
- ✓ En milieu marin - moules (*Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis*) et huîtres

(*Crassostrea virginica* et *C. gigas*)

### → Echinoidea (Oursins) :

Les recherches révèlent que l'oursin (résiste à des niveaux de pollution élevés, ce qui confirme son statut d'excellent bioindicateur de pollution métallique.

- **Insectes** : Les larves d'éphémères et de plécoptères sont reconnues comme de bons bioindicateurs de l'eutrophisation des eaux courantes et des étangs en raison de leur sensibilité à la raréfaction de l'oxygène.

## b. Vertébrés

### → Poissons

Les poissons ont largement utilisés à l'échelle mondiale comme bio-indicateurs pour le monitoring des écosystèmes continentaux et marins, permettant notamment de suivre la dispersion des PCB et des organochlorés aux États-Unis ou des métaux lourds en Scandinavie. En raison de leur position dans la chaîne trophique, les espèces prédatrices et super-prédatrices présentent une bioaccumulation massive, pouvant atteindre des concentrations  $10^5$  à  $10^6$  fois supérieures à celles mesurées dans l'eau. En milieu dulçaquicole, la recherche s'appuie particulièrement sur des modèles d'étude comme la truite arc-en-ciel

(*Oncorhynchus mykiss*) et le vairon américain (*Pimephales promelas*). Ce phénomène de bioaccumulation est étroitement régulé par des facteurs physico-chimiques et temporels, tels que la température de l'eau, la dose du polluant et la durée d'exposition ; ces variables influencent directement la concentration corporelle moyenne, par exemple dans le cas du cuivre chez la truite arc-en-ciel.

## 2.4.2. En milieu terrestre

### 2.4.2.1. Lichens

Les lichens constituent de puissants **bioaccumulateurs** par leur aptitude à prélever les contaminants présents dans l'atmosphère. Cela provient de ce que ces organismes possèdent une écophysiologie particulière. De la sorte, ils prélèvent leurs nutriments dans l'atmosphère ce qui les conduit à « filtrer » de ce fait des volumes d'air considérables.

Ainsi, à la suite de la pollution atmosphérique par le SO<sub>2</sub> il avait été démontré dès les années 1960 qu'il existait chez les lichens une bonne corrélation entre leur teneur en soufre et leur distance d'une source d'émissions industrielles de ce gaz. Un lichen foliacé (*Parmelia saxatilis*) croissant sur des roches gréseuses à 6 km d'une source de pollution renfermait 2870 ppm de soufre, les individus situés à 14 km n'en renfermaient plus que 645 ppm, concentration tombant à seulement 225 ppm dans les échantillons recueillis à 34 km sous le vent de la zone d'émission considérée (Gilbert, 1965). En réalité, il n'y a pas « régulation » de l'absorption du soufre chez les lichens, de sorte que *P. saxatilis* absorbe cet élément à des teneurs bien supérieures à celles correspondant à ses exigences nutritives lorsqu'elle se développe dans des atmosphères urbaines contaminées par l'anhydride sulfureux.

Les lichens ont également été utilisés comme bio-indicateurs de contamination par des métaux radioactifs ou toxiques.

La faiblesse des teneurs des sols arctiques en éléments minéraux nutritifs, en particulier potassium et calcium, fait qu'ils absorbent et concentrent le césium 137 et le strontium 90. Ces derniers sont respectivement voisins aux plans chimique et donc métabolique de l'un et l'autre de ces éléments indispensables aux végétaux.

En France, Deruelle et al. (1983) ont mis en évidence une bioaccumulation du plomb provenant de l'usage de ses dérivés alkylés comme antidétonant dans les supercarburants chez les lichens croissant en forêt de Fontainebleau.

La concentration en plomb dans les thalles de trois espèces de lichens corticoles: *Parmelia physodes*, *Parmelia caperata* et *Evernia prunastri*, a été analysée en fonction de la distance de l'autoroute. Cette concentration décroît rapidement dans les 80 premiers mètres puis lentement ensuite à 15 m de la chaussée, *Parmelia physodes* renferme 1 000 ppm de plomb (par rapport au poids sec), à 80 m, la concentration n'est plus que de 190 ppm et à 500 m de 90 ppm, valeur à comparer aux 50 ppm qui représenteraient la teneur moyenne en Pb des lichens croissant en zone non polluée.

#### 2.4.2.2. Mousses (mosses)

Elles représentent aussi d'excellents bio-indicateurs de pollution atmosphérique. *Pleurozium schreberi*, *Hylocomnium splendens*, *Hypnum cupressiforme* ont par exemple été utilisés comme bio-indicateurs de pollution par le plomb. Ruhling et Tyler ont étudié la teneur comparée en plomb de mousses appartenant à ces dernières espèces conservées dans les herbiers du Museum de Stockholm avec celle de spécimens actuels. Ils ont ainsi mis en évidence une brutale élévation de la teneur en plomb à partir des années 1920. Les lichens et les mousses ont également été utilisés pour étudier la contamination globale par divers composés organochlorés. Ces auteurs ont prélevé des lichens aux hautes latitudes et dans les régions tempérées des zones boréales et australes (mais aussi dans des forêts pluvieuses tropicales) afin de déterminer l'accumulation par les apports atmosphériques d'insecticides organochlorés sur et dans les thalles de ces cryptogames.

Les mousses sont des bioindicateurs très sensibles de la contamination par les métaux lourds, mais elles présentent également des avantages considérables pour l'évaluation des xénobiotiques organiques, car elles peuvent accumuler de grandes quantités de ces éléments ou composés dans leurs tissus. Leur qualité d'indicateur est due aux caractéristiques suivantes:

- De nombreuses espèces ont une vaste **répartition géographique** et elles poussent en abondance non seulement dans divers habitats naturels mais aussi dans les agglomérations urbano-industrielles.
- Les parois cellulaires des mousses sont facilement pénétrables pour les ions métalliques car elles n'ont pas d'épiderme ni de cuticule.
- Les mousses n'ont pas d'organes pour l'absorption de minéraux du substrat, mais les obtiennent principalement par précipitation et dépôt sec.
- Le transport des minéraux entre les segments est très faible en raison de l'absence de tissus vasculaires.
- Les mousses accumulent les métaux de manière passive en agissant comme des échangeurs d'ions.

#### 2.4.2.3. Plantes

Les parties aériennes des plantes peuvent également capter les polluants par dépôt foliaire et pénétration percuticulaire et par translocation radiculaire. Ce dernier phénomène a été particulièrement étudié avec des éléments toxiques tels l'arsenic ou le cadmium.

Dans les régions tropicales, les feuilles de manguier (*Mangifera indica*) ont été utilisées pour évaluer les apports atmosphériques dus à la pollution diffuse par des composés organohalogénés.

Chez les Phanérogames, les **plantes à bulbes** ou à **tubercules** constituent d'excellents bio-indicateurs de contamination des sols. Les **carottes** par exemple, par suite de la richesse de leur épiderme et du parenchyme racinaire en terpènes, accumulent de façon significative les composés organochlorés. Il en est de même des **tubercules d'arachide**, du fait de leur grande richesse en lipides. Diverses plantes herbacées et ligneuses croissant sur des stériles de mines ou des résidus de fonderies de métaux non ferreux peuvent présenter des teneurs élevées de ces derniers dans leurs tissus. Des expériences effectuées en culture hydroponique sur ces plantes provenant de tels sites ont permis de démontrer leur forte capacité de tolérance. Tel est le cas en Europe de diverses graminées (*Agrostis tenuis*, *Arrhenatum elatius*, *Aristida stolonifera*, parmi bien d'autres), d'*Armeria maritima* (Plum baginacée), ou encore d'arbres tels *Salix viminalis* qui a montré une très forte capacité de tolérance et une considérable aptitude à la bioconcentration du **zinc** et du **cadmium**.

