Document generated on 10/12/2024 4:31 a.m.

Revue des sciences de l'eau
Journal of Water Science

Variation de la charge énergétique en adenylate (CEA) d'*Asellus Aquaticus L.* (Crustacé, Isopode) après une contamination pendant 48 h. par du lindane

Adenosine Energy Charge (AEC) for *Asellus Aquaticus L.* (Crustacea, Isopoda) after Lindane Contamination during a Period of 48 h

S. Le Bras

Volume 8, Number 4, 1995

URI: https://id.erudit.org/iderudit/705235ar
DOI: https://doi.org/10.7202/705235ar

See table of contents

Publisher(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

ISSN

0992-7158 (print)
1718-8598 (digital)

Explore this journal

Cite this article

Le Bras, S. (1995). Variation de la charge énergétique en adenylate (CEA) d'*Asellus Aquaticus L.* (Crustacé, Isopode) après une contamination pendant 48 h. par du lindane. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, *8*(4), 493–503. https://doi.org/10.7202/705235ar

Article abstract

Context

The objective of this study was to evaluate the applicability of adenosine energy charge (AEC) as an indicator of sublethal pollutant contamination for an aquatic invertebrate *Asellus aquaticus L.* (Crustacea, Isopoda). This study was carried out under laboratory conditions.

Asellus collected in natural ponds were acclimated in the laboratory during a minimum period of 15 days. Individuals between 3 and 7 mg in weight were selected and kept at 15°C for 24 hours before contamination with lindane. Contamination was performed in glass containers in 250 ml of water, and 1 ml of lindane acetone solution. Concentrations of 2, 4, 8 and 10 mg/l were tested. The experimental period was 48 hours. After cold-induced anesthesia, *Asellus* individuals were rapidly dried and then dipped into liquid nitrogen and ground to a powder at - 80°C. Extraction of adenylates was performed with dimethyl sulfoxide (DMSO). ADP and AMP were converted to ATP with pyruvate kinase and phospho-enol-pyruvate for ADP; pyruvate kinase, myokinase and phospho- enol-pyruvate for AMP. The concentrations of ATP, ADP and AMP were measured using a bioluminescence technique with a luminometer (LKB Wallac 1250). AEC, defined as the ratio between (ATP + 1/2 ADP) and (ATP + ADP + AMP) concentration, was then calculated.

AEC values were 0.77, 0.79, 0.69, 0.65 and 0.72 respectively for control animals and for *Asellus* specimens exposed to 2, 4, 8 and 10 µg/l lindane. According to IANOVICI (1979), AEC values for *Asellus* contaminated with 4, 8 or 10 µg/l of lindane were representative of the perturbation of environmental conditions. Nevertheless, these values show that recovery is possible if environmental conditions return to normal. However statistically significant differences (ANOVA, p=0.05) were noted only between control and 4 or 8 µg/l lindane contaminated *Asellus*.

ATP concentrations were 0.1451, 0.1876, 0.1821, 0.2325 and 0.1570 µmol/mg respectively for control, 2, 4, 8 and 10 µg/l of lindane. No significant difference was noted between control and contamination, except for 8 mg/l of lindane (p=0.01). ADP concentrations were 0.0698, 0.0253, 0.1200, 0.2121 and 0.0679 mmol/mg respectively for control, 2, 4, 8 et 10 mg/l of lindane. Only the ADP concentration for 8 mg/l of lindane was significant of ADP accumulation (ANOVA, p=0.05). AMP concentrations were 0.0193, 0.0272, 0.0470, 0.1182 and 0.0416 mmol/mg respectively for control, 2, 4, 8 and 10 mg/l of lindane. The increase of AMP concentration for 8 mg/l of lindane was significant (risk 0.05). Variations of the adenylate pool (ATP + ADP + AMP) were 0.2342, 0.2401, 0.3491, 0.5628 and 0.2665 mmol/mg respectively for control, 2, 4, 8 et 10 mg/l of lindane. The increase of the adenylate pool concentration for 4 and 8 mg/l of lindane was significant (p=0.05).

It appeared that the decrease of AEC at lindane concentrations of 4 and 8 mg/l was indicative of the increase of the energetic cost and the metabolism, resulting from the hyperexcitability characteristically induced by this category of contaminant. At 10 mg/l of lindane, the AEC value was approximately equal to that of the control exposure. It appeared correlated to the decrease in metabolic activity and accompanying reduction energy expenditure in response to the paralytic phase of intoxication.

Finally under laboratory conditions AEC values appeared to be indicative of sublethal contamination, for this species and this toxicant. However for acute exposures it does not appear that AEC is a very good indicator.

