

8 DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le but de ce travail a été d'étudier les relations entre l'exposition de *F. candida* à différentes concentrations de dinosèbe et les réponses observées au niveau des réserves énergétiques (lipides et sucres), afin de permettre de détecter des effets du polluant d'une manière plus précoce que les tests de reproduction classiquement effectués. Pour ce faire, on a effectué premièrement un test de reproduction selon le protocole ISO, afin de déterminer les concentrations de dinosèbe ayant un impact sur la reproduction des collemboles.

Puis ces mêmes concentrations ont été utilisées pour étudier l'effet du dinosèbe sur l'évolution au cours du temps des teneurs en lipides et en sucres de *F. candida*.

A partir de ces différentes observations, on peut estimer quel est le marqueur le plus sensible et le plus rapide et on peut essayer de comprendre les relations entre les différents effets observés sur la reproduction, la mortalité et les réserves énergétiques.

8.1 Les réserves énergétiques chez *F. candida*

La figure 8.1a représente la teneur moyenne en mono-et oligo-saccharides ainsi qu'en lipides par collembole (des contrôles).

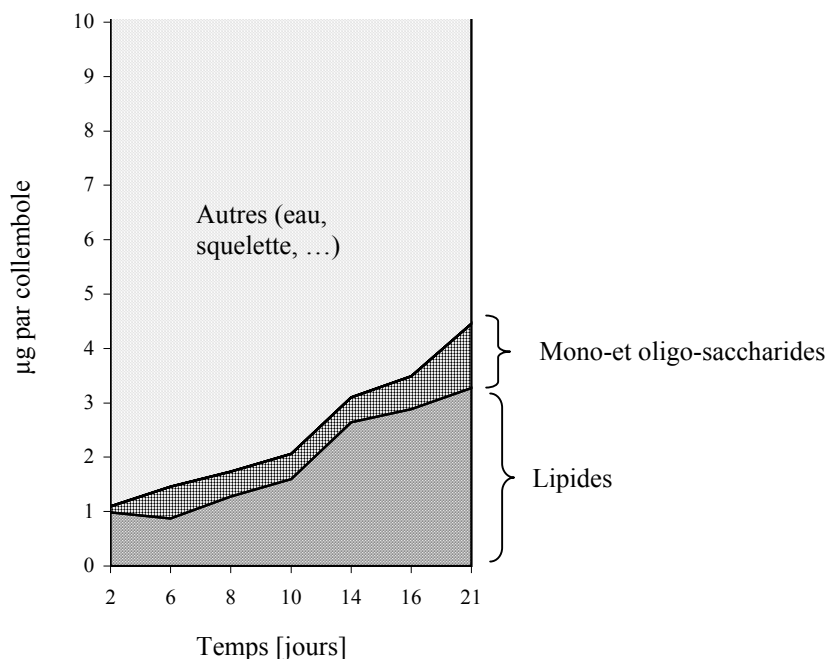


Figure 8.1a. : représentation de la teneur moyenne en lipides et mono-et oligo-saccharides par collembole

On constate sur ce graphique que la quantité de lipides est bien plus importante que celle des sucres. Ainsi, il semble qu'au niveau des dosages de laboratoire, les lipides représentent un biomarqueur plus pratique que les sucres lorsque l'on travaille sur des individus en entier et de très petite taille tel que *F. candida*. Cependant, la relation entre la teneur en sucres et le polluant n'ayant pas été mise en évidence, il n'est pas à exclure que ceux-ci puissent être utilisés comme biomarqueurs de toxicité. Mais pour cela, il importe de mieux comprendre le métabolisme des sucres chez les insectes en effectuant par exemple d'autres dosages au cours du temps.

8.2 Relations dinosèbe-organisme

8.2.1 Importance de la voie d'exposition

Il apparaît très nettement dans les résultats obtenus que la prise en compte de la voie d'exposition joue un rôle primordial lors de l'évaluation de la toxicité d'un produit chimique. En effet, le dinosèbe dans le substrat a 120 fois plus d'effet sur *F. candida* que lorsque c'est la levure qui est contaminée.

Il serait ainsi intéressant de pouvoir déterminer quelle part du polluant entre véritablement dans l'organisme lorsque c'est la levure ou le substrat qui est contaminé. En effet, on ne peut pas définir par ce type de test si *F. candida* ingère véritablement la levure ou s'il l'évite. De ce fait, on ne peut pas dire que cette espèce est plus sensible au dinosèbe par ingestion que par contact, cependant, pour les raisons déjà citées (point 5B), on peut penser que la voie d'exposition par contact est plus toxique.

