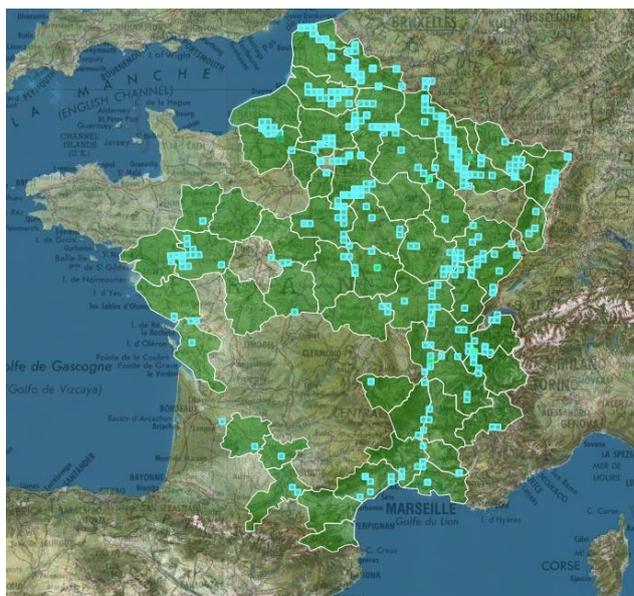


FICHE 1 : PROSPECTION DES DREISSENES

Distribution Géographique

Malgré leur caractère invasif et le risque que ces espèces représentent pour les écosystèmes et les services associés, il n'existe pas, à notre connaissance, de programme de suivi de leur progression dans les hydrosystèmes métropolitain.



D. polymorpha – source :
inpn.fr



D. r. bugensis – source :
inpn.fr

Les cartes reproduites ici, issues de l'INPN (Inventaire du Patrimoine Naturel) sont parcellaires et non actualisées, tout comme celles disponibles sur le site du GBIF (Global Biodiversity Information Facility, gbif.org). Elles permettent néanmoins de visualiser l'ampleur de l'aire de répartition de *Dreissena polymorpha*, qui est présente dans tous les grands hydrosystèmes français.

Les cartes de répartition de *Dreissena bugensis rostriformis* sont encore plus imprécises, deux raisons pouvant être invoquées. Premièrement, l'arrivée de cette espèce sur le territoire métropolitain est récente, or une grande partie des données agrégées par l'INPN proviennent d'actions de naturalistes ou d'associations, dont l'effort d'échantillonnage n'est pas régulier ni systématique. Du temps est nécessaire pour consolider les données de répartition. Deuxièmement, la présence de deux espèces de dreissenidés n'est pas encore connue de tous, pouvant conduire à des erreurs d'identification, avec toutes les dreissenés classées sous le nom de *D. polymorpha*. Des efforts dans le porté à connaissance sont encore à fournir.

Typologie d'hydrosystèmes

Les dreissenidés sont des mollusques bivalves vivant fixés au substrat par un byssus. Ils ne sont pas présents dans les milieux où le courant est trop fort, pour deux raisons. Les premiers stades de

développement des dreissènes est planctonique (stade véligère), le courant fort entraîne alors systématiquement une dérive des organismes vers l'aval avant que les individus aient eu l'occasion de se fixer. D'autre part, le courant peut entraîner un arrachement du byssus chez les adultes. Les milieux de tête de bassin sont également souvent peu minéralisés, ce qui constitue un frein dans la constitution de la coquille. Enfin, le transport fluvial est identifié comme la modalité principale de dispersion de ces espèces.

Microhabitat

D. polymorpha et *D. r. bugensis* vivent fixés sur des substrats durs, naturels ou artificiels. On les trouve préférentiellement sous les rochers, mais également sur les racines, les cordes, les portes d'écluses ou sous les coques des bateaux. Elles peuvent se distribuer dans toute la colonne d'eau, avec a priori une préférence de *D. r. bugensis* pour les milieux plus profonds. Contrairement aux moules marines, les dreissènes ne se trouvent pas sur la face supérieure des rochers, mais sur leur face inférieure, à l'abri de la lumière. Il est donc nécessaire d'explorer avec la main sous ces rochers et dans les anfractuosités pour détecter leur présence.



P. Wagner



M. Potet



Potet, Wagner

Densités

Extrêmement variables, elles peuvent être de quelques individus à plusieurs centaines par m². Les densités de *D. polymorpha* ont énormément chuté, dans tous les hydrosystèmes colonisés, après la canicule de 2003.