Tous droits réservés © Revue des sciences de l'eau, 1995

This document is protected by copyright law. Use of the services of Érudit (including reproduction) is subject to its terms and conditions, which can be viewed online.

https://apropos.erudit.org/en/users/policy-on-use/

érudit

This article is disseminated and preserved by Érudit.

Érudit is a non-profit inter-university consortium of the Université de Montréal, Université Laval, and the Université du Québec à Montréal. Its mission is to promote and disseminate research.

https://www.erudit.org/en/

REVUE DES SCIENCES DE L'EAU, Rev. Sci. Eau 8(1995) 493-503

Variation de la charge énergétique en adénylate (CEA) d'*Asellus aquaticus L.* (crustacé, isopode) après une contamination pendant 48 h. par du lindane

Adenosine energy charge (AEC) for *Asellus aquaticus L.* (crustacea, isopoda) after lindane contamination during a period of 48 h.

S. LE BRAS[1]

Reçu le 23 octobre 1994, accepté le 15 octobre 1995*.

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the applicability of adenosine energy charge (AEC) as an indicator of sublethal pollutant contamination for an aquatic invertebrate *Asellus aquaticus L.* (Crustacea, Isopoda). This study was carried out under laboratory conditions.

Asellus collected in natural ponds were acclimated in the laboratory during a minimum period of 15 days. Individuals between 3 and 7 mg in weight were selected and kept at 15°C for 24 hours before contamination with lindane. Contamination was performed in glass containers in 250 ml of water, and 1 ml of lindane acetone solution. Concentrations of 2, 4, 8 and 10 µg/l were tested. The experimental period was 48 hours. After cold-induced anesthesia, *Asellus* individuals were rapidly dried and then dipped into liquid nitrogen and ground to a powder at – 80°C. Extraction of adenylates was performed with buffered dimethyl sulfoxide (DMSO). ADP and AMP were converted to ATP with pyruvate kinase and phospho-enol-pyruvate for ADP; pyruvate kinase, myokinase and phospho-enol-pyruvate for AMP. The concentrations of ATP, ADP and AMP were measured using a bioluminescence technique with a luminometer (LKB Wallac 1250). AEC, defined as the ratio between (ATP + 1/2 ADP) and (ATP + ADP + AMP) concentration, was then calculated.

AEC values were 0.77, 0.79, 0.69, 0.65 and 0.72 respectively for control animals and for *Asellus* specimens exposed to 2, 4, 8 and 10 µg/l lindane. According to IANOVICI (1979), AEC values for *Asellus* contaminated with 4, 8 or 10 µg/l of lindane were representative of the perturbation of environmental conditions. Nevertheless, these values show that recovery is possible if environmental conditions return to normal. However statistically significant differences (ANOVA, p = 0.05) were noted only between control and 4 or 8 µg/l lindane contaminated *Asellus*.

1. CNRS - URA 1492, Laboratoire d'écologie et de zoologie, bâtiment 442, Université de Paris-Sud, 91405 ORSAY Cedex, France

* Les commentaires seront reçus jusqu'au 15 juillet 1996.

ATP concentrations were 0.1451, 0.1876, 0.1821, 0.2325 and 0.1570 µmol/mg respectively for control, 2, 4, 8 and 10 µg/l of lindane. No significant difference was noted between control and contamination, except for 8 µg/l of lindane (p = 0.01). ADP concentrations were 0.0698, 0.0253, 0.1200, 0.2121 and 0.0679 µmol/mg respectively for control, 2, 4, 8 and 10 µg/l of lindane. Only the ADP concentration for 8 µg/l of lindane was significant of ADP accumulation (ANOVA, p = 0.05). AMP concentrations were 0.0193, 0.0272, 0.0470, 0.1182 and 0.0416 µmol/mg respectively for control, 2, 4, 8 and 10 µg/l of lindane. The increase of AMP concentration for 8 µg/l of lindane was significant (risk 0.05). Variations of the adenylate pool (ATP + ADP + AMP) were 0.2342, 0.2401, 0.3491, 0.5628 and 0.2665 µmol/mg respectively for control, 2, 4, 8 and 10 µg/l of lindane. The increase of the adenylate pool concentration for 4 and 8 µg/l of lindane was significant (p = 0.05).

It appeared that the decrease of AEC at lindane concentrations of 4 and 8 µg/l was indicative of the increase of the energetic cost and the metabolism, resulting from the hyperexcitability characteristically induced by this category of contaminant. At 10 µg/l of lindane, the AEC value was approximately equal to that of the control exposure. It appeared correlated to the decrease in metabolic activity and accompanying reduction energy expenditure in response to the paralytic phase of intoxication.

Finally under laboratory conditions AEC values appeared to be indicative of sublethal contamination, for this species and this toxicant. However for acute exposures it does not appear that AEC is a very good indicator.

