Comment évaluer la toxicité des mélanges complexes pour le phytoplancton marin ? Une approche combinant échantillonnage passif, bioessais, modélisation et analyse non-ciblée

Journée ESTIVAL ROCCH – 18 Octobre 2019

Valentin DUPRAZ

Introduction

Les activités humaines génèrent une forte pression anthropique sur l’environnement

Introduction

Les activités humaines génèrent une forte pression anthropique sur l'environnement

Industrie

Introduction

Les activités humaines génèrent une forte pression anthropique sur l'environnement

Industrie

Agriculture

Introduction

Les activités humaines génèrent une forte pression anthropique sur l'environnement

Industrie

Agriculture

Usages domestiques

Introduction

Les activités humaines génèrent une forte pression anthropique sur l'environnement

Industrie

Agriculture

Usages domestiques

Plus de 20 000 substances chimiques sont enregistrées sur le site de l'ECHA

ECHA : Agence européenne des produits chimiques

Introduction

Les activités humaines génèrent une forte pression anthropique sur l'environnement

Industrie

Agriculture

Usages domestiques

Plus de 20 000 substances chimiques sont enregistrées sur le site de l'ECHA

Ces substances représentent un risque potentiel pour la santé humaine et l'environnement

ECHA : Agence européenne des produits chimiques

Introduction

Les activités humaines génèrent une forte pression anthropique sur l'environnement

Industrie

Agriculture

Usages domestiques

Plus de 20 000 substances chimiques sont enregistrées sur le site de l'ECHA

Ces substances représentent un risque potentiel pour la santé humaine et l'environnement

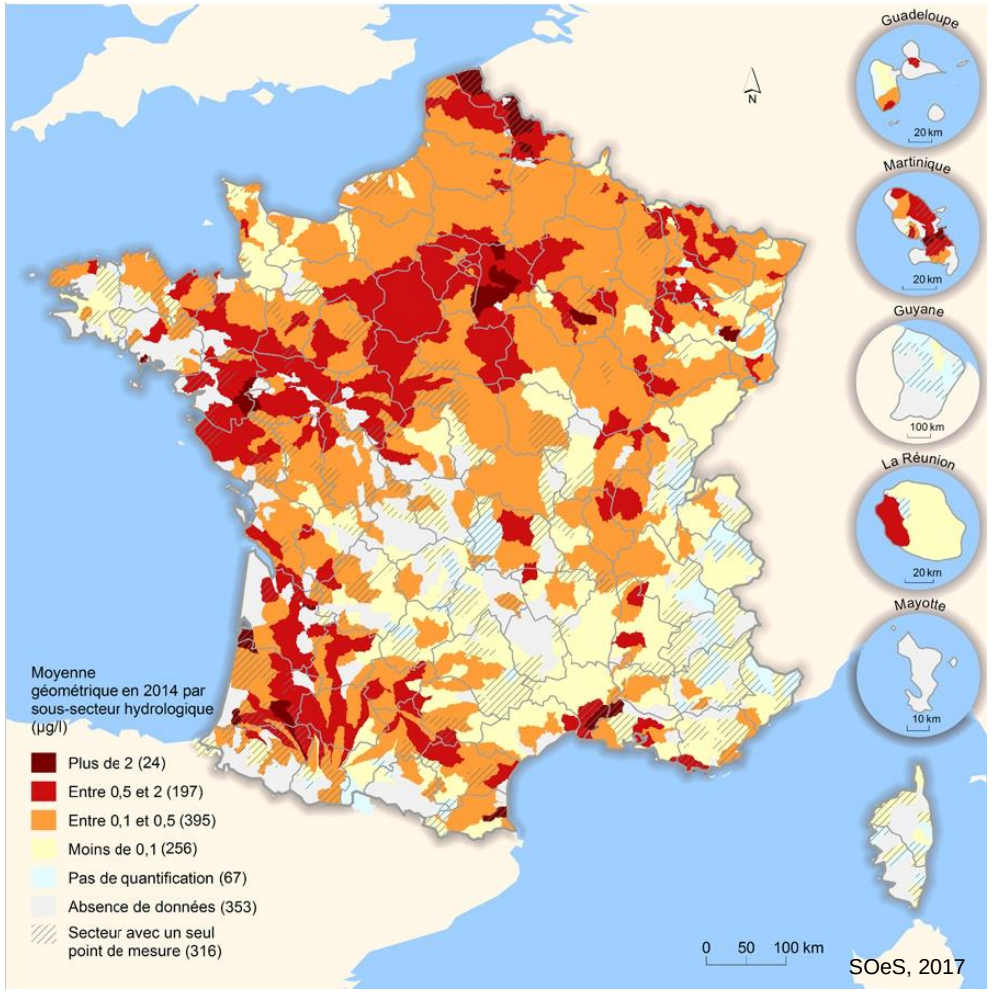
ECHA : Agence européenne des produits chimiques