8.2.2 Phénomène de stimulation à 6 jours

Les collemboles exposés aux concentrations entre 15 et 30µg/g de dinosèbe ont une augmentation de leur poids et de leurs réserves de lipides après 6 jours

Pour expliquer cette observation, les hypothèses suivantes ont tout d'abord été proposées puis rejetées pour les raisons suivantes :

- « Effet d'une sélection », c'est-à-dire que les plus faibles meurent les premiers. Selon Staempfli (2001), la mortalité et la longueur (taille) des individus sont indépendantes. Il semble donc que ce ne soit pas les plus petits qui meurent en premier.
- La diminution du nombre d'individus par pot augmente la croissance : Une faible corrélation est observée entre le poids d'un individu et le nombre d'individus par pots, mais cette relation est inverse: Le poids d'un individu augmente avec l'augmentation du nombre d'individus par pot (annexe 6.1.1.). Cette différence de poids observée dans les expériences n'est donc pas due à la mortalité plus élevée des individus exposés.

Ces observations reflètent donc certainement une stimulation de la croissance des individus exposés pendant 6 jours à une concentration de dinosèbe entre 15 et 30µg/g.

Ces résultats vont dans le sens des observations de Staempfli (2001) qui rapporte une stimulation de la croissance à des concentrations de 20 et 25µg/g de dinosèbe dans les 8 premiers jours d'exposition (par observation de la taille des individus).

En outre, la reproduction dépend de la taille des individus (Staempfli, 2001), c'est-à-dire que les individus les moins gros ont une reproduction moins efficace. Cette stimulation de la croissance aurait ainsi pour but d'avancer la reproduction.

8.2.3 Phénomène d'hormesis à 10µg/g

Dans de nombreux cas, des doses sub-létales de pesticides ont des effets favorables sur la physiologie et/ou le comportement des arthropodes. Ce type de phénomène se nomme hormesis ou hormoligosis (du grec hormo=exciter, et oligo=petites quantités) et a été décrit par Luckey (1968) à partir d'observations sur un criquet, *Acheta domesticus*, pour lequel des doses sub-létales de plusieurs insecticides augmentent le taux de croissance.

Dans ce travail, un phénomène de ce type a été observé sur le contenu en lipides et le poids des collemboles exposés à 10µg/g pendant 21 jours. En outre, il semble qu'il y ait une stimulation de la reproduction lors de la contamination de la levure du test de reproduction, aux concentrations de 300 et 450µg/g.

Des phénomènes d'hormesis ont déjà été décrits chez *F. candida*. Par exemple, une concentration faible de Zinc stimule la reproduction de *F. candida* (Smit et Van Gestel, 1998). Néanmoins, cette observation demande à être vérifiée par d'autres tests, concernant par exemple la taille ou le poids des individus, au cours du temps et pour plusieurs concentrations de dinosèbe inférieures et supérieures à 10µg/g.

8.2.4 Phénomène d'épuisement à 21 jours

On a constaté une diminution du poids et des lipides des collemboles exposés au dinosèbe après 20 jours environ par rapport au contrôle. Cette diminution du poids et des lipides peut être l'expression de l'épuisement des collemboles, parce qu'ils ont subi l'effet du polluant et ont investi une plus grande part d'énergie dans la reproduction et/ou dans les processus de détoxification. En effet, Bengtsson et al. (1983, 1985) ont étudié la détoxification des métaux sur un collembole, *Onychiurus armatus*: après quelques semaines, ce collembole achève la détoxification par des mues plus fréquentes de la paroi interne de l'estomac, ce qui réduit son taux de croissance.

Il apparaît donc que tous ces mécanismes de détoxification mis en place pour diminuer ou éviter les dommages causés par le dinosèbe coûtent en énergie et en ressources qui ne sont alors plus disponibles pour la production. Il s'en suit une diminution du taux de production pouvant mener à la mort si les processus de détoxification de l'animal ne sont pas assez efficaces.

8.3 Comparaison des NOEC, LOEC, EC₂₀ et EC₅₀ pour les deux tests effectués

Sur le tableau 8.3a. sont regroupées les différentes valeurs de NOEC, LOEC et EC_x obtenues lors du test de reproduction et des tests sur les réserves énergétiques.