Key-words : Asellus aquaticus, *Adenosine energy charge (AEC), ATP, ADP, AMP, lindane.*

RÉSUMÉ

La charge énergétique en adénylates (CEA) en tant qu'indicateur de pollution sublétale est envisagée pour un invertébré aquatique *Asellus aquaticus L.* (Crustacé, Isopode). Après contamination par du lindane pendant 48 heures aux concentrations de 2, 4, 8, ou 10µg/l, le dosage des différents adénylates (ATP, ADP, AMP) est réalisé par la méthode de bioluminescence. La CEA ((ATP) + 1/2 (ADP) / (ATP) + (ADP) + (AMP)) est calculée. Elle est comparée à l'échelle des valeurs établies par Ivanovici pour caractériser le degré de pollution d'un milieu. Sur cette base on peut dire que la CEA du témoin (0,77) et celles des organismes soumis à 2 µg/l de lindane (0,79) ne sont pas significatives d'une modification du milieu. Par contre celles observées chez les aselles contaminées par 4, 8 ou 10 µg/l de lindane, soit respectivement 0,69 ; 0,65 et 0,72 témoignent d'une perturbation du milieu et permettent de prévoir une récupération possible pour ces organismes lors d'un retour dans un milieu non pollué. Cependant nous notons que seules les valeurs observées pour 4 et 8 µg/l de lindane sont statistiquement différentes de la valeur témoin. Par ailleurs à 10 µg/l de lindane on observe une tendance à l'augmentation de la CEA qui est proche de celle du témoin.

La valeur de la CEA semble rendre compte de la perturbation physiologique consécutive à la phase d'hyperexcitabilité déclenchée par ce type d'insecticide ; par contre à la phase la plus avancée (paralysie) de l'intoxication, la CEA prend une valeur proche de celle du témoin.

Mots clés : Asellus aquaticus, *charge énergétique en adénylates (CEA), ATP, ADP, AMP, Lindane.*

1 – INTRODUCTION

La charge énergétique en adénylates (CEA) est définie comme l'énergie métabolique potentielle stockée par un organisme. Elle est relativement stable chez les organismes vivant en équilibre avec leur environnement. Par contre toute altération des conditions environnementales se traduit très rapidement par sa variation (IVANOVICI, 1979). Aussi a-t-elle été envisagée comme un moyen d'évaluation des réponses d'un organisme aux perturbations du milieu afin de détecter les effets sublétaux de polluants sur les organismes vivants.

En effet à l'examen des données expérimentales, des modifications de la CEA après l'action de divers agents polluants,ont été signalées chez différents groupes systématiques.

Parmi eux on peut citer des insecticides : le carbofuran (carbamate) et le fenvalerate (pyréthroïde de synthèse) qui ont provoqué une diminution significative de la CEA dans le tissu branchial d'un poisson *Lepomis macrochirus* au cours d'une intoxication en système de flux continu (HOHREITER *et al.*, 1991). Egalement un herbicide, le 2-4-5 T diminue la charge énergétique d'un gastéropode d'eau douce, *Potamopyrgus jenkini* après une contamination en laboratoire avec renouvellement du milieu à des concentrations de 5 mg/l (CHAISEMARTIN *et al.*, 1985).

Par contre les effets des métaux diffèrent selon le métal et (ou) l'espèce animale considérée. Alors que chez *Corbicula fluminea, Anodonta imbecilis* (mollusques), *Procambarus pubescens* et *Palaemonetes paludosus* (crustacés) (GIESY *et al.*, 1978) le cadmium provoque une diminution de la CEA pour des contaminations en flux continu, il est sans effet sur le homard *Homarus americanus* (HAYA *et al.*, 1980 et 1983) provenant de milieu contaminé par ce métal. De la même manière, le zinc ne provoquerait aucune perturbation chez ces mêmes espèces également dans des expériences en flux continu.

Les hydrocarbures seraient sans effet sur le crustacé *Cirolana borealis* (BAKKE *et al.*, 1979) après une contamination par 12,5 ou 125 ppm avec une exposition au toxique de 1 à 24 heures, alors qu'ils auraient provoqué la diminution de la CEA de *Pyrazus ebeninus* (mollusque) provenant de zones polluées (IVANOVICI, 1980).

Des contaminations réalisées avec des boues d'estuaires contenant des résidus de PCB, PAHs et métaux, principalement Cu et Cr ont provoqué une diminution de la CEA de *Mytilus edulis* (mollusque) (ZAROOGIAN *et al.*, 1989 b), tandis que celle de l'annélide *Nephtys incisa* a été accrue (ZAROOGIAN *et al.*, 1989 a).