Suite à l'arrivée de *D. r. bugensis*, la première impression fut que la nouvelle arrivante allait détrôner *D. polymorpha*. Après 10 ans de suivi, il s'avère que la dynamique est beaucoup plus complexe. Il n'est pour l'heure pas possible de dégager de tendance nettes, les dynamiques étant très contrastées selon les sites.

FICHE 2 : IDENTIFICATION DES DREISSENES

Dreissena polymorpha et *Dreissena rostriformis bugensis* sont des espèces très proches, toutes deux originaires de la région Ponto-Caspienne. Ce sont des bivalves, leur corps est donc enfermé dans une coquille à deux valves sécrétée par le manteau. La coquille de *D. polymorpha* est aplatie sur la face ventrale, avec une légère courbure concave, et présente un angle ventro-latéral aigu. La face ventrale de *D. r. bugensis* est plutôt convexe et son angle ventro-latéral arrondi (Figure 1). L'ouverture permettant l'extension du byssus est plus antérieure chez *D. r. bugensis*.

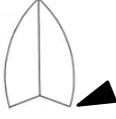
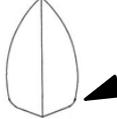
	<i>D. polymorpha</i>	<i>D. r. bugensis</i>
Vue de derrière	 <p>Côté ventral concave. Angle ventro-latéral caréné (flèche).</p>	 <p>Côté ventral convexe. Angle ventro-latéral arrondi (flèche).</p>
Mode de vie épifaunal		
Vue des plaques myophores		

Figure 1 : Caractéristiques morphologiques de *D. polymorpha* (à gauche) et *D. r. bugensis* (à droite)

Comme le montre la Figure 2, il existe une forte variabilité morphologique inter et intra-spécifique. Il n'existerait pas une multitude d'espèces de dreissenés, mais simplement une forte variabilité phénotypique au sein de ce genre. Cette variabilité morphologique entre les espèces et entre les populations pourrait s'expliquer par le mode de vie épifaunal et fixé des dreissenés, et par l'influence du courant, de la profondeur et de la salinité sur le morphotype.

De nombreuses études se sont penchées sur ces différences morphologiques entre les deux espèces. Les ratios hauteur/longueur et hauteur/largeur sont plus faibles et le ratio largeur/longueur est plus élevé chez *D. polymorpha*. La variabilité morphologique est plus importante chez *D. r. bugensis* et la croissance en largeur est plus rapide que la croissance en hauteur.



Figure 2 : Différents morphotypes de *D. polymorpha* (en haut) et *D. r. bugensis* (en bas) observés lors des campagnes de prélèvements

L'identification est délicate pour un œil non exercé. Elle peut se baser sur des critères morphologiques ou moléculaires. L'identification sur la seule base de la morphologie externe est assez controversée, et l'utilisation de marqueurs génétiques reste la seule méthode fiable à 100%. Toutefois, lors de la convention BIOMICS, une double identification a été systématiquement réalisée, et nous a permis d'établir un taux d'erreur par identification morphologique inférieur à 5% (et nul dans la plupart des populations).

Référents pour l'identification morphologique :

Simon Devin, LIEC – UMR 7360 Université de Lorraine / CNRS (simon.devin@univ-lorraine.fr)

Sandrine Pain-Devin , LIEC – UMR 7360 Université de Lorraine / CNRS (sandrine.devin@univ-lorraine.fr)

Référent pour l'identification moléculaire :

Elise David, SEBIO, UMR-I 02 Université Reims-Champagne-Ardennes / Université Le Havre / INERIS (elise.david@univ-reims.fr)

Outils et Techniques de Prélèvement

Pour éviter d'endommager les tissus, les organismes sont prélevés à même le substrat en sectionnant leur byssus à l'aide d'un scalpel. Les individus supposés juvéniles (< 10 mm de longueur) ne sont pas prélevés.

Il est recommandé de disséquer les organismes sur place pour éviter une modification des réponses biologiques lié à un transport trop long. Toutefois, si les conditions climatiques ne permettent pas de mettre à stabuler les organismes dans des gammes de températures similaires à celle de leur milieu de prélèvement (en période de canicule par exemple), il est recommandé de procéder à cette étape au laboratoire.

Une fois disséqué, les tissus sont placés dans des cryotubes et congelés dans de l'azote liquide avant d'être ramenés au laboratoire et stockés à -80°C. (Figure 1).



