

L'IRSN étudie les rainettes arboricoles afin d'évaluer les effets chroniques de la radioactivité sur la faune sauvage.

De nouvelles sentinelles de l'environnement

Les approches actuelles peinent à représenter les impacts des expositions chroniques aux rayonnements ionisants sur le fonctionnement et la santé des écosystèmes et de la biodiversité. L'IRSN propose de suivre l'évolution génétique et les changements en termes de population d'une espèce sentinelle, la rainette arboricole. Direction Fukushima et Tchernobyl, des environnements où les effets de la radioactivité peuvent être étudiés.

[CONTEXTE]

La santé humaine est intimement liée à celle des écosystèmes. Évaluer cette dernière suppose d'étudier tous les impacts écologiques. De nouvelles méthodologies et des outils analytiques récents permettent de les détecter afin d'objectiver la santé des populations sauvages, y compris en présence de multiples sources de pollution. Mais, alors que les pollutions chimiques et désormais les effets du changement climatique sont largement étudiés, les pollutions radioactives, pourtant très persistantes, sont moins documentées.

Les oiseaux sont souvent utilisés comme espèces sentinelles pour mesurer l'incidence de divers polluants : suivre leur santé et leur comportement permet d'évaluer ceux d'autres espèces de l'écosystème. Divers effets délétères avaient été observés après l'accident de Tchernobyl (Ukraine) en 1986, dans la zone d'exclusion, la plus contaminée. En 2012, des chercheurs de l'IRSN sont allés à Fukushima (Japon), peu de temps après la catastrophe, pour poursuivre ces travaux sur les oiseaux. Alors qu'ils s'étonnent du concert assourdissant de grenouilles – du fait des nombreuses rizières – l'un d'eux, Jean-Marc Bonzom, écotoxicologue, décide d'en prélever. On connaît bien la biologie et le comportement de ces toutes petites rainettes arboricoles (*Dryophytes japonicus*) : elles hibernent dans le sol forestier, se reproduisent en milieu aquatique et vivent dans des arbustes. Elles sont donc exposées aux pollutions des eaux, des sédiments et du sol. Et comme tous les amphibiens, elles sont particulièrement sensibles aux changements environnementaux.

Les chercheurs retournent sur le terrain l'année suivante, accompagnés de Thierry Lengagne, spécialiste des amphibiens à l'université de Lyon. L'idée germe alors de s'intéresser à ces animaux assez faciles à capturer et à manipuler sans trop les stresser, pour étudier l'exposition chronique de la faune sauvage. Autre intérêt : les rainettes arboricoles ne migrent pas loin et sont largement répandues dans le monde. De quoi les observer sur plusieurs générations et en divers lieux.

À cette époque, avec différents instituts, l'IRSN pointait le fait que les organismes dans leur environnement naturel pourraient s'avérer plus sensibles aux rayonnements ionisants que les animaux de laboratoire. La communauté scientifique commençait à questionner la pertinence des expériences de laboratoire car elles sont généralement réalisées dans des conditions optimales, les animaux étant soumis au seul stress des rayonnements ionisants, sur une courte durée et à dose élevée.

La validité des seuils

Les valeurs de référence pour la protection des écosystèmes vis-à-vis des rayonnements ionisants, autrement dit soumis à des expositions chroniques à faible dose, sont extrapolées à partir de ces expériences de laboratoire. Depuis 2010, une valeur maximale de 10 microGray par heure ($\mu\text{Gy/h}$) est proposée pour la protection générique des écosystèmes. D'autres valeurs repères ont été établies en 2008 par la Commission internationale de protection radiologique (CIPR) par famille animale et végétale. Pour les amphibiens, le seuil d'apparition des effets est de $40 \mu\text{Gy/h}$, la dose létale pour les adultes se situant entre 5 et 20 Gy. Mais ces valeurs sont-elles fiables quand s'ajoutent de manière chronique des pollutions chimiques ainsi que des perturbations thermiques avec le réchauffement climatique ?

