

Résumé d'habilitation à diriger des recherches

Olivier Geffard

"Proposition d'une espèce bio-indicatrice, *Gammarus fossarum*: Démarches, méthodes et outils pour diagnostiquer et comprendre la contamination chimique et la toxicité des milieux aquatiques"

Mes activités de recherche concernent l'étude de l'impact des contaminants sur les invertébrés aquatiques, avec pour finalité le développement et la proposition d'indicateurs de la contamination chimique et de la toxicité des milieux aquatiques. Ceci implique d'une part de réaliser une recherche amont sur le développement d'approches analytiques pour l'identification de nouveaux biomarqueurs spécifiques ; et d'autre part une recherche appliquée sur l'utilisation de ces outils pour l'évaluation de la qualité des milieux, avec un objectif de transfert impliquant la nécessité de conceptualiser et de structurer les étapes nécessaires permettant d'obtenir une interprétation fiable de ces outils. L'ensemble de mes travaux a été réalisé sur le gammare *Gammarus fossarum*, renforçant le choix de cette espèce comme organisme sentinelle. Mes travaux de recherches se sont structurés autour de 3 axes. Indicateurs de la contamination chimique biodisponible Aujourd'hui, le suivi spatial et temporel de la contamination chimique des milieux aquatiques est un enjeu fort, notamment pour la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Toutefois, les méthodes actuellement disponibles (mesures des niveaux de contamination dans l'eau, les sédiments ou même dans les organismes autochtones) sont confrontées à des limites de sensibilités analytiques, mais surtout à la difficulté d'intégrer l'impact de nombreux facteurs biotiques et abiotiques, limitant ainsi la comparaison des teneurs observées entre les stations et donc une interprétation fiable des données. L'encagement de gammares contrôlés (non contaminés) et calibrés sur une période définie, et pour lesquels il est possible de fournir de la nourriture ad libitum, permet de limiter l'impact de ces facteurs de confusion dans l'interprétation du niveau de contamination des organismes, et offre ainsi un outil fiable et reproductible pour le suivi de la contamination bio-disponible dans les milieux. Cette approche de caging « standardisée » a permis de proposer, pour plus d'une trentaine de composés organiques et inorganiques, des seuils de contamination permettant d'une part de conclure sur la présence significative d'une contamination bio-disponible, et d'autre part de proposer une graduation de cette contamination. Développement de nouveaux biomarqueurs Marqueurs moléculaires : En complément de la mesure de l'activité acétylcholinestérase et de l'expression du gène codant pour la vitellogénine (Vtg), un marqueur de génotoxicité (le test des Comètes) a été développé et validé chez cette espèce afin de diagnostiquer les dommages à l'ADN. Enfin, et plus récemment, en collaboration avec A. Salvador (Lyon 1) et J. Armengaud (CEA Marcoule), des approches protéomiques pour l'identification et la mesure de protéines d'intérêt comme biomarqueurs ont été mises en place chez cette espèce. Cette collaboration a permis de proposer une méthode analytique, basée sur la spectrométrie de masse, pour identifier et quantifier de façon absolue les teneurs en Vtg chez *G. fossarum*. De plus ces approches ont également permis de construire une base de données de protéines spécifiques de divers organes (gonades mâle et femelle, le céphalon et l'appareil digestif), ceci devant aboutir prochainement d'une part à l'identification de marqueurs protéiques spécifiques de grandes fonctions physiologiques (reproduction, mue, digestion etc...), et d'autre part au développement d'une méthode d'analyse dite « multiplexée », permettant d'identifier et de quantifier, en une seule analyse, plusieurs biomarqueurs (entre 20 et 30). Ces développements doivent lever de nombreux verrous techniques pour l'utilisation des biomarqueurs et relancer leur intérêt dans la surveillance des milieux. Marqueurs individuels : Au niveau individuel, nos efforts ont porté sur le développement de méthodes permettant de quantifier l'impact des polluants sur deux réponses directement en lien avec la dynamique des populations de cette espèce : la reproduction et le taux d'alimentation. Le développement de ce type de marqueurs est une étape clef pour permettre à terme d'évaluer

l'impact des polluants à un niveau d'organisation biologique pertinent, celui de la population. L'extrapolation des effets observés au niveau individuel à celui de la population par l'utilisation de modèles de dynamiques de populations doit permettre une meilleure analyse des risques écotoxicologiques. Indicateurs de la toxicité des milieux aquatiques La volonté de vouloir identifier et comprendre l'impact des polluants présents dans les milieux aquatiques a fortement orienté mes activités de recherche dans le développement d'une méthodologie d'exposition des organismes sur le terrain, et ce de façon la plus contrôlée possible. Un travail important a été réalisé autour de l'utilisation d'expérimentations in situ (encagement) pour d'une part décrire et formaliser la variabilité naturelle des marqueurs développés et disponibles chez *G. fossarum*, et d'autre part évaluer l'intérêt de ces marqueurs comme outil de diagnostic. Pour ceci et dans le cadre de plusieurs projets (ANR CESA, ANR Ecotech, PNRPE, ONEMA, ANSES), de nombreuses études ont été menées sur l'ensemble du territoire français, aussi bien en conditions contrôlées (non contaminées) que sur des stations soumises à des pressions chimiques. Pour chacun des marqueurs, pour lesquels une méthode de mesure fiable était disponible, ces travaux ont permis de définir une valeur de référence dite « universelle ». Ainsi, quelles que soient les conditions environnementales, il est aujourd'hui possible de prédire, pour chaque marqueur, le niveau qu'il doit atteindre si le milieu est non toxique. L'écart à cette référence révèle un impact toxique du milieu testé. La détermination de ces valeurs de référence permet de s'affranchir de l'approche amont-aval classiquement utilisée en écotoxicologie environnementale, basée sur la sélection a priori d'un site dit « de référence », ayant les mêmes paramètres physico-chimiques que les sites suspectés contaminés.