Introduction

État des lieux de la contamination des masses d'eau par les pesticides en France

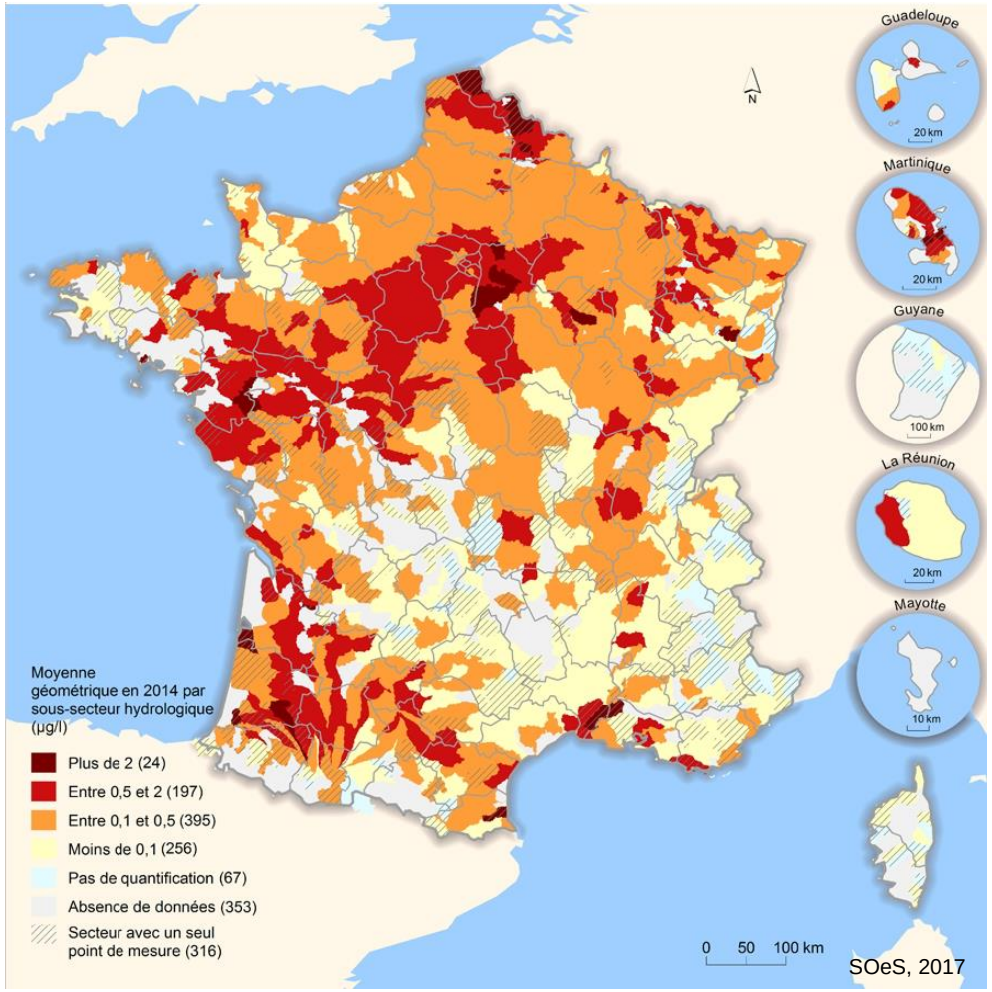
Introduction

État des lieux de la contamination des masses d'eau par les pesticides en France



Introduction

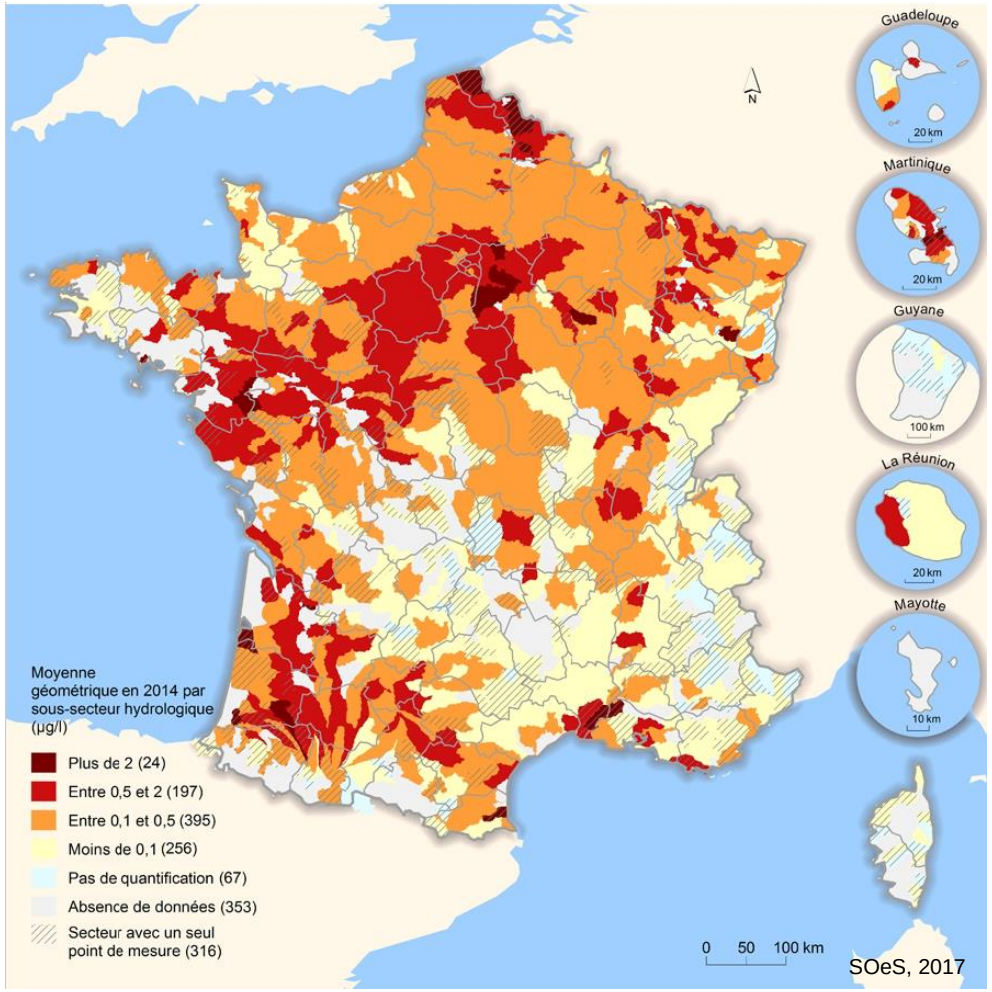
État des lieux de la contamination des masses d'eau par les pesticides en France