En réalité, de nombreuses espèces de phanérogames sont susceptibles d'accumuler dans des conditions naturelles ou dans des sites pollués par l'activité humaine des éléments toxiques; leur présence indique des concentrations anormales de ces derniers dans les roches superficielles. De telles plantes sont dénommées des **métallophytes**. Certaines d'entre elles sont dites **hyperaccumulatrices** car elles sont capables de bioconcentrer dans leur organisme divers métaux toxiques à des teneurs considérables (Les plantes hyperaccumulatrices de métaux sont des plantes qui accumulent dans leurs feuilles des teneurs en métal 100 à 1000 fois supérieures aux teneurs habituellement observées chez les plantes).

En Californie, des plantes endémiques telles *Streptanthus polygaloides* (Crucifères) et la Labiée *Castilleja neglecta* accumulent le nickel, la première en renfermant jusqu'à 16400 ppm dans son latex. Le record absolu de bioconcentration du nickel et de façon générale d'un métal toxique est sans doute détenu par un arbre nickélophyte de Nouvelle Calédonie, *Sebertia acuminata* (Sapotacée), qui renferme en moyenne 60000 ppm de cet élément dans son latex et peut en contenir jusqu'à 200 000 ppm, soit 200 g.kg-1 rapporté au poids sec.

**Remarque:** l'aptitude des métallophytes à bioconcentrer les métaux est depuis quelque temps utilisée pour décontaminer des sols pollués dans des zones industrielles, voire des terres agricoles. Cette technique,

dénommée **phytoremédiation**, consiste à cultiver des plantes **hyperaccumulatrices** sur des sols pollués et à ensuite récupérer la biomasse et l'incinérer. Des travaux effectués sur *Arrhenatum elatius* et *Arabidopsis halleri* ont par exemple permis de montrer que ces plantes pouvaient retirer des sols quelque 10 kg.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> de zinc. Bien d'autres exemples peuvent illustrer l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices dans la dépollution de sols contaminés par des métaux lourds.

L'*Alyssum murale* est une plante capable de se développer dans des sols contenant de très fortes concentrations de nickel, de l'absorber par ses racines et de concentrer des niveaux extrêmement élevés de ce métal dans ses tissus.

Cette plante a pour intérêt de pouvoir extraire le nickel des sols de sites contaminés (phytoremédiation) afin de ramener l'écosystème à un état moins toxique. La plante est cultivée puis récoltée pour extraire le nickel de ses tissus. Cette culture permet de valoriser les terrains peu fertiles pour d'autres cultures, en accumulant jusqu'à 120 kg de nickel par hectare.

#### 2.4.2.4. Animaux

La biosurveillance des écosystèmes doit reposer non seulement sur le suivi des populations (structure et dynamique) mais aussi sur la connaissance de leurs niveaux de contamination. Cependant, la prise en compte de la bioaccumulation des contaminants dans les organismes se heurte à la complexité des processus biologiques impliqués, variables selon les espèces, les milieux et les substances chimiques considérés ce qui explique le faible nombre de modèles de transfert disponibles.

##### a. Invertébrés terrestres (terrestrial invertebrates)

- **Les annélides oligochètes (vers de terre 'earthworms')** : Ces organismes présentent des capacités **accumulatrices** vis-à-vis des métaux. Les espèces *Lumbricus terrestris* et *Eisenia andrei* sont utilisées comme bioaccumulatrices des métaux lourds et des organochlorés.
- **Les oniscoïdes** : crustacés isopodes (cloportes 'woodlouse') et les gastéropodes pulmonés sont de bons indicateurs des contaminations en métaux lourds (Cd, Pb).
- **Mollusques (molluscs)** : les mollusques gastéropodes notamment l'escargot *Helix aspersa* sont connus pour leur grande capacité d'accumulation des éléments traces métalliques (EMT) les plus fréquents, à savoir le Cd, le Cu, le Pb et le Zn.

##### b. Vertébrés terrestres (terrestrial vertebrates)

Les vertébrés terrestres sont également utilisés comme indicateurs de pollution car ils peuvent concentrer divers polluants dans certaines parties de leur organisme.

Quelques espèces des oiseaux ont l'aptitude à accumuler des substances toxiques dans le plumage :

- Détermination de la contamination des flamants roses et des aigrettes de Camargue par le Cd et le Zn, En analysant leurs plumes, les chercheurs ont pu mesurer la bioaccumulation de dix métaux, tels que le cadmium, le chrome, le cuivre, le mercure, le plomb, le nickel, le sélénium, l'étain et le zinc. Parmi eux, le plomb et le sélénium apparaissent comme les plus inquiétants.
- Utilisation des plumes d'oiseaux en Suède pour évaluer la contamination de l'espace rural.

#### → Mammifères (mammals):

L'utilisation des bois de cervidés comme bio-indicateurs permet de monitorer efficacement la pollution par les métaux lourds dans les écosystèmes forestiers, car leur croissance annuelle cristallise l'exposition environnementale de l'animal. Une étude menée en Pologne illustre parfaitement ce phénomène : les chevreuils évoluant dans les forêts de Silésie, marquées par une forte activité sidérurgique et thermique, présentent des concentrations en cadmium (Cd), chrome (Cr) et plomb (Pb) nettement supérieures à celles observées chez les individus issus de parcs naturels préservés. Cette différence de bioaccumulation confirme que les bois constituent une archive biologique fiable pour mesurer l'impact des retombées industrielles sur la faune et son habitat.

#### 2.4.3. Microorganismes

Les bactéries accumulent facilement les polluants présents dans leur environnement, particulièrement les métaux. D'ailleurs, certaines études tendent à démontrer leur potentiel en tant qu'agent de remédiation des milieux pollués par les métaux. Par exemple, les cyanobactéries sont indicatrices de l'apport excessif de phosphore dans les écosystèmes aquatiques. *Pseudomonas putida* est utilisée pour la bioremédiation des hydrocarbures et de quelques pesticides.

Il a été démontré que certaines espèces de champignons, à savoir *Aspergillus versicolor*, *Microsporium* sp., *Cladosporium* sp. ont la capacité de tolérer et d'accumuler certains métaux lourds tels que le plomb et le cadmium.

### Chapitre 3 : Biomarqueurs (biomarkers)

En complément des analyses chimiques, la mesure de biomarqueurs permet de disposer d'informations sur la nature et le niveau de la contamination chimique mais aussi sur la santé des organismes vivants et des populations des écosystèmes.

#### 3.1. Définition des biomarqueurs

Les biomarqueurs ont fait leur apparition en écotoxicologie au cours des années 1980. Initialement décrits comme la réponse d'une structure ou d'une fonction biochimique ou physiologique « normale » à la présence d'un **xénobiotique**, la multiplication des travaux scientifiques autour de cette thématique a engendré de nombreuses définitions de la notion de biomarqueur.

Nous retiendrons ici celle énoncée par Lagadic *et al.*, 1997 qui définit un biomarqueur comme un **changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance à caractère polluant**. Cette définition peut être complétée de plusieurs critères regroupant les informations importantes qui permettent d'évaluer les forces et les faiblesses de différents candidats biomarqueurs.