Figure 1 : Echantillonnage sur le terrain

Anatomie

Au niveau interne (Figure), les muscles adducteurs antérieur et postérieur, permettent la fermeture des valves. Le ligament, situé du côté antéro-dorsal, forme une charnière et permet de les ouvrir. Le corps est enveloppé dans le manteau, un fin tissu constitué de deux lobes. Le manteau s'ouvre en deux endroits ; le premier laisse passer les siphons inhalant et exhalant. Une autre ouverture dans le manteau permet l'extension du pied et du byssus. Les branchies (1 paire de chaque côté) se trouvent entre le pied et le manteau. La masse viscérale abrite le système digestif, le système rénal ainsi que le cœur et les gonades. La bouche forme un orifice entouré d'une paire de palpes labiaux. Elle s'ouvre sur un court œsophage qui aboutit à un estomac, où se situe le stylet cristallin, un organe gélatineux qui sécrète les enzymes digestives. La nourriture passe ensuite dans la glande digestive. Au niveau ventral se trouve le pied, qui permet aux bivalves de se déplacer et qui abrite la glande du byssus.

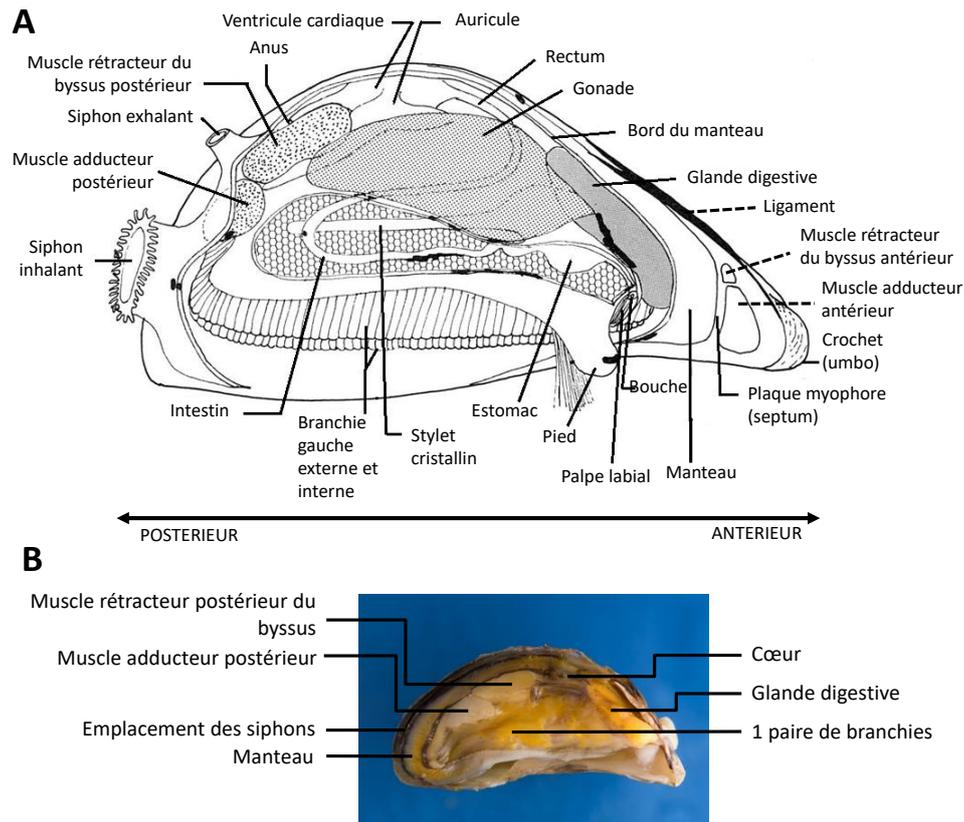


Figure 2 : Schéma (A) et photographie (B, crédit photo : D. Coacolo) montrant la localisation des principaux organes internes de *D. polymorpha* (d'après Claudi et Mackie, 1994)

Organes Cibles et Dissection

L'organe à disséquer va dépendre de l'objectif de l'étude. Seule la pratique permet de maîtriser cette étape du processus. **Attention, pour les approches biomarqueurs, il est essentiel d'éliminer au maximum le tissu n'appartenant pas à l'organe, pour éviter une dilution du signal biologique.**

Pour une approche ciblée sur la bioaccumulation de contaminants dans les organismes, l'individu dans sa totalité sera généralement utilisé, notamment pour obtenir une masse de tissu suffisante. Dans ce cas, il suffit de détacher les tissus mous de la coquille.