Ainsi les observations mentionnées dans la littérature de par la diversité des modes de contamination, des toxiques et des espèces envisagées ne permettent pas de conclure à la pertinence ou non de l'usage de la CEA comme biomarqueur de pollution.

Aussi des recherches plus précises aussi bien en laboratoire que sur le terrain, avec des produits représentatifs de chaque groupe de polluants, sur

des espèces clés du fonctionnement d'un écosystème, semblent nécessaires pour définir les limites d'utilisation de cet index.

C'est dans cette optique que nous avons entrepris d'étudier la variation de la CEA d'un invertébré aquatique *Asellus aquaticus L.* en fonction du degré de son intoxication par du lindane, en conditions de laboratoire.

En effet *Asellus aquaticus L.* peut être considérée comme une espèce clé d'un système aquatique du fait de son niveau trophique (détritivore et source alimentaire de nombreux poissons), son biotope (à l'interphase eau-sédiment), son cycle de développement exclusivement aquatique et long (10 mois à 2 ans selon la latitude). De plus sa répartition géographique est très vaste.

Par ailleurs le lindane a été choisi parce qu'il est un des représentants les mieux connus du groupe des insecticides organochlorés.

De plus, les nombreux travaux concernant cette espèce et ce produit déjà réalisés dans le laboratoire, devraient permettre une meilleure analyse des résultats. En particulier ceux concernant la sensibilité de cette espèce en fonction des différents paramètres biotiques et abiotiques (LE BRAS, 1990), et la perturbation de son métabolisme respiratoire après contamination (LE BRAS, 1987).

2 – MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1 Matériel biologique

Asellus aquaticus L. provient de biotopes situés sur le campus universitaire d'Orsay. Cette espèce est maintenue au laboratoire dans des aquariums de 30 litres remplis pour moitié par de l'eau du biotope d'origine, pour moitié par de l'eau du réseau, vieillie et déchlorée par oxygénation permanente par des pompes de type Rena. L'alimentation des aselles est constituée par des feuilles d'érable, récoltées aux environs des biotopes et conservées au congélateur à – 20 °C. Les élevages sont réalisés avec une photopériode naturelle et à la température ambiante du laboratoire (17 à 20 °C).

2.2 Protocole expérimental

Les aselles prélevées dans les aquariums d'élevages sont pesées individuellement, seules les aselles dont le poids est compris entre 3 et 7 mg sont isolées. Ceci parce que la sensibilité de cet invertébré peut varier avec le poids (LE BRAS, 1990) et ce précisément lorsque la concentration en lindane dans le milieu est faible, c'est à dire dans les conditions de contamination sublétale que nous cherchons à déceler. Les aselles sont stockées à 15 °C pendant 24 heures de manière à ce que le métabolisme, perturbé par les différentes manipulations retrouve son niveau initial. En outre ce délai permet aussi l'adaptation de l'organisme à la température de l'intoxication.

L'intoxication par le lindane (produit pur à 99 %, Quinoléine) est réalisée selon un protocole identique à celui suivi dans les tests de toxicité (THYBAUD *et al.*, 1987), soit 10 individus pour 250 ml d'eau auxquels est rajouté 1 ml de solution acétonique de lindane de concentration telle que la concentration finale de départ soit de 2, 4, 8 ou 10 µg/l. D'après les travaux de THYBAUD (1987), il n'y aurait pas de dégradation du lindane pendant cette période de temps.

Trois réplicats sont réalisés pour chaque concentration et pour les témoins correspondants. Les caractéristiques physicochimiques de l'eau utilisée pour ces tests sont : pH = 8,2 ; dureté totale = 155 mg/l $CaCO_3$; nitrites = 0,055 mg/l ; nitrates = 3 mg/l ; chlorures = 73 mg NaCl.

Au bout de 48 heures les individus vivants sont récupérés (nous n'avons pas noté de mortalité significative chez les témoins) et répartis en trois lots identiques puis transférés pour une durée minimale de 1 heure dans une chambre froide à 5 °C dans des bacs contenant de la glace pilée, afin d'avoir, par anesthésie,une meilleure stabilité de la CEA

Les aselles sont ensuite prélevées une à une à la pince, épongées très rapidement sur du papier filtre, puis plongées dans de l'azote liquide. L'extraction est effectuée par le DMSO (diméthyl sulfoxide) et le tampon MOPS (acide 3-morpholino propane sulfonique 0,2 %, NaOH 0,03 %, $MgSO_4$ 0,006 %) selon la technique de JAKUBCZAK et LECLERC (1978 et 1980). Chaque lot est broyé dans un mortier lui même maintenu dans un bain d'azote liquide. Le broyat est ensuite récupéré dans le milieu d'extraction : soit 2 ml de DMSO (produit Merck) auquel on rajoute 8 ml de tampon MOPS. Les échantillons peuvent être conservés au congélateur à – 20 °C si le dosage des adénylates ne peut être effectué immédiatement.

