

IMPACT DE LA POLLUTION AUX HYDROCARBURES SUR L'ECOPHYSIOLOGIE ET LA PATHOLOGIE DES BIVALVES D'INTERET COMMERCIAL DE LA COTE ATLANTIQUE

J.L. MARTIN-J.HAURE, LABORATOIRE CONCHYLICOLE DES PAYS DE LOIRE
A.THEBAULT, M. ROBERT, LABORATOIRE GENETIQUE & PATHOLOGIE
P. GOULLETQUER, LABORATOIRE CONCHYLICOLE DE POITOU-CHARENTES, COORDINATEUR

L'évaluation des conséquences écologiques et économiques de la pollution pétrolière de l'Erika implique la mise en oeuvre d'observations, d'analyses et d'expériences scientifiques à court, moyen et long terme. Parmi ces effets à évaluer, l'impact direct sur la biologie et les performances de production des principales espèces conchylicoles mérite une attention particulière dans la mesure où près de 30 % de la production nationale (de l'ordre de 130 000 tonnes d'huîtres et 60 000 tonnes de moules par an) se situent dans la zone impactée. Les difficultés dans l'évaluation des effets de contaminants sur une partie de l'écosystème dominée par une population d'élevage résident dans les différentes approches à mettre en oeuvre comme dans les réponses variables en fonction des espèces concernées. Notamment, les effets à court terme d'une toxicité aigue susceptible de toucher une fraction des stocks exposés à des apports polluants massifs doivent être discernés des effets retardés d'une toxicité chronique due à une faible exposition et à une bio-accumulation sub-létale. Les espèces d'huîtres comme de moules sont considérées comme d'efficaces bioaccumulateurs d'éléments traces et de différents micropolluants, avec une capacité limitée de régulation pour limiter l'accumulation de contaminants dans leur tissu (De Kock and Kramer, 1994). Ceci justifie leur utilisation dans les réseaux nationaux de biosurveillance ("Mussel watch" aux USA, RNO en France). La toxicité à court terme a déjà été abordée (2000) par l'analyse de la décontamination des huîtres et moules, ainsi que par les suivis de phase larvaire, stade de développement particulièrement sensible. Les analyses des taux d'HAP dans les coquillages de la baie de Bourgneuf réalisés avant l'arrivée de la marée noire puis dans les semaines qui l'ont suivie, ont montré que la contamination pouvait être extrêmement rapide. Une expérience de 51 jours avec un apport de phytoplancton (*Skeletonema costatum*) distribué par une eau salée souterraine traitée (épuration physico-chimique et biologique), a mis en évidence une décontamination initiale rapide des animaux, les huîtres et les moules atteignant respectivement des valeurs inférieures ou égales au seuil fixé par l'AFSSA en 9 et 26 jours, résultats variables en fonction des contaminations initiales (850 µg/kg - huîtres & 4000 µg/kg - moules). La pente de décontamination des deux espèces étudiées ne diffère pas significativement. A moyen terme, les effets d'une toxicité chronique sur les performances individuelles de croissance, reproduction et taux de mortalité sont évalués globalement par des suivis in-situ en intensifiant les différents réseaux de surveillance de l'IFREMER (REMORA, REMOULA). Cependant, compte tenu de la plasticité des bivalves face à des fluctuations environnementales naturelles (e.g., trophique) ou/et anthropiques, les processus induisant ces modifications de rendement doivent être compris. Une des hypothèses de travail concerne des perturbations d'ordre physiologique, détectables par le suivi des fonctions métaboliques (respiration, assimilation, excrétion), affaiblissant les animaux et par la même leurs défenses immunitaires. Les efforts de recherche ont porté sur les effets à moyen et long terme des polluants sur les populations de bivalves d'intérêt commercial selon deux approches : -1 globale par l'intensification des réseaux de suivi de la reproduction, de la croissance et de la qualité des mollusques d'élevage, via le réseau pérenne REMORA (1994→) concernant l'huître creuse *Crassostrea gigas* sur différents sites de production (impactés et non impactés) de la façade atlantique; -2 analytique afin de comprendre les voies physiologiques responsables des effets éventuels et d'établir des corrélations entre les différents moyens

expérimentaux mis en œuvre (écophysiologie, histopathologie). Cette dernière méthode est considérée comme essentielle en biomonitoring pour déterminer les effets d'agents biologiques, physiques et chimiques comme ceux des contaminants anthropogéniques sur les animaux (Yevich and Yevich, 1994). L'objectif final de l'étude est d'établir des corrélations entre les mesures in-situ de rendement de production, les processus physiologiques observés dans la première étude, le statut parasitaire et le niveau de contamination de polluants.