#### 3.2. Caractéristiques des biomarqueurs

- Les méthodes de mesure des biomarqueurs doivent être sensibles, précises et simples de mise en œuvre ;
- La réponse des biomarqueurs doit être rapide afin de pouvoir être considérée comme un paramètre d'alerte précoce ;
- Les niveaux constitutifs et leurs variations, dues aux effets de facteurs physiologiques ou environnementaux, doivent être définis afin de distinguer la réponse induite par un contaminant de la variabilité naturelle ;
- Les mécanismes qui supportent la relation entre la réponse des biomarqueurs et l'exposition aux contaminants doivent être connus. De ce fait, la notion de biomarqueur est amenée à évoluer avec les connaissances scientifiques ;
- La signification toxicologique des biomarqueurs, qui peut être décrite comme le lien entre la réponse biochimique et les effets sur les organismes, doit être connue.

Les biomarqueurs représentent des outils de gestion environnementaux permettant le diagnostic **précoce** des effets induits de façon complémentaire à l'analyse chimique de la présence de polluants. Ils sont particulièrement utiles lorsque les polluants responsables d'effets indésirables se retrouvent à des niveaux **inférieurs** aux **limites de détection** analytiques ou qu'ils ont disparu. La **figure 5** récapitule les différents niveaux des biomarqueurs.

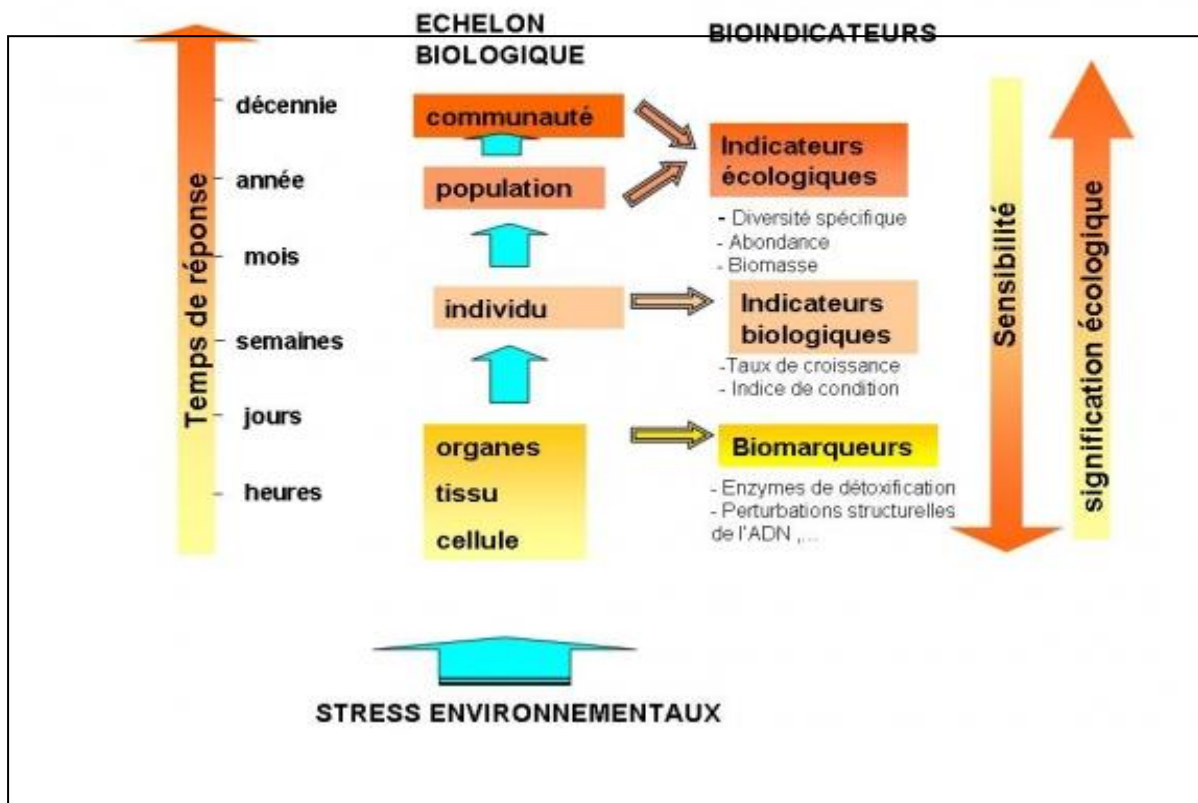


Figure 5: Biomarqueurs à différentes échelles (Amara, 2011)

### 3.4. Principaux types de biomarqueurs

Différents types de biomarqueurs peuvent être utilisés en écotoxicologie plus ou moins spécifiques du contaminant à tracer.

Selon l'importance de l'exposition et le degré d'intoxication des individus, deux principales classifications de biomarqueurs sont proposées dans la littérature.

- La première, et la plus fréquemment utilisée, est celle décrite par Lagadic et al., 1997 et reprise, en 2000, par Cajaraville et al. Elle classe les biomarqueurs selon trois grandes catégories.

- La deuxième a été décrite par De Lafontaine et al en 2000 et classe les biomarqueurs selon deux groupes.

### 3.4.1. Classification selon Lagadic (1997)

Selon cette classification, les biomarqueurs sont situés à différents niveaux des mécanismes d'altération toxique ; allant de la cause à l'effet. Ils peuvent se mesurer de la première interaction de l'agent toxique avec la cellule jusqu'aux atteintes structurelles et fonctionnelles de l'organisme.

#### a. Biomarqueurs d'exposition

Lorsqu'une personne est exposée à une substance chimique (par contact direct, par inhalation ou par ingestion), un produit correspondant à cette substance chimique peut être détecté dans l'organisme. Ce produit est généralement appelé « biomarqueur d'exposition ». Ils indiquent que le polluant présent dans le milieu a pénétré dans l'organisme. Les biomarqueurs d'expositions sont les résultats de l'interaction du polluant avec des molécules biologiques dans les tissus et les liquides corporels.

Les biomarqueurs d'exposition sont souvent le résultat d'un processus métabolique et peuvent être mesurés dans l'urine, le sang, la salive et les cheveux.

#### b. Biomarqueurs d'effets

Ces biomarqueurs permettent de montrer que le xénobiotique est entré dans l'organisme, et qu'après distribution dans les différents organes ou tissus, il a exercé un effet toxique ou non, sur une cible critique. La réponse de l'organisme regroupe des paramètres moléculaires, biochimiques, histologiques, cellulaires, immunologiques, et physiologiques.

Ils correspondent à la phase II de l'action d'un contaminant xénobiotique.

Ces biomarqueurs peuvent être de deux types : les biomarqueurs d'effets **non spécifiques** qui décrivent les effets provoqués par un grand nombre de facteurs de stress (comme par exemple le changement de poids d'un organisme) et les biomarqueurs d'effets **spécifiques**, qui décrivent les réponses de l'organisme à une classe de xénobiotiques en particulier. Les biomarqueurs d'effets spécifiques sont généralement des réponses biochimiques, immunologiques ou des altérations histopathologiques et cellulaires (cassures de l'ADN, enzymes du stress oxydant, réponses lysosomales).

### c. Biomarqueurs de sensibilité ou de susceptibilité (ou de génotoxicité)

Ces biomarqueurs sont liés aux variations d'origine génétique de la réponse d'un organisme à la contamination par un polluant, ils traduisent généralement les variations de sensibilité, comme la résistance aux contaminants. A titre d'exemple, la baisse de sensibilité aux acétylcholinestérases est le témoin d'une résistance aux insecticides. Ces variations peuvent résulter d'une exposition précédente à un xénobiotique ou à des différences génétiques interindividuelles.

#### 3.4.2. Classification de De Lafontaine (2000)

Une deuxième classification, qui semble plus appropriée dans le cadre de la biosurveillance, a été proposée par De Lafontaine et al en 2000. Ces auteurs répertorient les biomarqueurs en deux grandes classes, les biomarqueurs de **défense** et les biomarqueurs de **dommages**.