2.3 Méthode de dosage

Les différents adénylates : adénosine triphosphate (ATP), adénosine diphosphate (ADP) et adénosine monophosphate (AMP) sont dosés par la méthode de bioluminecence. Celle-ci consiste à mesurer la quantité de lumière produite lors de la réaction enzymatique de la luciférine (catalysée par la luciférase) (1). La quantité de lumière émise est proportionnelle à la quantité d'ATP présent. Elle est mesurée à l'aide d'un luminomètre LKB Wallac 1250.

$$\text{ATP} + \text{LUCIFERINE} + O_2 \xrightarrow{\text{luciférase}} \text{AMP} + \text{PPi} + CO_2 + \text{LUMIERE} \qquad (1)$$

Le dosage de l'ADP et de l'AMP nécessite leur transformation préalable en ATP. Celle-ci est réalisée en présence de phospho-enol-pyruvate (PEP) et de pyruvate kinase (PK) pour l'ADP (réaction 2), de PEP, PK et myokinase (MK) pour l'AMP (réaction 3 puis 2).

$$\text{PEP} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{PK}} \text{PYRUVATE} + \text{ATP} \qquad (2)$$

$$\text{AMP} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{MK}} 2\ \text{ADP} \qquad (3)$$

Diagramme A Protocole du dosage des adénylates

Diagram A *Adenylate measurement procedure*

ATP	ATP + ADP	ATP + ADP + AMP
100 µl de réactif ATP (1)	100 µl de réactif ATP	100 µl de réactif ATP
400 µl de tampon Tris-EDTA (2)	400 µl de tampon Tris-EDTA	400 µl de tampon Tris-EDTA
Mesure du bruit de fond **B**	Mesure de bruit de fond **B**	Mesure de bruit de fond **B**
	10 µl de PEP (3)	10 µl de PEP
	10 µl de pyruvate kinase (4)	10 µl de pyruvate kinase
		10 µl de myokinase (5)
10 µl d'extrait à doser	10 µl d'extrait à doser temps 20 minutes	10 µl d'extrait à doser temps 40 à 45 minutes
Mesure de l'émission lumineuse **S**	Mesure de l'émission lumineuse **S**	Mesure de l'émission lumineuse **S**
10 µl d'ATP standard à 10^{-7} M (6)	10 µl d'ATP standard à 10^{-7} M (6)	10 µl d'ATP standard à 10^{-7} M (6)
Mesure de l'émission lumineuse **I** (7)	Mesure de l'émission lumineuse **I** (7)	Mesure de l'émission lumineuse **I** (7)

(1) ATP monitoring reagent (Bio Orbit-Kontromp).
(2) Tampon Tris (0,1 M), MgCl2 (5 mM), KCl (0,0125 mM), pH 7,5.
(3) PEP = phospho enol pyruvate (sigma).
(4) PK = pyruvate kinase (sigma).
(5) MK = myokinase (sigma).
(6) ATP standard (sigma).
(7) La concentration est donnée par le rapport (S – B) / (I – S).

Le protocole de la technique de dosage est donné dans le diagramme A. Pour chaque extraction 3 dosages sont réalisés pour chacun des adénylates.

Le pourcentage de récupération a été estimé à partir de 5 échantillons contenant 10 µl de chaque adénylate à la concentration de 10-7 M. Il a été de 104,6 (s = 0,4099) ; 94,95 (s = 0,4330) ; 88,46 (s = 1,0570) respectivement pour l'ATP, l'ADP et l'AMP.

La CEA est calculée à partir des concentrations des différents composés adényliques selon la formule (4) :

$$(ATP + 1/2\ ADP) / (ATP + ADP + AMP) \quad \text{(IVANOVICI, 1980).} \qquad (4)$$

Les concentrations sont exprimées en micromole d'adénylate par milligramme de poids frais.

3 – RÉSULTATS

Chez les témoins, la valeur de la charge énergétique en adénylates (CEA) est en moyenne de 0,77 *(tabl. 1).*

Tableau 1 Charge énergétique en adénylates (CEA), concentration en ATP, ADP, AMP et en adénylates totaux, chez *Asellus aquaticus L.* témoin et après contamination par du lindane pendant 48 heures.