25% des sous-secteurs hydrologiques

Introduction

État des lieux de la contamination des masses d'eau par les pesticides en France

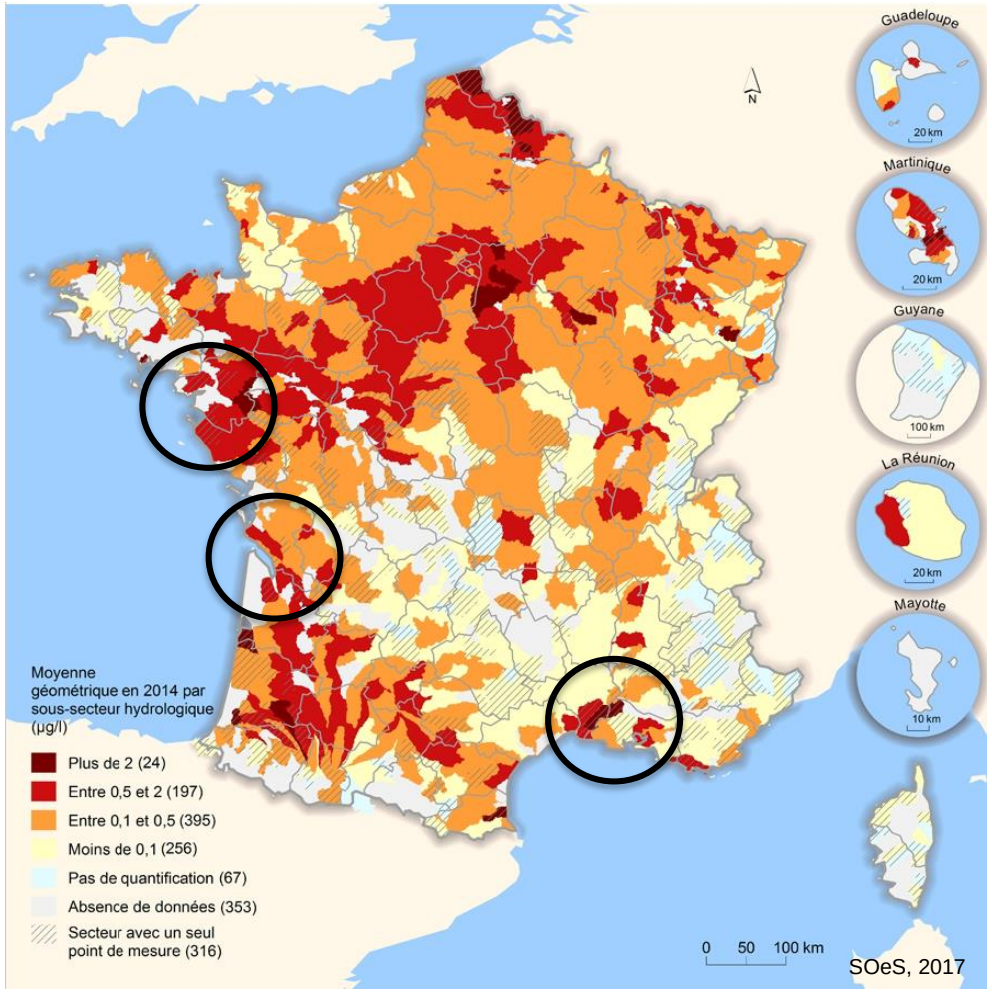


25% des sous-secteurs hydrologiques

Concentration moyenne en pesticides **> 0,5 µg L^{-1}**

Introduction

État des lieux de la contamination des masses d'eau par les pesticides en France



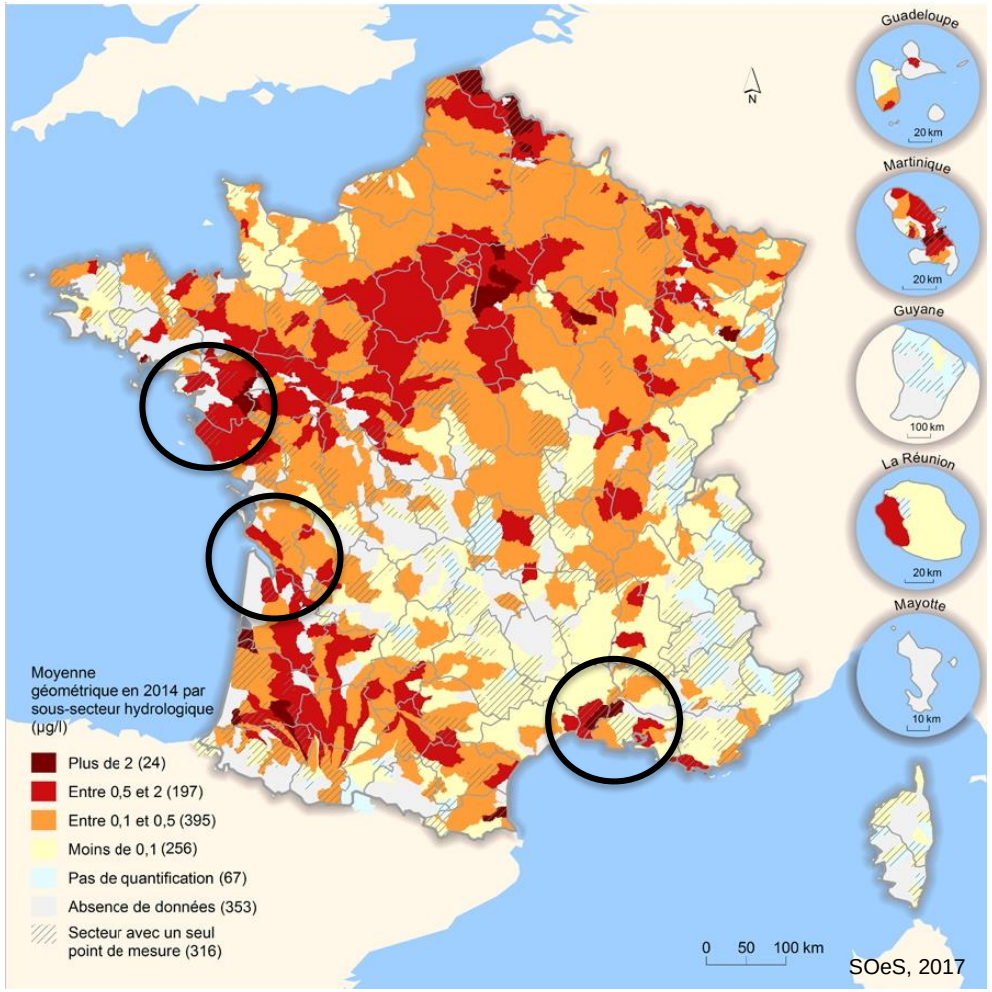
25% des sous-secteurs hydrologiques