##### a. Biomarqueurs de défense

Les biomarqueurs de défense permettent aux organismes de lutter et de survivre en présence de polluants. Cette classe va donc regrouper les différents biomarqueurs traduisant une ou des réactions de défense de l'organisme lorsque celui-ci est exposé à un ou des contaminants. C'est le cas, par exemple, de l'induction de métallothionéines en réponse à une contamination par certains métaux lourds ou encore de la mesure de l'activité diéthyléthoxyrésorufine déshydrogénase (EROD) qui met en évidence une induction des mécanismes de détoxification de l'organisme.

Exemples de biomarqueurs de défense : catalase, GPx, SOD, P450, GST.

##### b. Biomarqueurs de dommages

Les biomarqueurs de dommages reflètent une atteinte biologique plus ou moins importante pouvant conduire à une incapacité pour l'individu de se reproduire voire la mort de l'organisme. Les principaux biomarqueurs de dommages sont des marqueurs moléculaires (cortisol, stress oxydant, peroxydation des lipides...), des marqueurs de génotoxicité (adduits à l'ADN, micronoyaux et test Comet), des marqueurs subcellulaires et cellulaires (marqueurs immunologiques), des marqueurs cytologiques et des marqueurs physiologiques. Ces biomarqueurs de dommages permettent d'obtenir une bonne évaluation de l'état de santé des individus d'une espèce donnée.

### **3.5.Utilisation de biomarqueurs dans différents types d'écosystèmes**

Un biomarqueur parfait et universel n'existe pas. Selon les conditions d'utilisation du biomarqueur, celui-ci peut apporter une réponse erronée, voire aucune réponse. En effet, de nombreux facteurs peuvent influencer la physiologie d'un organisme et donc la réponse du biomarqueur. Tout d'abord, il existe des facteurs propres à l'individu, ce sont les facteurs intrinsèques. Il s'agit, par exemple, de l'espèce, du sexe, de l'âge, du poids et du régime alimentaire de l'individu. Il peut également s'agir des caractéristiques génétiques de l'espèce considérée. D'autres facteurs peuvent influencer la réponse de l'organisme à une contamination par un polluant, il s'agit des facteurs extrinsèques. Ces derniers, relatifs à l'environnement, sont notamment les saisons, la durée et le taux d'exposition, de même que l'interaction avec les autres espèces. En effet, ces paramètres peuvent influencer le degré d'exposition organisme/toxique, c'est-à-dire modifier la quantité de toxique potentiellement assimilable par l'organisme. De même, des facteurs abiotiques tels que la température ou la salinité peuvent également avoir une influence sur la réponse du biomarqueur. Si l'influence de ces facteurs est contrôlable en conditions de laboratoire, en conditions naturelles l'interprétation de la réponse des biomarqueurs devient plus délicate. La standardisation des réponses est ainsi difficile à obtenir tant la gamme de réponses dites/considérées comme « normales » peut s'avérer large et donc très difficile à caractériser. Pour atténuer cette contrainte et cette difficulté de standardisation dans le milieu naturel, le choix d'un site de référence représente un point très important pour la fiabilité de la réponse du biomarqueur. Ce site devra se situer dans une zone d'une contamination nulle, voire très faible. De plus, une comparaison des réponses entre sites de niveaux de contamination différents est fortement recommandée, afin d'obtenir la meilleure estimation possible du degré de contamination du milieu.

Les biomarqueurs étant nombreux, nous en avons choisi quelques-uns parmi les plus utilisés et les plus pertinents de nos jours.

#### **3.5.1. Ethoxyrésorufine-O-dééthylase (EROD)**

Le biomarqueur qui a été le plus étudié jusqu'à présent chez le poisson est certainement l'induction du cytochrome P450 1A en particulier au niveau du tissu hépatique. Elle peut renseigner sur l'exposition des organismes à des polluants majeurs de l'environnement tels que les HAPs, PCBs, organochlorés. Cette enzyme est une monooxygénase à fonction mixte (MFO) dépendante du cytochrome P450. Les monooxygénases sont des enzymes permettant la biotransformation des polluants hydrophobes en composés hydrosolubles. L'induction est classiquement mesurée dans le foie, mais elle peut également être

significative dans d'autres tissus. Elle se déclenche lors de la biotransformation des contaminants par l'organisme, mise en œuvre pour les « détoxifier ». Une activité EROD élevée peut donc être le signe d'une pénétration de ces polluants dans les poissons.

### 3.5.2. Métallothionéines (Mts)

Les métallothionéines sont une famille de protéines cytoplasmiques non enzymatique de faible poids moléculaire (12-15kDa), riches en cystéine et montrant une forte affinité pour les ions métalliques. En 1964, il a été démontré que la synthèse de MT est inductible par le cadmium. Depuis, l'inductibilité de la synthèse de métallothionéines a été reconnue pour d'autres métaux, comme le cuivre, le mercure, l'argent et le fer. A ce jour, les MTs ont été identifiées chez environ 50 espèces d'invertébrés aquatiques différents, la majorité étant des mollusques et des crustacés. Les métallothionéines (MTs) sont des protéines qui jouent un rôle important dans la protection contre les effets toxiques des métaux lourds.

La synthèse et la concentration de ces protéines est censée augmenter lors d'une contamination métallique. Ainsi, la détection et le dosage des MTs sont souvent considérés comme des biomarqueurs fiables d'exposition métallique et font l'objet d'une attention particulière dans les programmes de surveillance.

Lorsque les teneurs en métaux traces essentiels sont trop élevées ou lors de la présence de métaux traces non-essentiels, les MTs peuvent aussi jouer un rôle de détoxification. En effet, les MTs sont capables de séquestrer ces métaux et de les rendre non biodisponibles, ce qui les empêche d'exercer leur toxicité. Il faut toutefois noter que lorsque des métaux non-essentiels entrent dans une cellule, ils entrent en compétition de manière inévitable avec les métaux essentiels pour se lier sur les MTs intracellulaires.

### 3.5.3. Biomarqueurs de neurotoxicité (biomarkers of neurotoxicity) :

La neurotoxicité est défini comme Tout effet indésirable pour le système nerveux (p. ex. la paralysie ou la perte d'une fonction) résultant d'une exposition à des substances neurotoxiques.

#### → Acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine en acétate et en choline.

La mesure de l'inhibition de l'activité Acétyl Cholin Estérasique (AChE) dans le muscle de poisson est un biomarqueur dont l'expression traduit spécifiquement l'exposition des poissons à des produits phytosanitaires de la famille des organophosphorés ou de celle des carbamates. Pour les poissons des milieux aquatiques continentaux, cette mesure s'effectue généralement sur le muscle.

L'AChE a été évaluée comme biomarqueur de neurotoxicité chez les gastéropodes exposés à des stress environnementaux. Gaitonde et al. (2006), par exemple, ont mesuré l'ACHE chez un Muricidé, *Cronia contracta*, afin d'évaluer le degré de contamination par les contaminants neurotoxiques (métaux, hydrocarbures pétroliers) de la côte de Goa en Inde. Douhri et Sayah (2009) ont étudié le même biomarqueur chez des individus de *Patella vulgata* prélevés dans des stations marines chargées en métaux au niveau de la baie de Tanger au Maroc.