Et comment savoir si les rainettes sont en bonne santé ? Quel est le seuil de rayonnements ionisants à partir duquel elles sont

affectées ? S'adaptent-elles ou sont-elles en train de dépérir ? On comprend bien que l'approche écotoxicologique classique qui consiste à étudier les traits de vie (mortalité, croissance, reproduction) ne suffit pas. « Pour en savoir plus, en 2016, avec mes collègues Christelle Adam-Guillermine, Jean-Marc Bonzom, et André Gilles de l'Inrae, nous avons eu l'idée de nous intéresser aux évolutions physiologiques des rainettes, aux mutations de leur ADN, ainsi qu'à leur diversité génétique », raconte Olivier Armant, écotoxicologue à l'IRSN. Clément Car, doctorant à l'IRSN, a mené l'étude dans la zone d'exclusion de Tchernobyl, presque cent fois plus radiocontaminée que Fukushima. Il est allé y prélever des rainettes arboricoles mâles, faciles à capturer en période de reproduction, sur vingt sites retenus selon un gradient de radioactivité (de 0 à $30 \mu\text{Gy/h}$). Cette espèce locale, *Hyla orientalis*, est comparable à celle de Fukushima. Il a également relevé les variables environnementales : température de l'eau, de l'air, radionucléides présents.

À noter que l'accès est désormais impossible en raison du conflit armé. Sur place, les chercheurs ont mesuré les rainettes pour évaluer leur indice de condition corporelle, BCI (*Body Condition Index*), bon révélateur de leur capacité à survivre et se reproduire. Ils ont également préparé des échantillons pour mener des analyses génomiques et transcriptomiques en France. Résultat : dans la zone la plus contaminée, la population de rainettes s'est maintenue (elle est néanmoins bien moins élevée que dans les régions environnantes) et elles sont plus maigres (leur BCI a diminué). « Nos données génétiques et de filiation laissent supposer que des rainettes sont venues d'une zone moins contaminée, au sud », explique Olivier Armant. Par ailleurs, en analysant leur génome, les chercheurs ont constaté que ces grenouilles, normalement génétiquement variées, ont désormais des génomes particuliers, inconnus ailleurs en Europe, et avec de forts liens de parenté. « Nous attribuons cela, respectivement, à des mutations dues aux altérations de l'ADN par

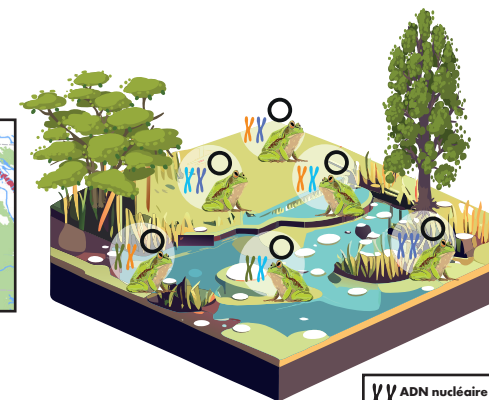
Cahier partenaire réalisé avec

AUTORITÉ DE SÛRETÉ NUCLÉAIRE ET DE RADIOPROTECTION

L'Institut de sûreté nucléaire et de radioprotection (IRSN) devient l'Autorité de sûreté nucléaire et de radioprotection (ASNR) en janvier 2025.