Concentration moyenne en pesticides **> 0,5 µg L^{-1}**

Bassins versants (BV) **exoréiques**

Introduction

État des lieux de la contamination des masses d'eau par les pesticides en France

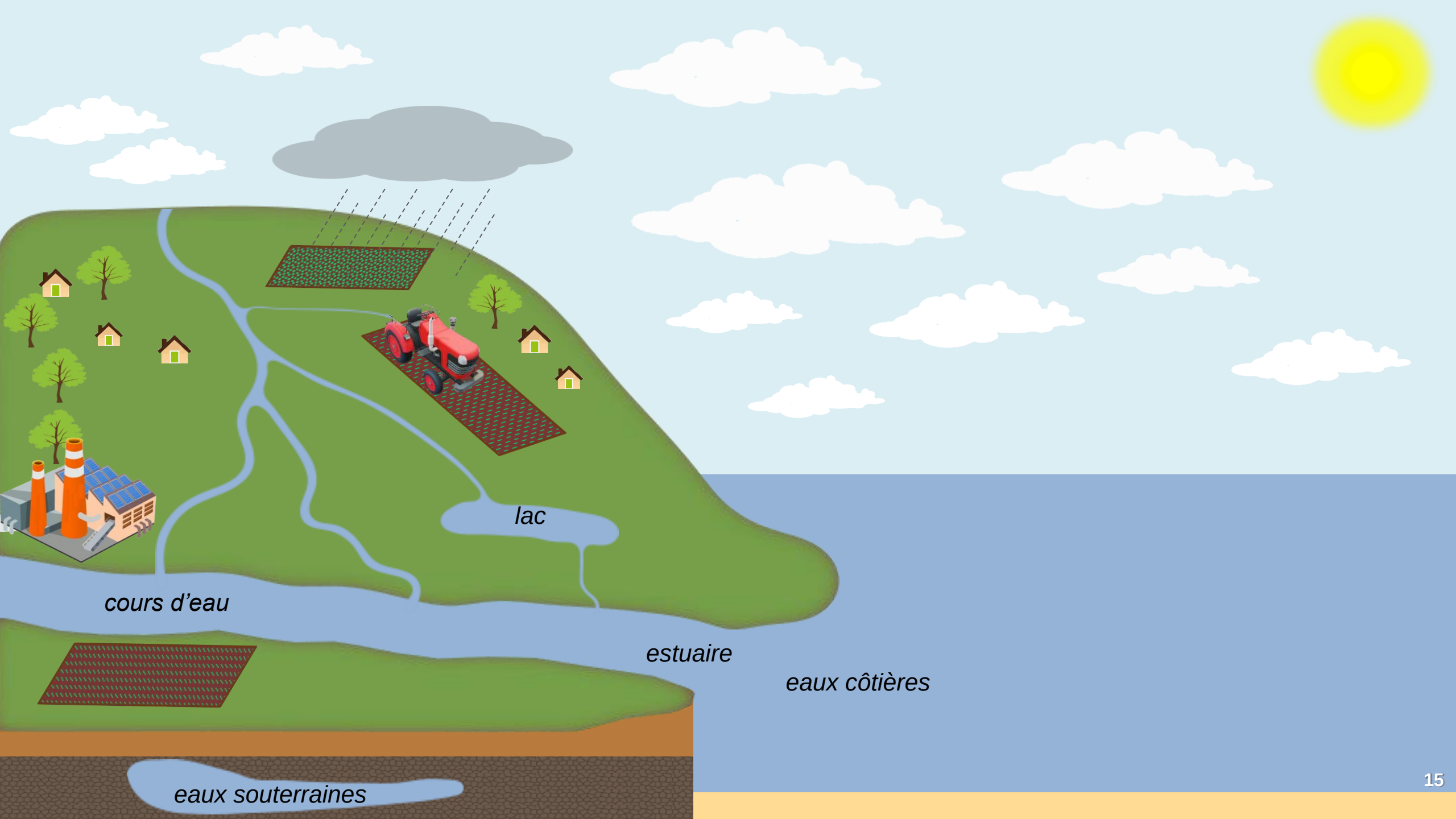


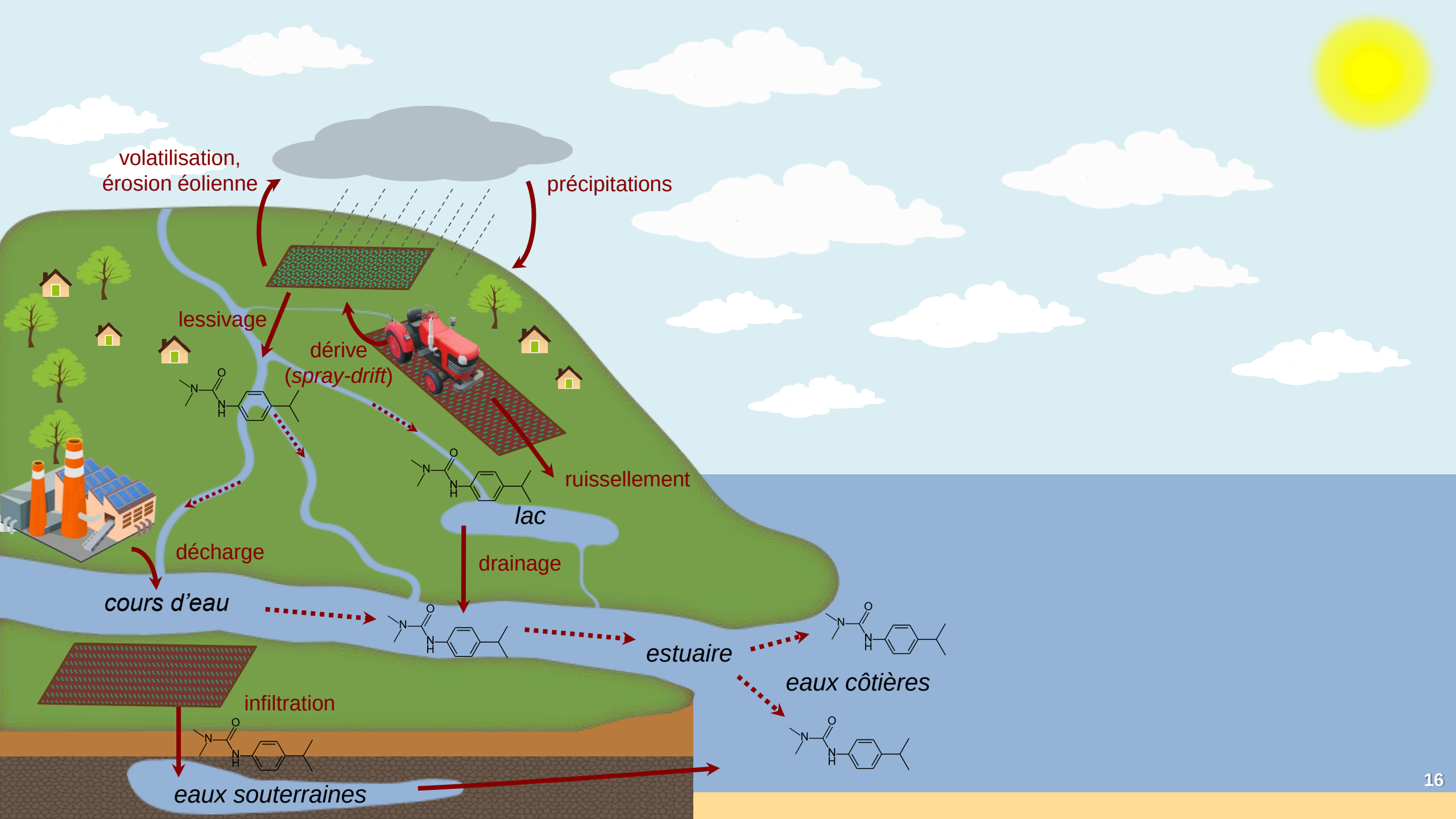
25% des sous-secteurs hydrologiques

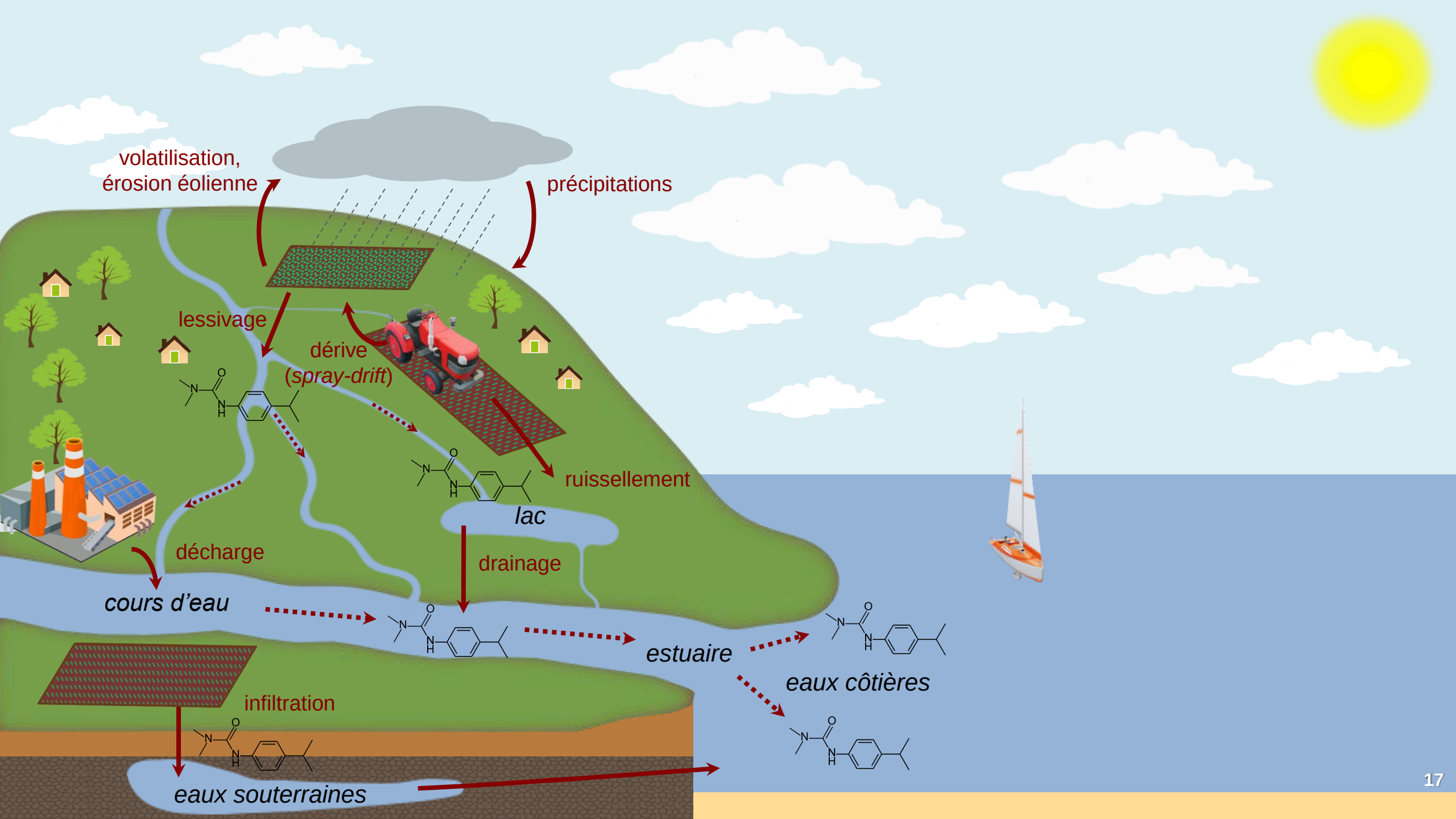
Concentration moyenne en pesticides **> 0,5 µg L^{-1}**