Le premier volet de l'étude a estimé l'état physiologique d'huîtres de la Baie de Bourgneuf présentant divers degrés de contamination en hydrocarbures par comparaison avec des témoins issus de Marennes-Oléron. L'influence du taux de contamination a été mesurée par l'activité biologique de l'animal (filtration et consommation d'oxygène) ainsi que par l'efficacité de ses fonctions métaboliques dans l'utilisation de la nourriture capturée (ingestion, digestion, absorption). Cette activité est basée à la fois sur le niveau (valeurs absolues) et sur la durée de celle-ci (temps). Les animaux ont été étudiés individuellement pendant 22 heures dans un milieu reproductible (eau salée souterraine) avec un apport constant de nourriture (phytoplancton *Skeletonema costatum*). Des enregistrements continus de mesures physiques ont permis d'estimer individuellement les taux de filtration (fluorimètre) et de consommation d'oxygène (oxymètre). Les biodépôts (fèces et pseudofèces) sont récupérés en fin d'étude pour le calcul des différentes fonctions physiologiques de l'animal (ingestion, absorption, production nette). L'ensemble des résultats permet d'établir un potentiel de croissance (SFG, "Scope For Growth") donnant une réponse intégrée utilisable comme un paramètre de biomonitoring (Smaal and Widdows, 1994).

L'ensemble des résultats a permis d'établir un potentiel de croissance (SFG, "Scope For Growth") (fig. 1) qui donne une réponse intégrée pouvant être utilisée comme un paramètre de biomonitoring (Smaal and Widdows, 1994).

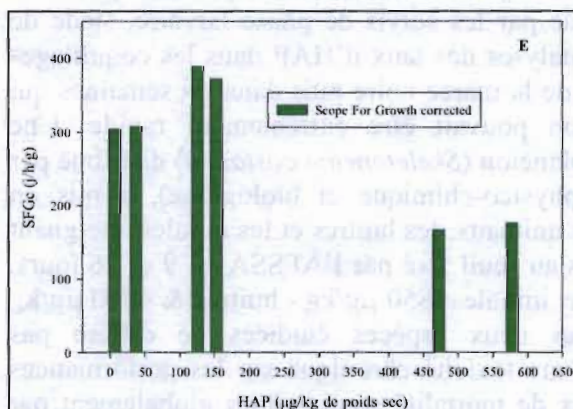


Figure 1: Potentiel de croissance ou "Scope For Growth" (SFG) d'huîtres contaminées à différents niveaux.

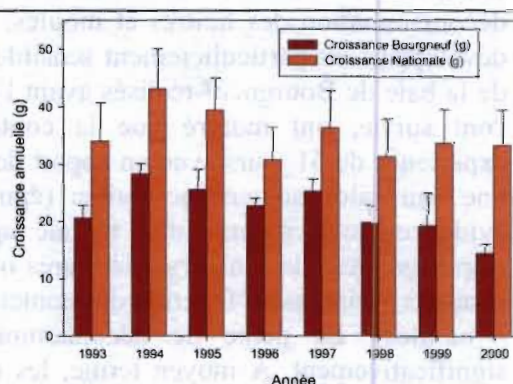


Figure 2: Evolution des gains moyens de croissance annuelle de la baie de Bourgneuf, comparés à ceux de la moyenne nationale.