### 3.5.4. Biomarqueurs du stress oxydant (biomarkers of oxidative stress)

#### 3.5.4.1. C'est quoi le stress oxydant ?

Les organismes aérobies produisent continuellement des espèces réactives d'oxygène (ROS) comme conséquence inévitable de leur métabolisme. Le terme espèces réactives de l'oxygène (ROS) est un nom collectif qui inclut non seulement les radicaux libres de l'oxygène mais aussi plusieurs espèces non radicalaires aux capacités oxydatives et contenant un ou plusieurs atomes d'oxygène.

Un radical libre est une espèce chimique contenant un ou plusieurs électrons célibataires non appariés au niveau de son orbitale électronique périphérique, cet état confère à la molécule une grande instabilité et une grande réactivité vis-à-vis d'autres molécules. Cette situation transitoire est compensée soit par l'**acceptation** d'un autre électron, soit par le **transfert** de l'électron libre vers une autre molécule.

Les facteurs responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres (**figure 6**) par l'organisme sont appelés facteurs oxydants. Ils se divisent en facteurs endogènes et exogènes.

Une des plus grandes sources endogènes de production de radicaux libres (RL) est la mitochondrie (organe utilisant de l'oxygène pour produire de l'ATP). Au cours de la respiration cellulaire, 95 à 99% de l'oxygène consommé est réduit en eau. Ainsi, la production de radicaux libres est proportionnelle à la consommation d'oxygène. De plus, les peroxysomes, les microsomes ainsi que les leucocytes tels les granulocytes (neutrophiles et éosinophiles) et les macrophages sont d'importantes sources de production de radicaux libres.

Les facteurs exogènes associés à une production accrue et/ou à une diminution de l'élimination de radicaux libres sont également très variés. Parmi ces facteurs, on cite

- L'alimentation (antibiotiques, alcool, café, aliments riches en protéines et/ou en lipides et/ou à indice glycémique élevé, faible consommation d'antioxydants)
- Le CO<sub>2</sub> atmosphérique.
- Les polluants (fumée de cigarette, pollution atmosphérique (SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, hydrocarbures)
- Les médicaments (traitements contre le cancer, psoralène...) peuvent induire un stress oxydatif.
- Les métaux toxiques comme le chrome, le vanadium, le cuivre peuvent induire la formation des RL.
- Les radiations (ionisantes, ultraviolets, micro-ondes) peuvent participer à la formation des RL.

Les radicaux libres ont été longtemps considérés comme nuisibles, responsables de potentiels dommages à l'ADN, aux protéines et aux lipides.

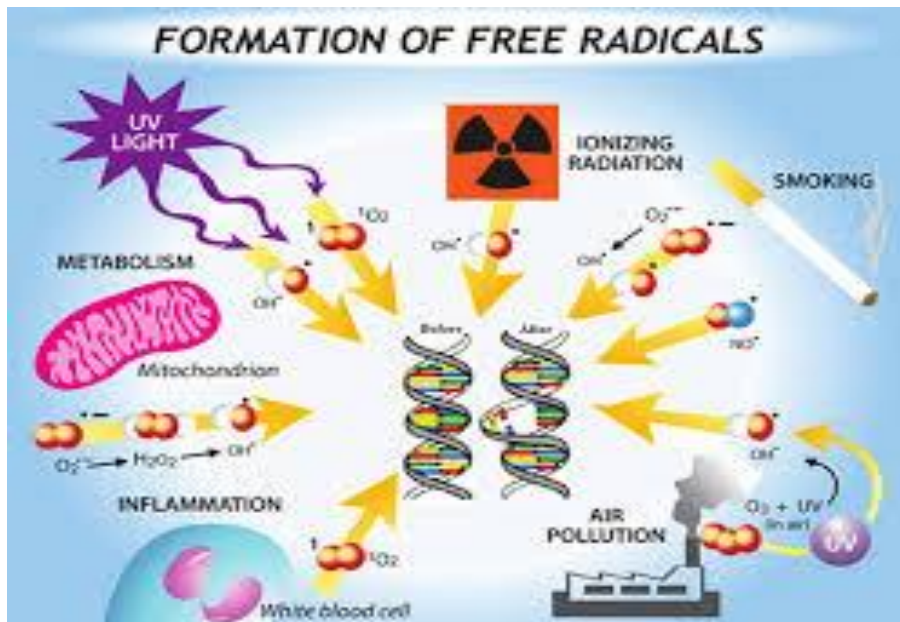


Figure 6 : Différents biomarqueurs impliqués dans le stress oxydant (Devaki and Raveendran, 2017)

Les **antioxydants** peuvent réagir avec un radical libre et le neutraliser **en lui cédant un électron**, afin qu'il retrouve sa **stabilité**.

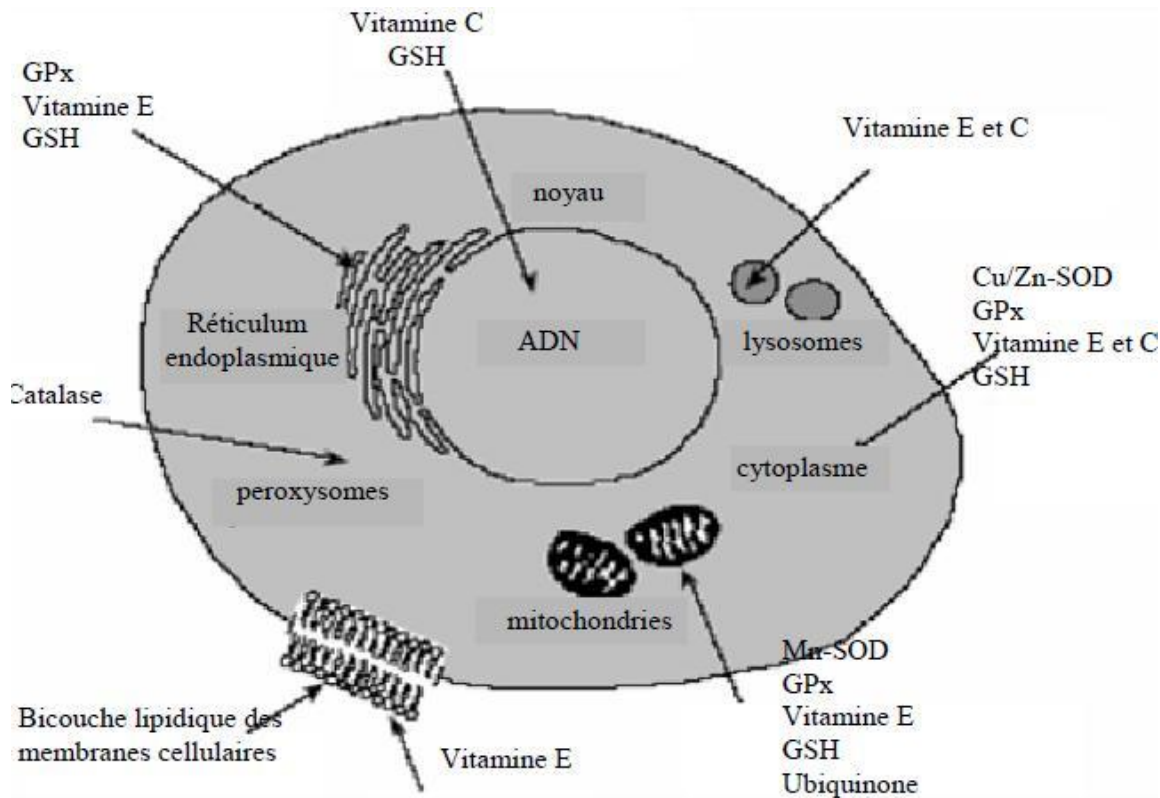
Le stress oxydant ou stress oxydatif est un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ROS) et les capacités cellulaires antioxydantes. Autrement dit, le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydante/ antioxydante en faveur des oxydants. Il se

développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme.