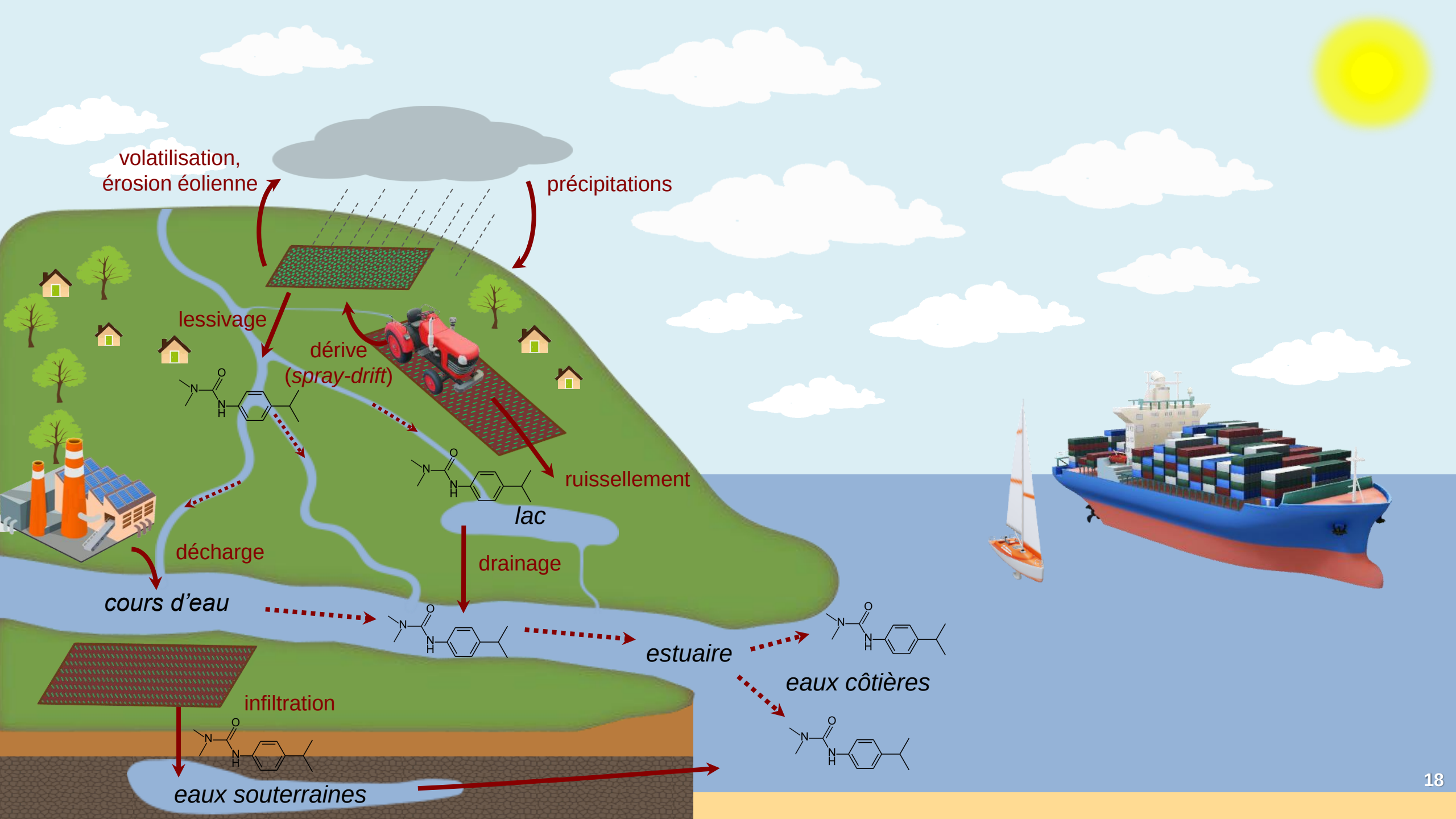
Bassins versants (BV) **exoréiques**

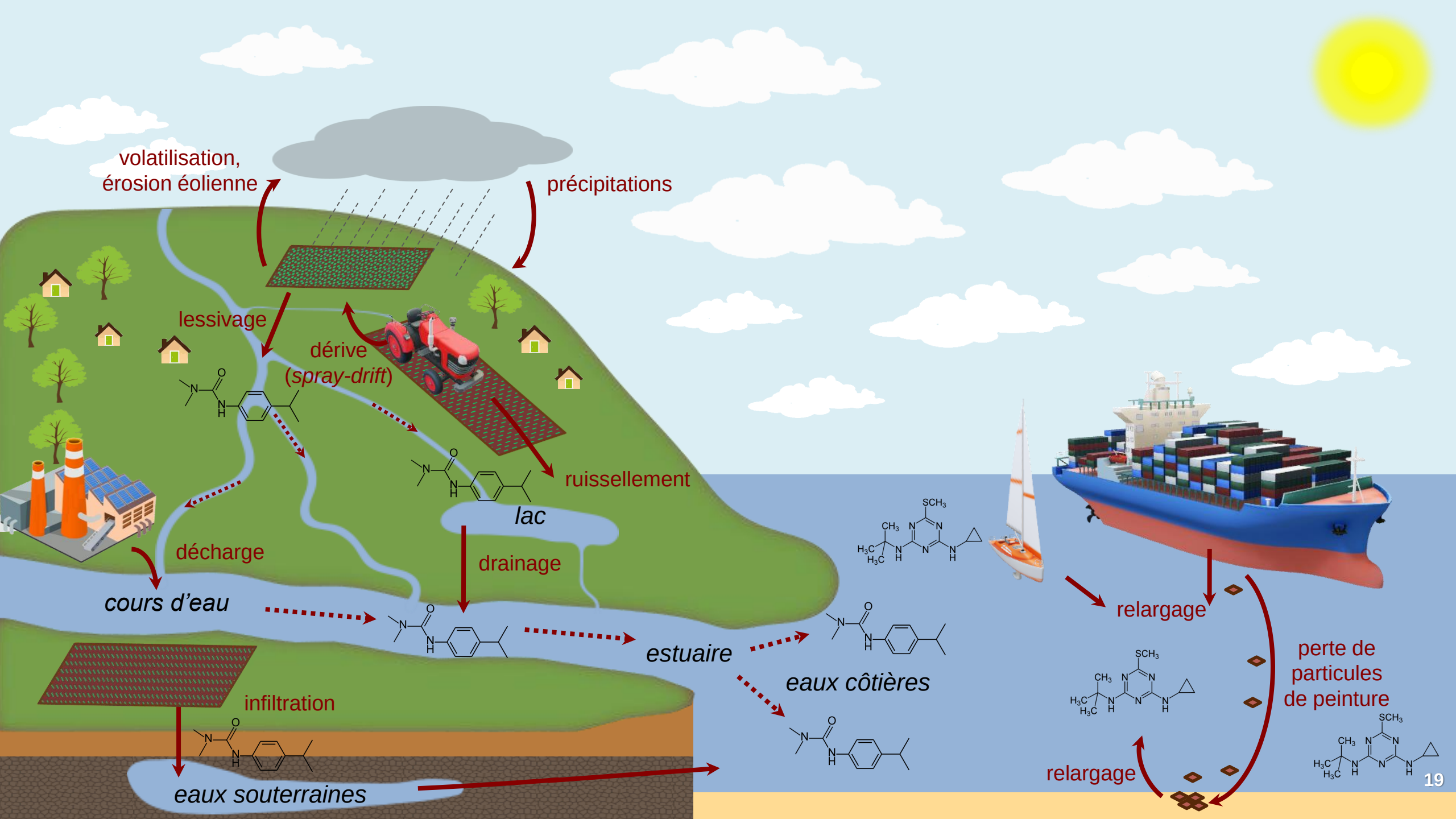
Transfert vers les masses d'eau côtières ?


lac
cours d'eau
estuaire
eaux côtières
eaux souterraines

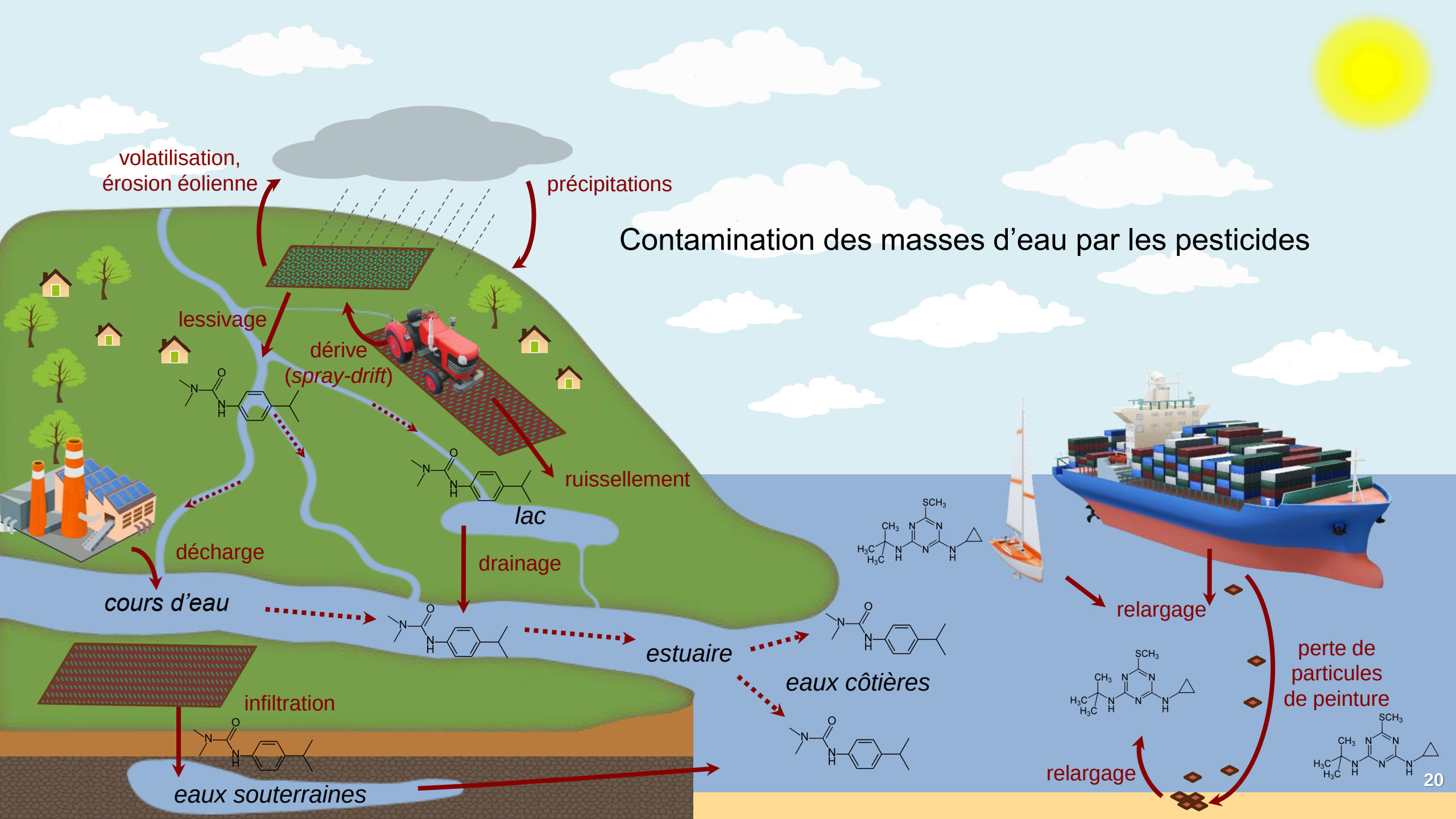

volatilisation,
érosion éolienne
précipitations
lessivage
dérive
(spray-drift)
ruissellement
lac
décharge
drainage
cours d'eau
estuaire
eaux côtières
infiltration
eaux souterraines


volatilisation,
érosion éolienne
précipitations
lessivage
dérive
(spray-drift)
ruissellement
lac
décharge
drainage
cours d'eau
estuaire
eaux côtières
infiltration
eaux souterraines


volatilisation,
érosion éolienne
précipitations
lessivage
dérive
(spray-drift)
ruissellement
lac
décharge
drainage
cours d'eau
estuaire
eaux côtières
infiltration
eaux souterraines