Table 1 *Adenosine energy charge (AEC) ATP, ADP, AMP and adenylate pool concentrations for* Asellus aquaticus L *control and after lindane contamination during a period of 48 heures.*

Ref.		Concentration en µmol/mg			Totaux	CEA
		ATP	ADP	AMP		
Témoin (1)	n	8	8	8	8	8
	m	0,1451	0,0698	0,0193	0,2342	0,77
	s	0,0267	0,0403	0,0151	0,0576	0,0628
Lindane	n	3	3	3	3	3
2 µg/l	m	0,1876	0,0253	0,0272	0,2401	0,79
	s	0,0623	0,0129	0,0174	0,0629	0,0854
Lindane	n	3	3	3	3	3
4 µg/l	m	0,1821	0,1200	0,0470	0,3491*	0,69* (2)
	s	0,0318	0,0329	0,0329	0,0301	0,0306
Lindane	n	3	3	3	3	3
8 µg/l	m	0,2325**	0,2121*	0,1182*	0,5628*	0,65*
	s	0,0389	0,1557	0,334	0,3178	0,1274
Lindane	n	3	3	3	3	3
10 µg/l	m	0,1570	0,0679	0,0416	0,2665	0,72
	s	0,0430	0,0260	0,0432	0,0599	0,462

(1) Les dosages chez les témoins réalisés pour chacune des concentrations n'étant pas significativement différents entre eux : ils ont été regroupés n = nombre de réplicats pour un essai comportant 10 individus.
(2) Comparaison avec le témoin (ANOVA) seuil de signification : * 0,05 ; ** 0,01.

Après contamination par le lindane les valeurs moyennes sont 0,79 ; 0,69 ; 0,65 et 0,72 respectivement pour les concentrations de 2, 4, 8 et 10 µg/l de lindane. On constate une tendance à la diminution de la CEA à partir de 4 µg/l. Seules les valeurs de 0,69 et 0,65 obtenues respectivement à 4 et 8 µg/l de lindane différent significativement de celle du témoin (ANOVA, seuil 0,05).

La concentration moyenne de l'ATP est de 0,1451 µmol/mg chez les témoins. Après contamination par le lindane elle est égale respectivement pour 2, 4, 8 et 10 µg/l de lindane à 0,1876 ; 0,1821 ; 0,2335 et 0,1570 µmol/mg *(tabl. 1)*. Seul l'accroissement de la concentration d'ATP chez les aselles contaminées par 8 µg/l de lindane est significatif (seuil 0,01).

La concentration en ADP de l'ordre de 0,0698 µmol/mg chez le témoin est égale à 0,0253 ; 0,1200 ; 0,2121 et 0,0679 µmol/mg pour respectivement 2, 4, 8 et 10 µg/l de lindane. Seule la valeur de 0,2121 µmol/mg observée pour 8 µg/l de lindane est statistiquement significative de l'accumulation d'ADP (seuil 0,05).

La concentration en AMP de 0,0193 µmol/mg chez le témoin ne varie pas significativement à 2, 4 et 10 µg/l de lindane soit respectivement 0,0272 ; 0,0470 et 0,0416. Par contre à 8 µg/l elle augmente de façon significative (seuil 0,05) et atteint la valeur de 0,1182 µmol/mg *(tabl. 1)*.

Enfin la variation de la concentration en adénylates totaux (ATP + ADP + AMP) est de 0,2342 µmol/mg chez le témoin, elle passe à 0,2401 et 0,2665 µmol/mg respectivement à 2 et 10 µg/l de lindane. Elle augmente significativement (seuil 0,05) à 4 et 8 µg/l soit respectivement 0,3491 et 0,5628 µmol/mg.

4 -DISCUSSION

Selon IVANOVICI (1979) les valeurs de la CEA supérieures à 0,75 sont significatives de conditions environnementales satisfaisantes, celles comprises entre 0,75 et 0,50 traduiraient une perturbation des conditions du milieu, celles inférieures à 0,50 seraient le signe d'une modification très importante, les effets qu'elle entraînerait seraient irréversibles.

Ainsi les valeurs obtenues dans cette étude montrent que la valeur de la CEA témoin, bien qu'un peu faible, puisse être considérée comme significative de conditions environnementales satisfaisantes. Leur faible niveau pouvant être du à la perturbation provoquée par les différentes manipulations.

Pour une contamination à 2 µg/l de lindane, concentration de l'ordre de la CL 48h 10 % (1,73) (THYBAUD *et al.*, 1987) aucune perturbation n'est enregistrée aussi bien au niveau de la CEA qu'à celui des concentrations en adénylates.

Par contre à 4 et 8 µg/l (la CL 50 % 48h est de 5,14) la CEA chute et témoigne, selon les seuils établis par IVANOVICI (1979), de la perturbation du milieu. De plus elle est significativement différente de celle du témoin (seuil 0,05).