Le stress oxydatif touche l'ensemble des tissus et des métabolismes et de ce fait participe à un grand nombre de pathologies (inflammation, maladies cardiovasculaires, cancers). Les dommages liés à un stress oxydant se traduisent par l'accumulation de produits d'oxydation des biomolécules (lipides, protéines, acides nucléiques) au niveau plasmatique et au niveau cellulaire, ce qui permet d'évaluer ce stress oxydant par la détermination de ces produits d'oxydation.

Le maintien d'un niveau non cytotoxique de radicaux libres est assuré par des systèmes antioxydants. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques et peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine.

Les organismes vivants ont développé différents mécanismes d'adaptation et de défense pour lutter contre les effets du stress (**figure 7**), et ce en fonction des mécanismes antioxydants qui aident à réparer les dommages cellulaires en limitant les effets des espèces réactives de l'oxygène. Ce système antioxydant peut être **enzymatique** (tels que la superoxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT), les glutathion peroxydases (GPx), les glutathion S-transférases (GST)) et **non enzymatique** (tels que les vitamines A, C et E et l'acide urique). Ces derniers jouent un rôle important dans la neutralisation des ROS et peuvent être utilisés comme de très sensibles biomarqueurs de la pollution.



**Figure 7 . Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule (Delattre et al., 2005)**

(MN-SOD): superoxydedismutase mitochondriale; (Cu/Zn-SOD): superoxydedismutasecytosolique; (GPx): glutathion peroxydase ; GSH : glutathion réduit

#### 3.5.4.2. Antioxydants non enzymatiques (non-enzymatic antioxidants)

Contrairement aux antioxydants enzymatiques (endogènes), la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Ce sont des dérivées des aliments, il s'agit notamment des **oligoéléments** et des **vitamines** tels que la b-carotène, la vitamine B, la vitamine C (ascorbate), la vitamine E (a-tocopherol) et l'ubiquinol 10.

##### a. Vitamine C (acide ascorbique)

C'est un antioxydant puissant, et agit comme un piègeur de ROS pour empêcher, ou au moins atténuer, les effets délétères causés par les ROS. Elle agit en synergie avec la vitamine E pour éliminer les radicaux libres et régénère également la forme réduite de la vitamine E.

##### b. Vitamine E (tocophérol)

Elle s'insère au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines ou elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant.

### **c. Glutathion (GSH)**

Le glutathion (GSH) est le plus abondant antioxydant dans les organismes vivants, il participe aux réactions de désintoxication des xénobiotiques et du maintien de l'homéostasie cellulaire.

Il est considéré comme l'un des plus importants agents antioxydants impliqué dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, soit directement en agissant comme un piègeur des ROS tels que l'anion super oxyde, le radical hydroxyle et les espèces réactives d'azote, soit indirectement en agissant comme un cofacteur de nombreuses enzymes et principalement la GST et la GPX catalysant la détoxification et l'excrétion d'un grand nombre des composés toxiques. Le glutathion se trouve généralement en grandes quantités dans les organes exposés aux xénobiotiques particulièrement dans le rein, le foie, les poumons (ou les branchies chez les organismes aquatiques) et l'intestin. Un faible niveau du stress oxydatif peut induire une augmentation de la synthèse de GSH (mécanisme adaptatif), tandis qu'un stress oxydatif sévère peut provoquer l'oxydation du glutathion réduit (GSH) au glutathion oxydé GSSG et réduit sa concentration dans la cellule. Il peut être considéré comme marqueurs biologiques qui présentent un grand potentiel dans la contamination par les métaux lourds.

### **d. Vitamine A (β-carotène)**

Elle a un effet antioxydant. Il s'agit d'une molécule liposoluble présente dans les membranes biologiques, qui réagit avec les radicaux peroxydes, créant des produits non radicalaires, ce qui a pour effet d'arrêter la chaîne de réaction radicalaire

### **e. Zinc**

Il assure la stabilisation de la Cu-Zn SOD et donc il a un effet antioxydant.

### **f. Cuivre**

Il est un cofacteur de la superoxyde dismutase. Il est essentiel dans la lutte contre les infections. Lorsque tous les systèmes de défense antioxydante sont altérés les RL attaquent les molécules biologiques et on parle de stress oxydatif.

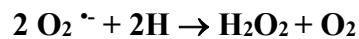
### **3.5.4.3. Antioxydants enzymatiques (enzymatic antioxydants)**

Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme. Pendant les périodes de stress, les enzymes antioxydantes et certains métabolites jouent un rôle important dans l'adaptation et la survie des organismes vivants.

Ce système fait intervenir plusieurs enzymes dont les plus importantes sont : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), et la glutathion peroxydase (GPx), mais aussi la glutathion réductase (GR).

**a. Superoxyde dismutase (SOD)**

Identifiée dans les années 1960 et 1970, la SOD est utilisée depuis longtemps dans l'exploration du stress oxydatif. Les superoxyde dismutases (SOD) constituent une famille d'enzyme du stress oxydant qui catalysent la première étape en convertissant le superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène divalent.



Elles catalysent les réactions de dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène en évitant la formation des dérivés plus toxiques comme la peroxynitrite ( $\text{ONOO}^-$ ) ou le radical hydroxyle ( $\text{HO}^\cdot$ ).

**b. Catalase (CAT)**

La catalase, située dans les peroxysomes, est un antioxydant intracellulaire impliqué dans le système de défense contre les effets potentiellement nocifs des ROS générés par une grande variété des réactions biologiques ou par la pollution environnementale. Son activité antioxydante a une grande importance, car elle empêche la conversion du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en ion hydroxyde ( $\text{OH}^-$ ), très nocif pour les cellules, en catalysant sa décomposition en eau et oxygène selon la réaction simplifiée :  $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$ . Cette réaction est une stratégie importante des organismes marins contre le stress oxydatif.

Ainsi, l'augmentation de l'activité de la catalase a été observée chez les poissons exposés aux polluants organiques comme les HAPs et les PCBs. Toutefois, les travaux effectués sur les biomarqueurs du stress oxydant au laboratoire et surtout in situ montrent que le caractère aspécifique de leurs réponses constitue un avantage comme un indicateur de pollution mixte.

**c. Glutathion peroxydase (GPX)**

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme localisée dans le cytosol et les mitochondries.

Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$ .

**d. Glutathion-S-transférase (GST)**

Les glutathion S-transférases (GST) sont des enzymes cytosoliques de phase II (biotransformation) qui catalysent la conjugaison des composés toxiques, ayant généralement subi les réactions de phase I, avec un groupement  $-\text{SH}$  (issu le plus souvent du glutathion). L'ajout de ce groupement va neutraliser les sites électrophiles des xénobiotiques, les rendant plus hydrosolubles et donc plus facilement excrétables. Une induction de la GST a été signalée chez l'escargot *Theba pisana*, *Helix aspersa* exposés à des pesticides.

### ✓ Comment évaluer les paramètres du stress oxydatif ?

Les activités enzymatiques de la catalase (CAT) de la SOD et de GST sont généralement déterminées par spectrophotométrie à partir de la fraction cytosolique des tissus étudiés.

La fraction cytosolique constitue une source importante d'enzymes impliquées dans les mécanismes de défense antioxydante. Sa préparation repose sur l'homogénéisation des tissus dans un tampon approprié (tampon phosphate) , suivie d'étapes successives de centrifugation permettant d'éliminer les débris cellulaires et les différents organites.