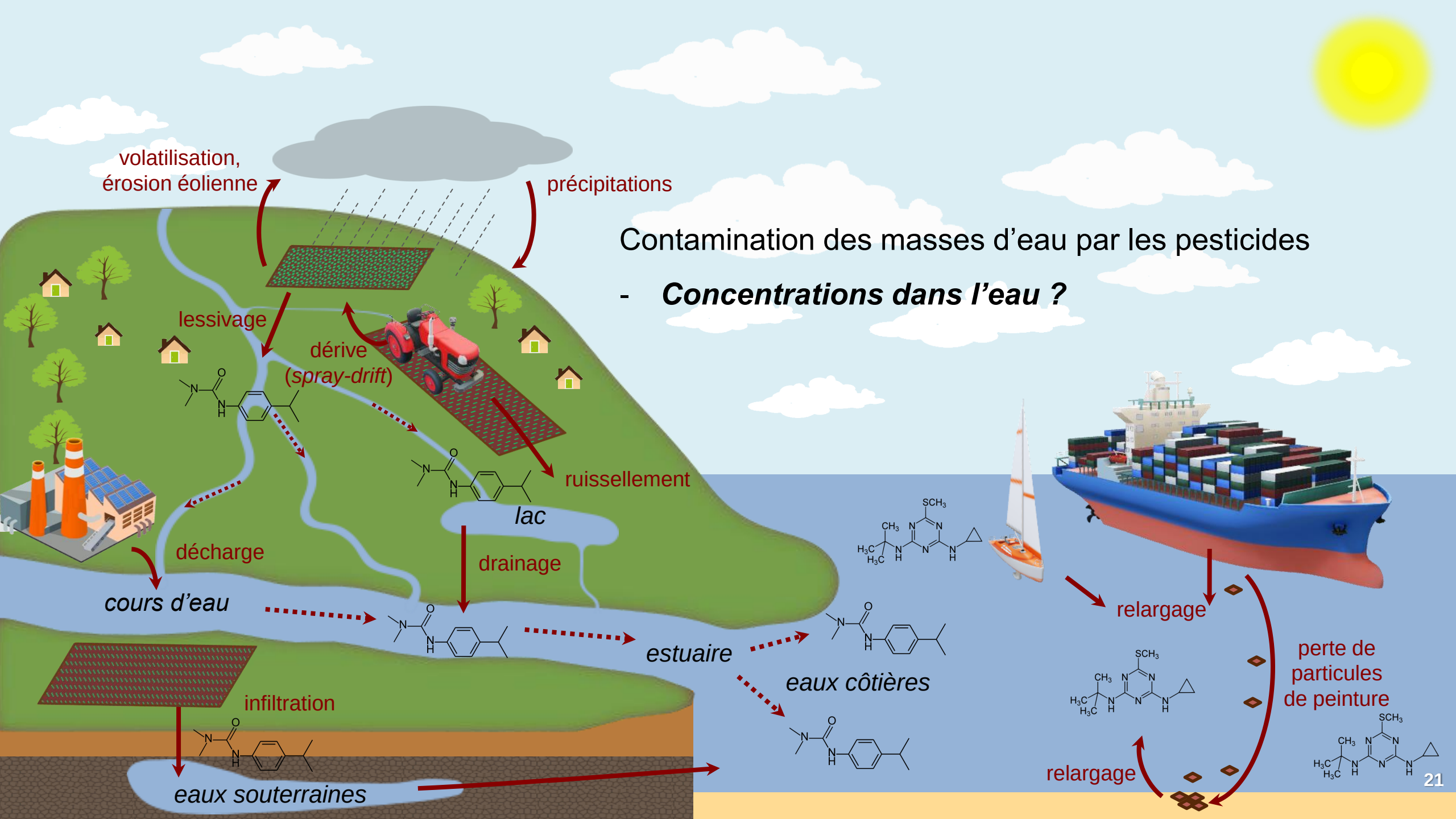

volatilisation,
érosion éolienne
précipitations
lessivage
dérive
(spray-drift)
ruissellement
lac
décharge
drainage
cours d'eau
estuaire
eaux côtières
infiltration
eaux souterraines
relargage
perte de
particules
de peinture
relargage