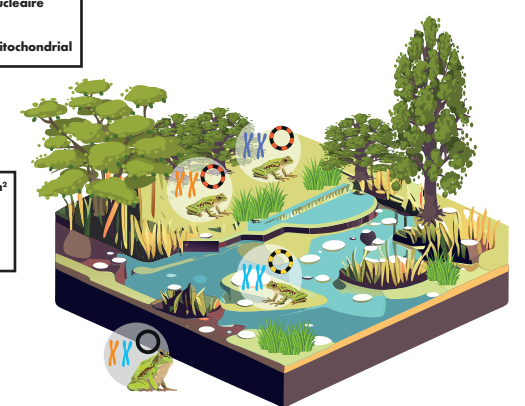
IMPACT DES RAYONNEMENTS IONISANTS SUR LES POPULATIONS DE RAINETTES

1986, avant l'accident

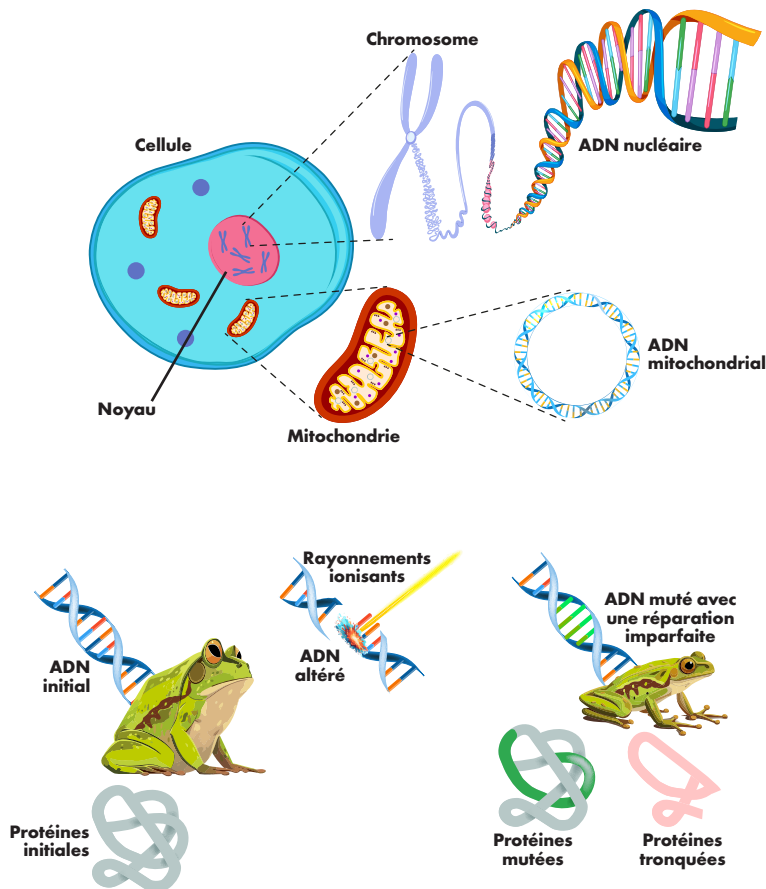


La centrale de Tchernobyl est à quelques kilomètres de Prypiat, près de la frontière avec la Biélorussie. La nuit du 26 avril 1986, le personnel en charge d'un essai technique sur la centrale en perd le contrôle. Un nuage radioactif – composé principalement de césium (^{137}Cs), strontium (^{90}Sr) et plutonium (^{238}Pu et ^{239}Pu) – recouvre d'abord l'Ukraine, le Bélarus et la Russie. En raison des vents dominants et des pluies des jours suivants, il contamine surtout l'ouest et le nord de la centrale. Les mêmes zones sont contaminées aujourd'hui (voir carte ci-dessous). La radioactivité diminue au fil du temps, plus ou moins vite selon les éléments radioactifs. La zone d'exclusion de toute activité humaine s'étend aujourd'hui sur 2 600 km^2 .

Contamination au césium en 2018



À partir de mesures réalisées dans des sites contaminés (A à E) et dans deux sites témoins (G et H) localisés dans une zone non contaminée à proximité, l'IRSN propose un scénario évolutif des populations de rainettes dans cette région à partir des données de leur génome (sous forme d'ADN nucléaire et mitochondrial) et de leur phénotype (caractères apparents comme la taille, voir explications page suivante). Avant l'accident, les rainettes de Tchernobyl sont semblables aux autres populations européennes, en bonne santé, nombreuses et d'une diversité génétique comparable. Après l'accident, les rainettes, désormais soumises à une exposition chronique à faible dose, sont plus maigres et leur diversité génétique est perturbée de façon étonnante : la diversité de leur ADN mitochondrial augmente, alors que celle de leur ADN nucléaire diminue. « Nous supposons que des mutations sont apparues dues aux radiations, altérant la santé et les capacités de reproduction des rainettes, suggère Olivier Armant. En parallèle, des rainettes venant du sud, d'une zone moins contaminée, ont enrichi les populations du centre qui auraient probablement été plus affectées sinon. »



PATRIMOINE GÉNÉTIQUE

Chaque cellule comporte un noyau et différents organites, dont des mitochondries qui transforment les sucres et les graisses en énergie. Le patrimoine génétique d'un organisme, son génome, est sous forme d'ADN dont certains segments contiennent des instructions pour la synthèse des protéines ou pour réguler diverses fonctions cellulaires. Près de 99 % du génome est sous forme d'ADN nucléaire contenu dans le noyau de la cellule et organisé en paires de chromosomes (l'un hérité du père, l'autre de la mère). Le reste est dans les mitochondries : c'est l'ADN mitochondrial, uniquement hérité de la mère, crucial pour le métabolisme. L'un et l'autre travaillent en synergie : les mitochondries dépendent de protéines codées par l'ADN nucléaire, tandis que l'ADN mitochondrial joue un rôle clé dans des fonctions cellulaires majeures.