Le surnageant obtenu après centrifugation correspond à la fraction cytosolique. Cette fraction est ensuite utilisée pour le dosage des enzymes antioxydantes et l'évaluation de divers biomarqueurs du stress oxydatif par des méthodes spectrophotométriques.

### 3.6.Biomarqueurs et évaluation de l'impact écologique des polluants

Une seule espèce ou quelques espèces choisies ne permettront pas de connaître l'état exact de la structure de la biocénose contaminée mais bien un échantillonnage total de la communauté.

La biodiversité fait référence à l'ensemble des espèces et des êtres vivants sur Terre ou dans un écosystème spécifique.

La réalisation du monitoring de l'environnement en écotoxicologie à partir d'une ou de quelques espèces prises comme bio-indicateurs de pollution constitue une méthode simple à mettre en œuvre pour évaluer la qualité des milieux naturels exposés ou non à tel ou tel type de polluant.

Il existe de nombreuses façons de mesurer la Biodiversité sur un site, mais nous ne retiendrons que les plus utilisées qui répondent aux questions :

- Combien d'espèces trouve-t-on sur ce site ? (richesse spécifique)
- Quelle est l'importance de chaque espèce sur ce site ? (abondance-dominance)
- Les différentes espèces ont-elles des effectifs similaires ? (régularité numérique)
- Comment quantifier globalement la Biodiversité des espèces sur ce site (indices de diversité)

**\*La richesse spécifique (S)** est le plus simple indice de « biodiversité » est tout simplement le nombre d'espèces. La richesse spécifique noté S ou «r» correspond au nombre d'espèces différentes présentes dans un peuplement ou une zone considérée.

$$S = \text{nombre d'espèce de la zone d'étude}$$

Il existe différentes expressions de la diversité :

**La diversité alpha** : la diversité au sein d'une zone ou d'un écosystème particulier ; habituellement exprimée par le nombre d'espèces

**La diversité beta** : comparaison de la diversité des écosystèmes, généralement mesurée par le nombre d'espèces qui changent entre les écosystèmes

**La diversité gamma** : mesure de la diversité globale des différents écosystèmes d'une région

\*L'abondance totale (N) correspond au nombre total d'individus.

**N= nombre total d'individu de la zone d'étude**

**Abondance relative** : L'abondance relative est une mesure de la proportion d'individus d'une espèce par rapport au total d'individus observés dans un site ou dans l'ensemble des sites.

**Exemple :**

Pour A :

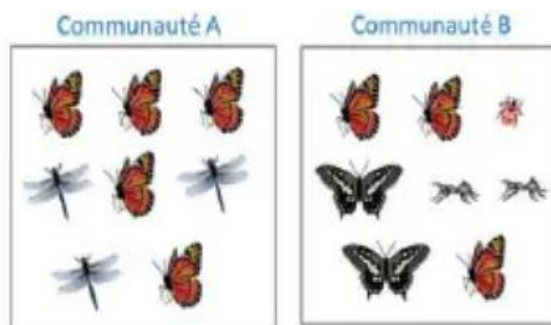
N= 8

S=2

Pour B :

S=4

N=8



### 3.6.1. L'indice de Shannon

L'indice le plus utilisé pour décrire la diversité des espèces. Il s'exprime en Bit (Binary digit unit). Une valeur élevée de l'indice de diversité de Shannon-Weaver ( $H'$ ) (Shannon & Weaver, 1949) indique un écosystème plus sain, alors qu'une valeur faible indique un écosystème dégradé.

Cet indice permet de quantifier l'hétérogénéité de la biodiversité d'un milieu d'étude. Sa formule est la suivante :

$$H = - \sum_{j=1}^S p_i \ln p_i$$

$i$  : une espèce du milieu d'étude

$p_i$  : Proportion d'une espèce  $i$  par rapport au nombre total d'espèces dans le milieu d'étude, qui se calcule de la façon suivante :

$$p(i) = n_i / N$$

Où :  $n_i$  est le nombre d'individus pour l'espèce  $i$  et  $N$  est l'effectif total (les individus de toutes les espèces).

Les valeurs les plus faibles sont associées à des peuplements dominés par une ou quelques espèces.

Indice inférieure à 2 la diversité est faible

Indice de 2 à 3 la diversité est moyenne

Indice de 4 à 5 la diversité est élevée

Indice supérieur à 6 la diversité est exceptionnelle

### 3.6.2. L'indice d'équitabilité : Indices d'équitabilité de Pielou (1966)

Les individus sont-ils équitablement répartis entre les espèces ?

L'Indice de Régularité est le rapport entre la diversité observée  $H$  et la diversité maximale  $H_{max}$

$$R = H / H'_{max} = H / \ln(S) \quad (\text{Idu et al., 2026})$$

La valeur de l'indice d'équitabilité de Piélou varie donc entre 0 et 1 où 0 correspond à la dominance d'une des espèces et 1 à l'équirépartition des individus entre les différentes espèces

### 3.6.3. L'indice de Simpson

L'indice de Simpson ou Encore appelé indice de dominance mesure la probabilité que deux individus tirés au hasard à partir d'un échantillon appartiennent à la même espèce. Il est défini par la formule suivante :

$$D = \sum n_i(n_i-1) / N(N-1) \quad (\text{Grall, 2006})$$

Où :  $n_i$  correspond au nombre d'individus d'une espèce donnée,  $i$  allant de 1 à  $S$  (nombre total d'espèces) et  $N$  au nombre total d'individus.

Le maximum de diversité étant représenté par la valeur 0 (lorsque la probabilité est faible que deux individus tirés au hasard appartiennent à la même espèce), et le minimum de diversité par la valeur 1 (lorsque la probabilité est forte que tous les individus appartiennent à la même espèce).

Il est préférable de présenter cet indice par **(1-D)** et le max de diversité étant représenté par la valeur 1, et le min de diversité par la valeur 0.

Il faut noter que cet indice de diversité donne plus de poids aux espèces abondantes qu'aux espèces rares. Le fait d'ajouter des espèces rares à un échantillon, ne modifie pratiquement pas la valeur de l'indice de diversité.

### 3.6.4.L'indice de Hill

Cet indice propose une mesure de l'abondance proportionnelle, en comparant entre-eux les indices de Shannon et de Simpson. L'indice de diversité de Hill ainsi obtenu a pour objectif d'apprécier le rapport entre d'un côté la prise en compte des espèces abondantes (Simpson) et de l'autre l'influence des espèces rares (Shannon). L'indice de Hill apparaît donc comme un indice synthétique.

$$\text{Hill} = (1/D)/e^H \quad (\text{Grall, 2006})$$

$1/D$  = inverse de l'indice de Simpson et  $e^H$  = exponentielle de l'indice de Shannon.

Plus l'indice de Hill s'approche de la valeur 1, et plus la diversité est faible.

C'est comme l'indice de Simpson et pour faciliter l'interprétation, il est alors possible d'utiliser l'indice **1-Hill** ou la diversité maximale sera représentée par la valeur 1, et la diversité minimale par la valeur 0.

C'est l'indice de Hill qui semble le plus pertinent dans la mesure où il intègre les deux autres indices. Toutefois, il peut être utile d'utiliser les trois indices conjointement afin d'en extraire un maximum d'informations et de mieux comprendre la structure des communautés.