Tests effectués	Voie d'exposition	Paramètres observés	NOEC [µg/g]	LOEC [µg/g]	EC ₂₀ [µg/g]	EC ₅₀ [µg/g]
Test de reproduction	Levure	Mortalité des adultes	1200	>1200	>1200	>1200
		Nombre de juvéniles	850	1200	1014	2600?
	Substrat	Mortalité des adultes	<10	10	5,4	8,7
		Nombre de juvéniles	<10	10	8,9	9,7
Tests sur les réserves énergétiques	Substrat tassé	Mortalité (EC _x à 21 jours)	10	15	25	56 ?
		Poids	<10	10	24	63 ?
		Lipides	<10	10	20	-
		Sucres	30	-	-	-

Figure 8.3a. : Valeurs remarquables obtenues pour le test de reproduction et les tests sur les réserves énergétiques, en µg/g PS de dinosèbe. Les points d'interrogation concernent les valeurs extrapolées.

8.3.1 Détermination du paramètre présentant la réponse la plus sensible et la plus rapide

D'après le tableau 8.3a, la mortalité et la reproduction ont les valeurs de EC_x les plus faibles. Pour la mortalité des adultes et la reproduction, les LC_{50} et EC_{50} ont des intervalles de confiance chevauchants. De ce fait, on ne peut pas certifier que la mortalité soit un paramètre plus sensible que la reproduction. Le dinosèbe a un effet abrupt sur *F. candida*. Ceci peut être expliqué par le fait que le dinosèbe est un toxique non spécifique. Il agit tout d'abord comme découpleur mais plus la concentration augmente, plus le nombre de processus affectés devient important (Kaufman, 1975).

Cependant, si une stimulation est considérée comme un biomarqueur, le poids et la quantité de lipides sont alors des indices de stress dès 6 jours et à des concentrations de polluant dès 15µg/g. Cette réponse est donc plus rapide que les réponses obtenues à partir des tests classiques de reproduction ou de mortalité qui demandent 28 jours. Cependant, si on tient compte uniquement d'un effet défavorable sur l'insecte, alors on peut dire que les réponses des lipides, du poids, de la reproduction et de la mortalité sont toutes observées dans la même période de temps, c'est-à-dire entre 20 et 28 jours environ.

8.4 Conclusion et perspectives

La réponse due à l'exposition au produit chimique doit pouvoir être distinguée des sources naturelles de variabilité entre individus, afin que les biomarqueurs soient utiles pour l'évaluation de l'exposition. Cependant, cette distinction est peu perceptible, comme on a pu le voir lors du dosage des sucres. En effet, les résultats expérimentaux peuvent varier considérablement selon les différences dans l'étape de développement, l'âge adulte ou l'état nutritionnel de l'insecte (Beenackers, 1981; Warburg et Yuval, 1997). Tous ces effets sont susceptibles de masquer un éventuel effet du polluant sur les réserves énergétiques.

En outre, un seul biomarqueur n'est pas suffisant dans l'analyse du stress environnemental sur un organisme. En effet, certains biomarqueurs peuvent être plus ou moins sensibles selon les spécificités d'un polluant, et les résultats vont donc être différents. Ainsi, plusieurs biomarqueurs doivent être utilisés pour l'évaluation globale d'un effet.

La validation des biomarqueurs comme outils permettant d'estimer les risques d'un polluant demande encore beaucoup de recherche sur leur variabilité inter et intra espèces ainsi qu'au cours du temps, leur relation avec les différents stress environnementaux et leur lien avec le polluant.

Concernant *F. candida* comme organisme test, sa petite taille s'est révélée être un inconvénient pour l'étude des réserves énergétiques. En effet, l'insecte en entier a dû être utilisé pour les extractions de lipides et de sucres, ce qui diminue la sensibilité des dosages, puisque généralement, lors des extractions, c'est une partie de l'insecte (par exemple un organe ou l'hémolymphe dans le cas des sucres) qui est utilisée plutôt que l'insecte entier.

En outre, les individus âgés de 10 jours étant de très petite taille, leur dénombrement pour le lancement des différents tests est relativement fastidieux.

Cependant, son avantage le plus évident est son élevage facile et la parthénogénicité. En effet, le fait que la variation génétique et donc l'adaptation génétique ne doivent pas être prises en compte lors de l'analyse des résultats est un avantage étant donné tous les paramètres déjà intrinsèques aux tests. En outre, c'est un insecte représentatif du milieu terrestre et il existe un protocole ISO pour cette espèce.

Les différentes observations effectuées sur cette espèce, quant à la variabilité des réponses, donne un aperçu de la complexité et des difficultés que les scientifiques pourront rencontrer lors de l'utilisation de ce type d'outils sur le terrain, lors de l'évaluation de la toxicité d'un sol contaminé par exemple.