Globalement, les temps d'activité comme le potentiel de croissance semblent peu affectés par des concentrations en hydrocarbures inférieures à 200 µg/kg alors que ces paramètres diminuent de moitié pour des teneurs au delà de 450 µg/kg. Des résultats similaires ont été obtenus sur les bivalves *Venus verrucosa* (Axiak and George, 1987) et *Mytilus edulis* (Widdows et al., 1982) contaminés par des hydrocarbures, confirmant nos propres observations. L'impact de la pollution au niveau de la biomasse d'huîtres en élevage en baie de Bourgneuf est évaluée par les données de croissance recueillies par le réseau national de l'Ifremer (REMORA). Ces informations existent depuis 1993 et les gains moyens

de croissance annuels peuvent être comparés à ceux de la moyenne nationale (fig. 2). Les croissances d'huîtres en baie de Bourgneuf sont en général médiocres : ainsi on observe de 1993 à 1999 les mêmes tendances que les performances moyennes au niveau national. Par contre, alors que les valeurs nationales indiquent un état stationnaire de la croissance en 2000, elles se traduisent en baie de Bourgneuf par une chute hautement significative par rapport à 1999. Ces déficits de la croissance peuvent s'expliquer en partie par des conditions météorologiques peu favorables au cours du premier semestre 2000 (températures basses, forte pluviométrie, coups de vent violents entraînant une forte turbidité), période pendant laquelle se réalise habituellement plus de 80 % de la production annuelle de la Baie (Haure et Baud, 1995). C'est également à cette période que les concentrations en HAP étaient élevées (>400 µg/kg) dans la plupart des secteurs ostréicoles. Compte tenu des résultats écophysiologiques, précédemment énoncés, l'impact de la pollution dû au naufrage de L'Erika sur les élevages conchylicoles ne peut donc être écarté.

La seconde étude concerne l'impact de la pollution aux hydrocarbures sur la pathologie de bivalves d'intérêt commercial. L'impact des hydrocarbures sur les invertébrés se traduit par une baisse des défenses immunitaires, les sensibilisant à l'action de pathogènes opportunistes. L'effet peut être recherché pour des doses sub-létales sur des mollusques d'intérêt commercial. Les connaissances sur les prévalences et leurs variations pour les principales espèces de ces régions sont connues avant l'arrivée de l'Erika, grâce aux résultats du Réseau de surveillance zoosanitaire des pathologies des mollusques (REPAMO). Par exemple, les coques font l'objet de suivis annuels au Croisic, en Baie de Bourgneuf et sur d'autres secteurs. Douze agents intratissulaires ont ainsi été détectés à des niveaux de prévalence ou d'infestation faibles (trématodes *Meigymnophallus minutus*, *Labratrema minimus*, *Himatshla* ; protozoaires, coccidies, grégarines, ciliés; bactéries, Rickettsies; métazoaires, *Paravortex cardii*, *Mytilicola*, larves de Nématodes; pathologies d'origine indéterminée, hématosarcomes). Un dérèglement de l'équilibre hôte-parasite est possible si les coquillages sont affectés par ailleurs. L'étude a consisté à mettre en évidence l'impact d'une pollution par des agents opportunistes utilisés comme indicateurs d'un état de fragilisation des animaux, tout en s'appuyant sur les données existantes des réseaux IFREMER (e.g., REPAMO). Cette approche permet de mieux comprendre l'agressivité potentielle et la pathogénie de certains parasites. De plus, l'activité cancérigène des polluants déjà décrites sur les coquillages (sarcomes) (Peters, 1988) a fait l'objet d'un suivi. Les moules, coques, palourdes, huîtres creuses ont été échantillonnées (30 individus/lot) en fonction de la taille, de la zootechnie, et des paramètres environnementaux. Les concentrations de polluants sur les coques et les huîtres étaient évaluées simultanément sur des lots de même origine, et pour les palourdes de façon directe, ou bien indirecte par la mesure de polluants sur une autre espèce comme la moule (Biomarqueurs-LITEAU). Les espèces fouisseuses sont logiquement les plus exposées à moyen et long terme lorsque les polluants s'y concentrent. Ainsi plus de 2 000 individus ont été analysés.

A ce jour deux agents parasitaires semblent émerger de l'impact de la pollution de l'Erika.