## Références

- Amara, R. (2011). Impact de la pollution sur les écosystèmes côtiers: exemple de la Manche orientale. VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement, (Hors-série 9).
- Bani, A., Echevarria, G., Pavlova, D., Shallari, S., Morel, J. L., & Sulçe, S. (2017). Element case studies: Nickel. In Agromining: farming for metals: extracting unconventional resources using plants (pp. 221-232). Cham: Springer International Publishing.
- Baurand, P. E. (2015). Embryotoxicité de contaminants métalliques et organiques chez l'escargot *Helix aspersa* (Doctoral dissertation, Université de Franche-Comté).
- Botond, K. J., Marinov, M., Alexe, V., Bolboacă, L. E., Doroşencu, A. C., Trifanov, C., ... & Cotorogea, C. (2022). Can the Greater Flamingo (*Phoenicopterus roseus*) be considered a breeding species in the Danube Delta Biosphere Reserve (Romania)?. Scientific Annals of the Danube Delta Institute, 27, 55-70.
- Brasileiro A., Herald M. (2020). Toxins are turning off great egrets mating in the Everglades. Phys.org.
- Bungartz, F. (2025). Glossary of lichen terminology provided by the Consortium of Lichen Herbaria (based on definitions originally published in the Lichen Flora of the Greater Sonoran Desert Region and the LIAS glossary, with image resources provided by B. McCune, S. Yang, A.A. Spielmann, and F. Schumm, and secondary chemistry data and chromatograms by J.A. Elix, F. Schumm). <https://lichenportal.org/portal/glossary/index.php>. Accessed on November 26.
- Burtle, G. J. (2014). Invasive aquatic animals. In Encyclopedia of Agriculture and Food Systems (pp. 58–65). Elsevier.
- Cardoso, E. J. B. N., & Alves, P. R. L. (2012). Soil ecotoxicology. In Ecotoxicology. IntechOpen.
- Carvalho, A., Costa, L. C. D. O., Holanda, M., Gonçalves, M., Santos, J., Costa, C. S., ... & Poersch, L. H. (2023). Growth of the Macroalgae *Ulva lactuca* Cultivated at Different Depths in a Biofloc Integrated System with Shrimp and Fish. Phycology, 3(2), 280-293.
- Cho, Y., Kim, J., Han, J. E., & Lee, B. (2016). Vascular plants of Poaceae (I) new to Korea: *Vulpia bromoides* (L.) Gray, *Agrostis capillaris* L. and *Eragrostis pectinacea* (Michx.) Nees. Journal of species research, 5(1), 14-21.
- David, F. Willer, Ph.D. David C. Aldridge, Ph.D. (2021). Innovative technology to provide low-cost, highly sustainable option to help address global nutrient shortcomings. Global Seafood Alliance.
- Delattre J, Beaudeau JL, et al. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC et DOC, 1- 405.
- Devaki, S. J., & Raveendran, R. L. (2017). Vitamin C: sources, functions, sensing and analysis. In Vitamin C. IntechOpen.
- Geffard, O., Chaumot, A., Ferrari, B. (2009). Quelles approches pour la mesure de perturbations toxiques dans les milieux ? – 5ème journée thématique de la ZABR (Zone Atelier Bassin du Rhône) : La démarche écotoxicologique pour la protection et l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques.

- Grall, J. & Coïc, N. (2005). Synthèse des méthodes d'évaluation de la qualité du benthos en milieu côtier, Institut Universitaire Européen de la Mer – Université de Bretagne Occidentale Laboratoire des sciences de l'Environnement MARin, 91p.
- Idu, P. N., Chukwura, E. I., Okonkwo, I. F., Uba, B. O., & Oghonim, P. A. N. (2026). Microbial Diversity Metrics: An Insight into the Ecological Status of Different Water Resources in Anambra State Central Senatorial Zone, Nigeria. *IPS Interdisciplinary Journal of Biological Sciences*, 6(1), 257-271
- James, S. W., Porco, D., Decaens, T., Richard, B., Rougerie, R., & Erseus, C. (2010). DNA barcoding reveals cryptic diversity in *Lumbricus terrestris* L., 1758 (Clitellata): resurrection of *L. herculeus* (Savigny, 1826). *PloS one*, 5(12), e15629.
- Jiménez Prada, P., Hachero-Cruzado, I., & Guerra-García, J. M. (2015). Importancia de los anfípodos en la dieta de especies de interés acuícola del litoral andaluz. *Zoologica baetica*, 26, 3-29.
- Knolle, F., Ernst, W. H., Dierschke, H., Becker, T., Kison, H. U., Kratz, S., & Schnug, E. (2011). Schwermetallvegetation, Bergbau und Hüttenwesen im westlichen GeoPark Harz-eine ökotoxikologische Exkursion.
- Kufryk, G. (2022). Exploring genetic tools for cyanobacteria and their application for biofuels production. In *Expanding Horizon of Cyanobacterial Biology* (pp. 129-162).
- Lamonica, D. (2016). Capturer les interactions écologiques en microcosme sous pression chimique à travers le prisme de la modélisation. Thèse Université de Lyon.
- Larba, R., Soltani, N. (2014). Use of the land snail *Helix aspersa* for monitoring heavy metal soil contamination in Northeast Algeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186, 4987–4995.
- Maslač, A., Maslač, M., & Tkalec, M. (2016). The impact of cadmium on photosynthetic performance and secondary metabolites in the lichens *Parmelia sulcata*, *Flavoparmelia caperata* and *Evernia prunastri*. *Acta Botanica Croatica*, 75(2), 186-193.
- Mousavi-Sabet, H., Heidari, A., & Salehi, M. (2018). How the selective breeding in aquaculture programs can change the body shape of cyprinids; a case study on the native *Cyprinus carpio* and a cultured stock. *International Journal of Aquatic Biology*, 6(6), 330-339.
- Pereira M.C.M.D. (2025). *Arrhenatherum elatius* subsp. *Bulbosum*. Museu Virtual da Biodiversidade. <https://museubiodiversidade.uevora.pt/elenco-de-especies/biodiversidade-actual/plantas/angiospermas/arrhenatherum-elatius/>
- Pitman, R., Hänfling, B., & Bista, I. (2023). The genome sequence of the barbel, *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758).
- Pizzolla, P.F (2007). *Paracentrotus lividus* Purple sea urchin. In Tyler-Walters H. and Hiscock K. *Marine Life Information Network: Biology and Sensitivity Key Information Reviews*, [on-line]. Plymouth: Marine Biological Association of the United Kingdom.
- Popek, E. P. (2017). Sampling and analysis of environmental chemical pollutants: a complete guide. Elsevier.

- Radwan, M.A., EL–Wakil H.B., & Osman K.A. (1992). Toxicity and biochemical impact of certain oxime carbamate pesticides against terrestrial snail, *Theba pisana* (Muller). *J. Environ. Sci. Health*, 27 (6), 759-773. 20.
- Radwan, M.A., & Mohamed M.S. (2013). Imidacloprid induced alterations in enzyme activities and energy reserves of the land snail, *Helix aspersa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 95, 91–97.
- Rana, V., & Maiti, S. K. (2020). Municipal and industrial wastewater treatment using constructed wetlands. *Phytoremediation: In-situ Applications*, 329-367.
- Roelandt B., 2020. Moule commune. Observation International © 2025 <https://observation.org/species/9368/>
- Schober, I., Koblitz, J., Sardà Carbasse, J., Ebeling, C., Schmidt, M. L., Podstawka, A., ... & Reimer, L. C. (2025). Bac Dive in 2025: the core database for prokaryotic strain data. *Nucleic acids research*, 53(D1), D748-D756.
- Shannon, C. E., & Weaver, W. (1949). *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana, IL, USA.
- Zhu T.B., Huang J., Wang X.G., Yang D.G. (2018). First record of exotic Amur catfish, *Silurus asotus* (Actinopterygii: Siluriformes: Siluridae), in the Tibet stretch of the Lancang River, China. *Acta Ichthyol. Piscat.* 48 (2): 205–207.