Pour des approches en écotoxicologie, 2 organes sont majoritairement ciblés, la glande digestive ou les branchies. Les branchies sont en effet le premier organe exposé au milieu extérieur, leur rôle dans la prise alimentaire et dans la respiration en fait un organe d'intérêt. Les dysfonctionnements qui s'y produisent sont en effets les plus susceptibles de se répercuter sur l'état de santé global de l'organisme. La glande digestive étant le siège du métabolisme, elle revêt également un grand intérêt, pour les mêmes raisons que les branchies.

Pour étudier le cycle biologique des organismes (maturité sexuelle, émission des gamètes), la gonade sera prélevée pour être par la suite analysée à l'aide de coupes histologiques en vue de l'élaboration de l'indice gonadique.

Qu'est-ce que l'Indice de Condition

L'indice de condition (IC) est un bon indicateur d'état de santé global des organismes ; chez les bivalves, il illustre le taux de remplissage de la coquille. La diminution de l'IC est principalement reliée à une perte de masse, qui peut être due à une perte de poids suite à la libération des gamètes ou à une croissance plus faible (réallocation énergétique pour lutter contre un stress toxique). Il donne ainsi une idée du statut nutritionnel et du stress subi par les organismes. Un IC élevé est en général associé à un meilleur état des individus, mais on peut également trouver un meilleur IC pour les individus de *D. polymorpha* vivant sur des sites pollués, car il y a plus de nourriture disponible. Cela met en évidence, à cette échelle aussi, la difficulté d'établir un lien direct entre contamination et effet, du fait de la multitude d'interactions, directes et indirectes, ayant lieu au sein d'un écosystème.

Calcul de l'Indice de Condition

L'indice de condition (IC) est calculé après avoir mesuré la longueur, la largeur et la hauteur (en mm, Figure 1) de chaque individu avec un pied à coulisse électronique (précision 0.01mm) et pesé le poids frais de ses tissus mous (sans le byssus, en mg), selon la formule suivante :

$$IC \text{ (mg.mm}^{-3}\text{)} = \frac{\text{poids frais}}{\text{longueur} * \text{largeur} * \text{hauteur}}$$

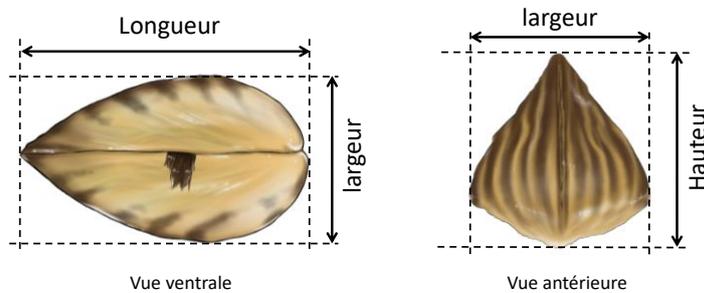


Figure 1 : Mesures pour le calcul de l'indice de condition (© Florian Lamousse)

Interprétation

Comme expliqué précédemment, l'interprétation de tout paramètre biologique doit être réalisée en prenant en compte le contexte. Il est notamment essentiel de positionner la période de la mesure dans le temps, par rapport aux cycles reproducteur et saisonnier notamment. L'IC permet, au sein d'une même population, de détecter les individus en plus ou moins bonne santé. Dans une approche comparative entre site, l'interprétation doit aussi inclure les variables environnementales liées à la trophie. **L'Indice de Condition doit être mesuré sur 10 individus par site minimum.**

Rôle de la filtration

Les dreissènes sont des bivalves suspensivores : l'eau entre par le siphon inhalant et l'action des cils branchiaux crée un courant à l'intérieur de la cavité mantellaire. En plus de faire circuler l'eau, les cils permettent d'en retirer les particules solides (phytoplancton, bactéries, débris organiques fins). Les particules destinées à être ingérées sont alors redirigées vers la bouche ; les autres sont enrobées dans du mucus sécrété par les cellules branchiales et rejetées sous forme de pseudofécès par le siphon inhalant. En plus de la récupération de la matière particulaire, les branchies sont également le siège des échanges gazeux. *D. polymorpha* peut filtrer entre 10 et 100 mL/individu/heure.

Chez les dreissènes, l'activité de filtration est couramment utilisée comme marqueur d'état de santé individuel. La théorie associe une baisse de cette activité comme un marqueur de stress.