Puis à 10 µg/l de lindane (CL 90 % 48h = 16,89) la CEA bien que inférieure à la valeur critique de 0,75 ne diffère pas statistiquement de celle du témoin.

Ces résultats rappellent ceux de ZAROOGIAN *et al.* (1989 b) concernant l'intoxication de *Mytilus edulis* par des sédiments provenant de zone polluée. Celles maintenues dans ces sédiments ne présentaient pas de variation de la CEA, tandis que chez celles maintenues dans un mélange de sédiment pollué et de sédiment témoin (1/1) la CEA était diminuée.

Ainsi une corrélation entre la concentration du toxique donc les capacités de récupération et la valeur de la CEA ne semble pas toujours vérifiée, ce qui remet en cause les valeurs critiques établies par IVANOVICI (1979).

Par ailleurs nous avons constaté que la diminution de la CEA va de pair avec l'accroissement significatif de la concentration des différents adénylates

(ATP, ADP, AMP) à 8 µg/L de lindane et de celle des adénylates totaux pour les contaminations à 4 et 8 µg/l de lindane. Ces résultats sont en désaccord avec l'hypothèse d'ATKINSON (1977) selon laquelle la diminution de la CEA s'accompagnerait généralement de celle du pool des adénylates. Par ailleurs une diminution des concentrations en adénylates semblerait logique compte tenu du mode d'action du lindane. En effet cet insecticide est connu pour inhiber l'activité des enzymes SDH et MDH (succinate déhydrogènase et malate déhydrogènase) intervenant dans l'oxydation de l'acétyl co enzyme A lors de la régénération de l'ATP (ZAKOLODKINA, 1963). De plus son action neurotrope en déclenchant une hyperactivité provoque une dépense énergétique accrue susceptible de diminuer le pool des adénylates.

Cependant notons que nos résultats corroborent ceux concernant le métabolisme respiratoire (LE BRAS, 1987). En effet dans des conditions d'intoxications expérimentales identiques à celles réalisées dans cette étude, nous avions constaté un accroissement progressif de la consommation d'oxygène chez les aselles contaminées par 2, 4 et 8 µg/l de lindane, puis un retour à la normale à 10 µg/l.

Il apparaît donc que l'augmentation des concentrations en adénylates coïncide à l'accroissement du métabolisme, lui même lié à la première phase d'intoxication (dite clonique ou convulsive) qui se traduit par une agitation extrême des pattes et des palettes natatoires, agitation qui augmente avec le temps et (ou) le degré d'intoxication pour atteindre le stade de tétanie, suivi par la paralysie (phase psérique) puis par la mort. Le retour à la normale du métabolisme et des concentrations en adénylates à 10 µg/l de lindane s'expliquerait alors par la diminution des dépenses énergétiques consécutives au stade avancé de l'intoxication. Parallèlement il est possible que cette diminution soit également liée à l'inhibition croissante de l'activité des enzymes SDH et MDH comme l'ont souligné BASHA *et al.* (1984) dans leurs travaux sur *Tilapia mossambica* intoxiqué par du lindane ou du carbaryl.

Par ailleurs étant donné les symptômes cliniques de cette intoxication, activité musculaire accrue, il est vraisemblable que la source d'ATP soit à *rechercher dans la transformation des phosphagénes (arginine phosphate)* qui selon BEISS et NEWSHOLME (1975) serait une source énergétique importante, directement utilisable dans les muscles des invertébrés. Cette voie implique la régénération d'une molécule d'ATP à partir d'une seule molécule d'ADP phosphorylée sous l'action de l'arginine phosphate kinase par le phophore libéré par l'arginine phosphate, au lieu de deux molécules d'ADP dans le processus habituel. Ainsi pourrait s'expliquer le maintien ou l'accroissement du pool en adénylate, sans toutefois exclure la possibilité d'inhibition des SDH et MDH.

En conclusion dans les conditions expérimentales réalisées dans cette étude la CEA n'a pas mis en évidence une perturbation de l'ordre de la CL 10 % 48h, par contre à des concentrations supérieures, elle a révélé l'intoxication. Cependant il ne semble pas y avoir de corrélation entre le degré de la contamination et la valeur de la CEA. Il s'avère toutefois que la CEA a un *potentiel limité comme biomarqueur, particulièrement in situ en présence de* plusieurs substances toxiques, puisque l'interprétation des résultats semble nécessiter des connaissances sur le mode d'action du contaminant.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ATKINSON D.E., 1977. *Cellular energy metabolism and its regulation.* Academic Press, Inc. New York and London. 292 p.

BAKKE T., SKJODAL H.R., 1979. Effects of toluene on the survival, respiration, and adenylate system of a marine Isopod. *Mar. Pollut. Bul., 10*, 111-115.