EFFETS DE LA RADIOACTIVITÉ

Les rayonnements ionisants provoquent des cassures de l'un ou des deux brins d'ADN, nucléaire comme mitochondrial. L'ADN peut être « réparé » par la cellule elle-même, ce qui peut engendrer des mutations. Celles de l'ADN mitochondrial, issu seulement de la mère, risquent de s'accumuler au cours des générations. « À Tchernobyl, nous constatons que les génomes nucléaires et mitochondriaux sont affectés, explique Olivier Armant, notamment, de nombreuses mutations sont apparues dans des séquences codant des protéines associées au métabolisme énergétique, probablement en lien avec l'altération de l'ADN mitochondrial. Parfois, les protéines sont tronquées, parfois leur séquence est modifiée. Reste à savoir si les changements phénotypiques observés (l'indice corporel diminué des rainettes) sont corrélés à l'irradiation et traduisent une physiologie altérée ou un phénomène adaptatif de survie. »

les rayonnements ionisants et aux effectifs réduits de grenouilles, précise l'écotoxicologue. En revanche, nous n'avons pas observé plus de rainettes de couleur noire en présence de radiations contrairement à ce que d'autres ont avancé. »

L'apport de nouveaux concepts

En parallèle de ces travaux de terrain, depuis 2017, l'IRSN développe les recherches sur le risque radiologique et sa prise en compte en contexte de multiples pollutions. Et cela, tant en interne qu'en collaboration avec des organisations nationales comme l'Ineris, l'Inrae ou internationales comme l'OCDE. « Nous comptons beaucoup sur les nouveaux concepts comme l'exposome et les AOP (Adverse Outcome Pathways) », confie Olivier Armant. L'exposome agrège les données relatives aux différentes expositions d'un organisme à une pollution donnée pendant toute sa vie. Les AOP permettent de structurer des informations toxicologiques en une chaîne de causes à effets. Ces deux approches bénéficient désormais d'outils d'analyse à même de traiter les très larges jeux de données qu'elles mobilisent. Mais comment estimer l'impact des doses de rayonnements ionisants reçues dans l'environnement au fil du temps ? La solution pourrait venir de l'ADN environnemental : cette méthode récente ouvre la possibilité de

retracer la biodiversité animale et végétale parfois sur des siècles à partir du matériel génétique laissé par les organismes dans l'environnement (eau, sédiments, sol...). L'IRSN explore cette voie depuis 2021 à Fukushima, dans les sols, en espérant découvrir quels organismes étaient présents lors du dépôt des différentes couches, puis faire le lien avec la contamination. « C'est le sujet du postdoctorat de Quentin Lambert, sous cotutelle IRSN/CNRS, ajoute Olivier Armant. Ses premiers résultats montrent une diminution de l'abondance de certains organismes vivants dans le sol contaminé, sans que l'on sache encore si cela est dû aux radiations. »

Ces travaux apportent un nouvel éclairage sur l'ampleur des impacts de la radiocontamination à long terme sur la faune sauvage. In fine, ils permettront de mieux protéger les écosystèmes et peut-être de mieux modéliser le risque héréditaire lié à l'exposition chronique à la radioactivité pour l'homme, notamment grâce aux concepts d'exposome et d'AOP. Rappelons-nous les recherches sur les perturbateurs endocriniens qui ont d'abord révélé des impacts sur la fertilité d'animaux, avant que l'on ne se rende compte que cela concernait également l'homme. On prenait alors conscience que les écosystèmes pouvaient être de puissants indicateurs de la santé humaine. ■

RÉFÉRENCES

- C. Car et al., Population transcriptogenomics highlights impaired metabolism and small population sizes in tree frogs living in the Chernobyl exclusion zone. *BMC Biol.* 2023
- C. Car et al., Unusual evolution of tree frog populations in the Chernobyl exclusion zone. *Evol Appl.* 2022