- Le premier concerne les Ciliés dans les branchies des moules exposées aux HAP. Les Ciliés sont des protistes, du phylum des *Ciliophora*, et de la famille des *Sphenophrydae* (Kinne, 1983). Ce sont des opportunistes, et seule une infestation massive pourrait avoir un effet sur son hôte (Kinne, 1983). Leur présence accrue pourrait soit venir d'une pullulation de ce type d'agents dans le milieu ou d'une sensibilité accrue des moules, agressée par des facteurs externes comme les HAP. L'hypothèse d'une multiplication intempestive dans le milieu n'est pas évidente car les moules sont les seules à montrer ce

type d'agents aussi présents dans leur tissu, comparées aux huîtres, aux palourdes et aux coques. Les ciliés ne sont pas spécifiques vis à vis des espèces hôtes à partir de nos connaissances actuelles. Cependant une taxonomie basée sur une phylogénie moléculaire permettrait une confirmation. Bien que la biologie des Ciliés soit peu connue, il est possible d'admettre que les deux critères ont du jouer un rôle pour aboutir à cette tendance de prévalence. Les Ciliés sont souvent présents dans des environnements dégradés (Bower *et al.* ; 1994, De Kinkelin *et al.*, 1985), et les branchies des moules ont pu être relativement agressées par les HAP. Il faut cependant être prudent dans l'interprétation, car un facteur tiers a pu jouer un rôle localement. Néanmoins l'hypothèse d'un effet de l'Erika sur la présence de Ciliés dans les branchies de moules reste plausible d'un point de vue biologique.

- Le second agent est réellement inattendu. Il s'agit vraisemblablement d'une levure intracellulaire, parasite des coques, occasionnant une réaction importante d'infiltration hémocytaire de la part des coques. Même si sa présence au Croisic est plus ancienne que l'Erika, son émergence coïncide curieusement et sur différents sites du Croisic à l'impact de l'Erika. Seule une étude menée sur un plus long terme permettra de relier ces lésions à l'impact des HAP. La mycologie n'est pas une branche classique de la pathologie des coquillages (Bower *et al.* , 1994). Aucune maladie à déclaration obligatoire des coquillages n'est liée à un agent fongique et la maladie observée au Croisic n'est pas décrite sur les coques. Seuls quelques champignons utiles en agroalimentaire ou néfastes en santé publique ont fait l'objet d'un séquençage permettant l'utilisation d'outils moléculaires qui auraient pu être utilisés sur les blocs histologiques (Pouchus, com. pers.). Les méthodes classiques de culture ont abouti à l'isolement de plusieurs souches, ce qui est fréquent en milieu marin et au Croisic en particulier, sur les coques de surcroît (Sallenave, 1999). Mais il n'a pas été possible d'établir de lien entre ces cultures et les lésions. L'aspect des champignons en culture et *in situ* chez l'animal peuvent être très différents. Lorsque les boîtes de cultures et la méthodologie ont été acquises, les taux de prévalence chez les coques avaient diminué. Par ailleurs, il est possible que le milieu de Sabouraud ne soit un milieu favorable à la culture, toujours lente et hasardeuse, des champignons présents dans ces lésions. Le matériel, blocs et souches obtenues sont cependant gardées pour des travaux futurs. D'autres approches expérimentales par exemple permettraient de progresser dans l'identification. Toutefois, de façon similaire aux résultats d'écophysiologie, l'ensemble des résultats scientifiques et l'évolution sur quelques années devrait permettre la confirmation de la corrélation avec la pollution liée à l'Erika. Nos connaissances sur la pathologie des coques est encore parcellaire, et le mérite de cette étude sera au moins d'avoir décrit une nouvelle pathologie. En 1999, des cas de néoplasie sur les coques du Croisic ont été décrits pour la première fois sur ce site, sans aucun lien avec un changement d'origine environnemental. Par conséquent, l'occurrence d'une pathologie nouvelle coïncidant avec une pollution aux hydrocarbures ne constitue pas en soi une démonstration définitive du lien de causalité entre les deux. Le suivi à plus long terme permettra de confirmer si le champignon a proliféré dans un milieu dégradé ou si les coques étaient fragilisées par les HAP. Les coques semblent fragilisées sur le plan physiologique par les hydrocarbures (Savari *et al.*, 1991). Par ailleurs ce champignon est virulent pour la coque, déclenchant notamment une forte réaction inflammatoire.
- L'intérêt d'une étude d'observation est de suggérer des pistes qui seront démontrées par des études complémentaires. Les coques apparaît ainsi comme une espèce potentiellement indicatrice dans le cas de nouvelles pollutions accidentelles aux HAP telle que celle du Prestige et également en routine dans le cadre du réseau de surveillance.