BASHA S.M.K., PRASADA RAO K.S., SAMBASIVA RAO K.R.S., RAMANA RAO K.V., 1984. Respiratory potentials of fish *(Tilapia mossambica)* under Malathion, Carbaryl and Lindane intoxication. *Bull. Environ. Contam. Toxicol., 32*, 570-574.

BEIS I., NEWSHOLME A.E., 1975. The contents of adenine nucleotides, phosphogens and some glycolytic intermediates in resting muscles from vertebrates and invertebrates. *Biochem. J., 152*, 23-32.

CHAISEMARTIN C., REAL G., 1985. Réponses de *Potamopyrgus jenkinsi* (Gasteropoda-Hydrobiidae) face à un herbicide le 2,4,5 T. Survie, reproduction et énergie métabolique disponible chez les individus différenciés par un marqueur : le fer. *Vie et Milieu, 35*, 127-133.

GIESY J.P., DUKE R., BINGHAN R., DENZER S., 1978. Energy charges in several molluscs and crustaceans: natural values and reponses to cadmium stress. *Bull. Ecol. Soc. Am., 59*, 66.

HAYA K., JOHNSTON C.E., WAIWOOD B.A., 1980. Adenylate energy charge and ATPase activity in american lobster *(Homarus americanus)* from belledune harbour. In Cadmium pollution of Belledune Harbour, New Brunswik Can., *Can. Tech. Rep. Fish Aquat. Sci., 963*, 85-91.

HAYA K., WAIWOOD B.A., JOHNSTON C.E., 1983. Adenylate energy charge and ATPase activity of lobster *(Homarus americanus)* during sublethal exposure to zinc. *Aquat. Toxicol., 3*, 115-126.

HOHREITER D.W., REINERT R.E., BUSH P.B., 1991. Effects of the insecticides Carbofuran and Fenvalerate on adenylate parameter in Bluegill Sunfish *(Lepomis macrochirus). Arch. Environ. Contam. Toxicol., 21*, 325-331.

IVANOVICI A.M., 1979. Adenylate energy charge as a tool for rapid determination of toxicity effects. *Fish Mar. Ser. Tech. Rep., 862*, 241-255.

IVANOVICI A.M., 1980. Application of adenylate energy charge to problems of environmental impact assessement in aquatic organisms. *Helgolander Meeresuntens, 33*, 556-564.

JAKUBCZAK E., LECLERC H., 1978. Etude critique des différentes méthodes d'extraction de l'ATP bactérien en vue de son dosage par bioluminescence. *Regard sur la biochimie, 2*, 14-23.

JAKUBCZAK E., LECLERC H., 1980. Mesure de l'ATP bactérien par bioluminescence : étude critique des différentes méthodes d'extraction. *Ann. Biol. Clin., 38*, 297-304.

LE BRAS S., 1987. Influence du lindane sur le métabolisme respiratoire d'*Asellus aquaticus L.* Relation concentration-perturbation. *Hydrobiol., 148*, 115-122.

LE BRAS S., 1990. Modification de la sensibilité au lindane d'*Asellus aquaticus L.* en fonction de la variation de facteurs biotiques (poids et métabolisme) et abiotiques (concentration de l'insecticide et température). *Rev. Sci. Eau, 3*, 183-193.

THYBAUD E., 1987. Recherche sur l'impact écotoxicologique du lindane et de la deltaméthrine sur divers niveaux d'organisation des écosystèmes limniques. Diplôme de Doctorat de toxicologie, Université de Paris VII, 245 p.

THYBAUD E., LE BRAS S., COSSON R.P., 1987. Etude comparée de la sensibilité d'*Asellus aquaticus L.* (Crustacé, Isopode) vis-à-vis de quelques insecticides et divers métaux lourds. Acta Oecologica, *Oecol. Applic., 28*, 355-361.

ZAKOLODKINA V.I., 1963. Cytochrome oxydase and succinic deshydrogenase activity in tissues of the house fly *(Musca domestica)* after exposure to some insecticides. *J. Hyg. Epid. Microb. Immun. Czechosl. 7*, 97-105.

ZAROOGIAN G.E, JOHNSTON M., 1989 a. Application of adenylate energy charge and adenine nucleotide measurements as indicators of stress in *Nephtys incisa* treated with dredged material., *Bull. Environ. Contam. Toxicol., 43*, 261-270.

ZAROOGIAN G.E., JOHNSTON M., 1989 b. Adenylate energy charge and adenine nucleotide measurement as indicators of stress in the mussel, Mytilus edulis, treated with dredged material under laboratory conditions. Bull. *Environ. Contam. Toxicol., 43*, 428-435.