Dispositif de mesure

Pour la mesure du taux de filtration, les moules sont placées individuellement dans 50 mL d'une solution de rouge neutre à 5 mg.L⁻¹, dans le noir. Les siphons sont orientés vers le centre, pour éviter leur obstruction. Après 2 h, les organismes sont retirés et la solution de rouge neutre est acidifiée à pH 5 avec de l'HCl à 37%, puis agitée (Figure 1).



Figure 12 : Différentes étapes de la mesure de l'activité de filtration

L'absorbance est lue à 530 nm et la concentration en rouge neutre est calculée grâce à une courbe d'étalonnage. Le taux de filtration (f) est ensuite calculé d'après la formule de Coughlan (1969) :

$$f \text{ (mL.moule}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) = \left(\frac{V}{n * t} \right) * \log \left(\frac{C_0}{C_t} \right)$$

Avec V le volume de solution de rouge neutre, n le nombre d'individus mis dans la solution, t le temps (en h) et C_0 et C_t les concentrations initiale et finale en rouge neutre.

Le taux de filtration doit être mesuré sur 6 individus par site minimum.

Sur chaque glande digestive, une batterie de 13 biomarqueurs peut être mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre automatisé (Konélab 20XTi®, ThermoScientific), qui réalise le mélange des échantillons et des réactifs, et effectue les lectures d'absorbance (Figure 131). Cette méthodologie de dosage développée au sein du LIEC permet d'obtenir ces 13 valeurs sur un seul organisme, permettant donc de décrire de façon fine les relations à l'échelle individuelle entre l'ensemble de ces réponses, et de pouvoir observer la variabilité inter-individuelle.

Les biomarqueurs doivent être mesurés sur 10 individus par site minimum.

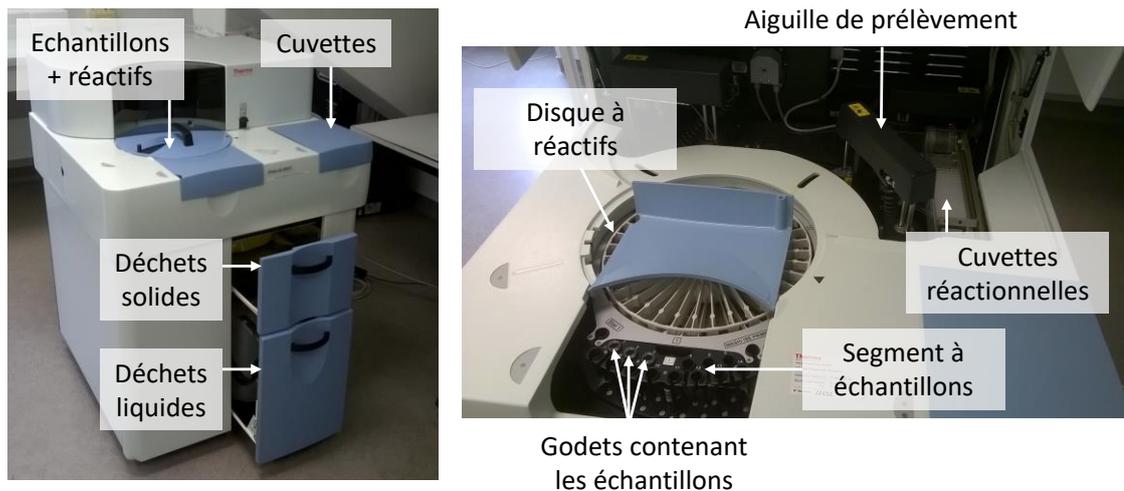


Figure 13 : Spectrophotomètre automatisé Konélab 20XTi

L'ensemble de ces mesures peuvent également être réalisées à la main, mais nécessiterait une bien plus grande quantité de matériel biologique (10 fois plus d'organismes environ pour chaque site étudié), et également bien plus de temps. Notre protocole actuel nous permet de mesurer la batterie complète chez 20 individus en une journée (soit 2 sites).

Contacts

L'accès à la plate-forme LIEC de mesure de biomarqueurs se fait soit par le biais d'une convention de recherche (liec-dir@univ-lorraine.fr), soit via notre pôle de transfert ImpactE pour de la prestation de service (<http://impacte.univ-lorraine.fr/>)

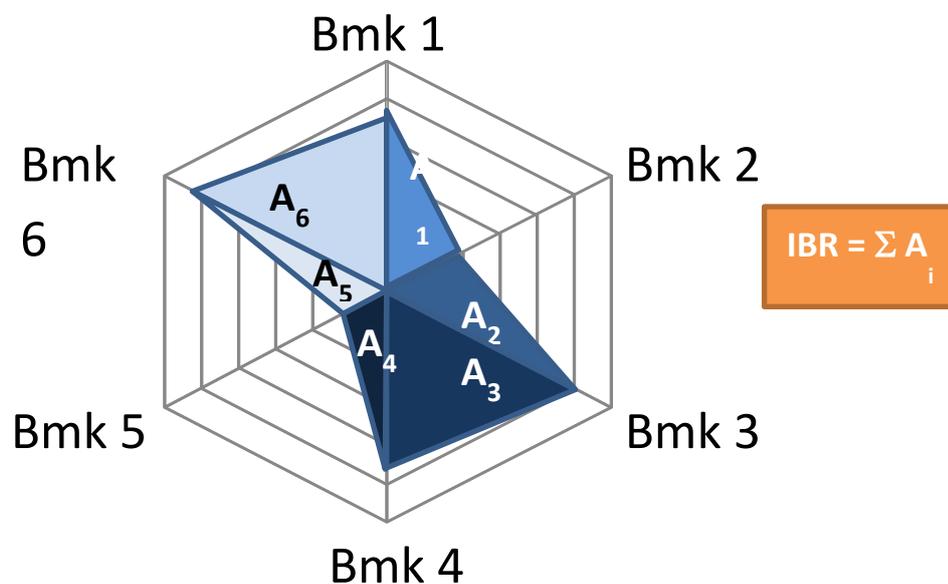
Définition

L'indice de réponse aux biomarqueurs intégrés (Integrated Biomarker Response - IBR) est un outil utile pour l'évaluation des risques écologiques afin d'étudier les effets d'exposition aux contaminants chimiques, et de caractériser les réponses aux stress environnementaux d'une manière plus générale. Le protocole de calcul, décrit ci-dessous, est désormais complètement automatisé à l'aide d'une interface web R-Shiny : <https://shiny.otelo.univ-lorraine.fr/calibri/R/>

Procédure

Le calcul est divisé en quatre étapes majeures :

- La standardisation de la valeur moyenne de chaque biomarqueur
- La multiplication de chaque valeur standardisée par le coefficient d'activation 1 ou d'inhibition -1 en fonction de la réponse théorique de la métrique à un stress.
- La projection sur un graphique radar de la valeur normalisée S ($S = Z + |Min|$)
- Le calcul de l'aire totale telle que représentée sur le graphique suivant :



Intérêt d'une approche indicielle

Les approches indicielles sont plébiscitées pour l'application en routine d'une démarche de biosurveillance à destination des gestionnaires. Elles permettent en effet d'obtenir un score, pour un milieu ou une population, facilement interprétable. Toutefois, cela nécessite d'avoir mis au point préalablement une grille d'interprétation fiable et universelle.

Les approches multivariées sont plus robustes, car elles permettent d'intégrer une grande diversité de paramètres, de voies métaboliques et de types d'effets biologiques. Cependant, il devient alors

difficile de "lire" l'ensemble des résultats. Ces approches indicielles permettent alors d'agréger des informations multiples au sein d'une seule métrique.

Interprétation

Il faut garder à l'esprit que l'IBR, comme l'indique son nom, n'est "qu'un" indice, dont la fonction est de visualiser et d'intégrer les différentes réponses biologiques qui ont été mesurées. Son interprétation est donc totalement dépendante de ces réponses biologiques et de leur signification intrinsèque. Son interprétation absolue est également compliquée, du fait de la difficulté de donner un sens biologique à la valeur brute d'un biomarqueur *ex nihilo*.

Si le calcul de l'IBR est basé sur des biomarqueurs d'exposition et/ou de défense, une augmentation de la valeur de l'indice met en évidence une augmentation des niveaux de contaminants auxquels sont exposés les organismes.

Si l'IBR est basé uniquement sur des biomarqueurs de dommages, une valeur croissante peut simplement être interprétée comme une augmentation globale des niveaux de dommages dans une condition donnée, donc à un niveau de stress qui devient trop élevé pour les organismes et qui dépasse les capacités des systèmes de défense.

Enfin, si l'IBR est basé sur un mélange des deux types de biomarqueurs (exposition/défense et dommages), l'interprétation de l'indice devient plus compliquée. Un examen approfondi des valeurs normalisées devient alors indispensable pour identifier et comprendre les mécanismes sous-jacents aux variations de l'IBR.