Contamination des masses d'eau par les pesticides



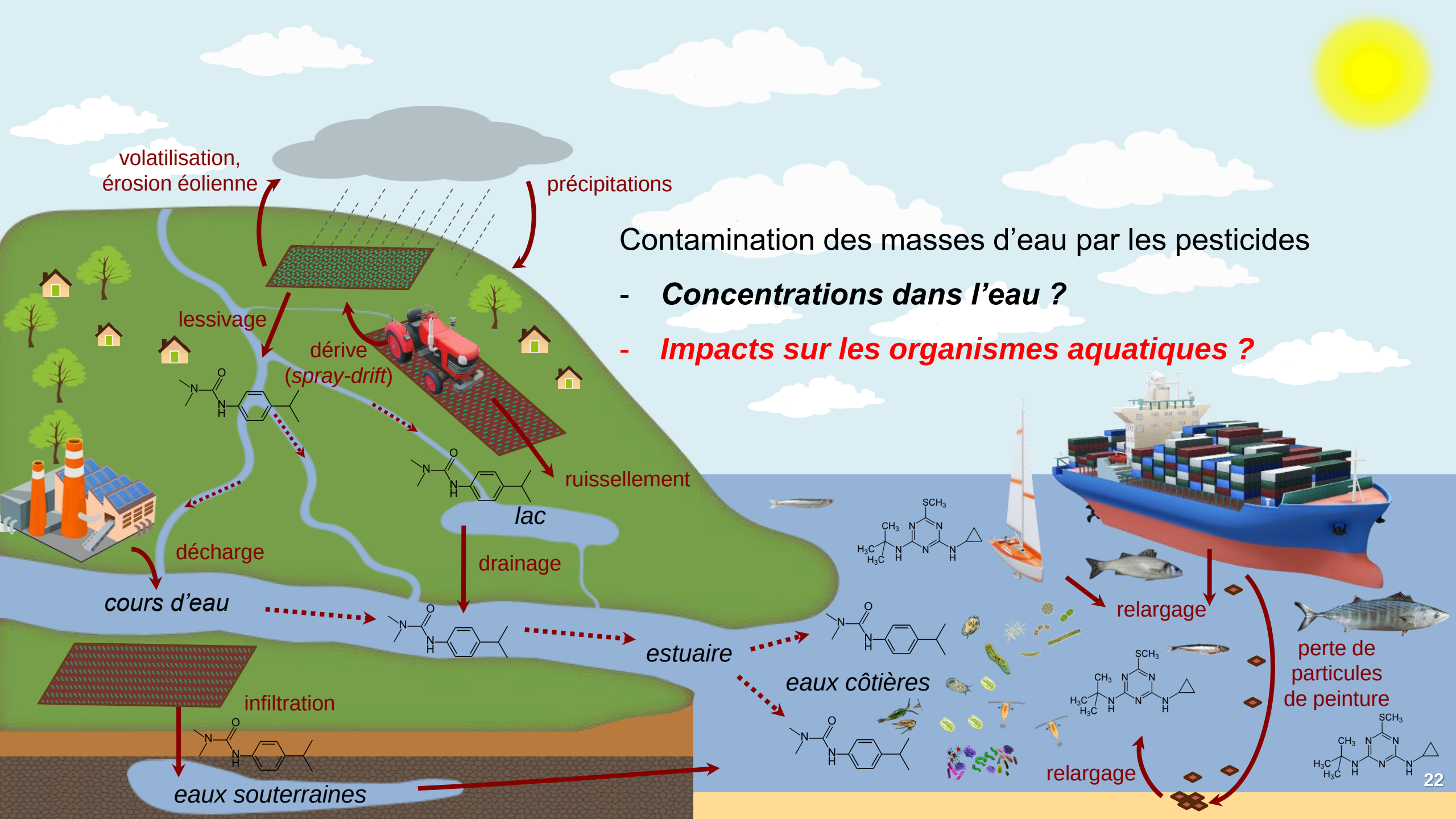
Contamination des masses d'eau par les pesticides

- ***Concentrations dans l'eau ?***



Contamination des masses d'eau par les pesticides

- ***Concentrations dans l'eau ?***
- ***Impacts sur les organismes aquatiques ?***

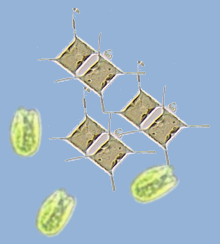


Introduction

Pourquoi s'intéresser au phytoplancton marin ?

Introduction

Pourquoi s'intéresser au phytoplancton marin ?

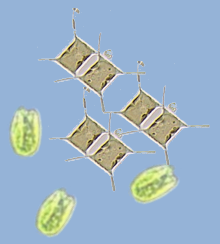


Phytoplancton

Introduction

Pourquoi s'intéresser au phytoplancton marin ?

Producteur primaire



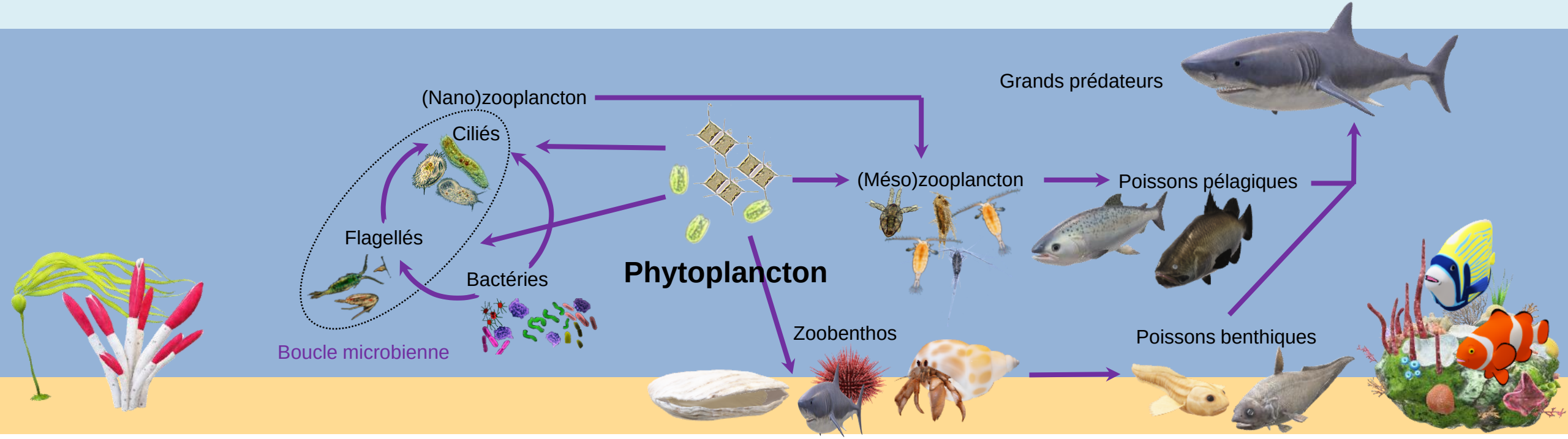
Phytoplancton

Introduction

Pourquoi s'intéresser au phytoplancton marin ?

Producteur primaire

- Base des réseaux trophiques

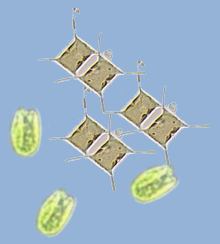


Introduction

Pourquoi s'intéresser au phytoplancton marin ?

Producteur primaire

- Base des réseaux trophiques



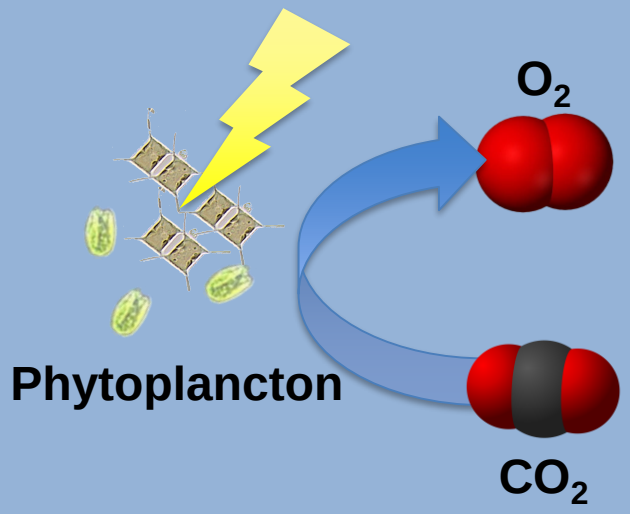
Phytoplancton

Introduction

Pourquoi s'intéresser au phytoplancton marin ?

Producteur primaire

- Base des réseaux trophiques
- Fixation de 50% du CO_2 à l'échelle de la planète (Chuecas *et al.*, 2016)

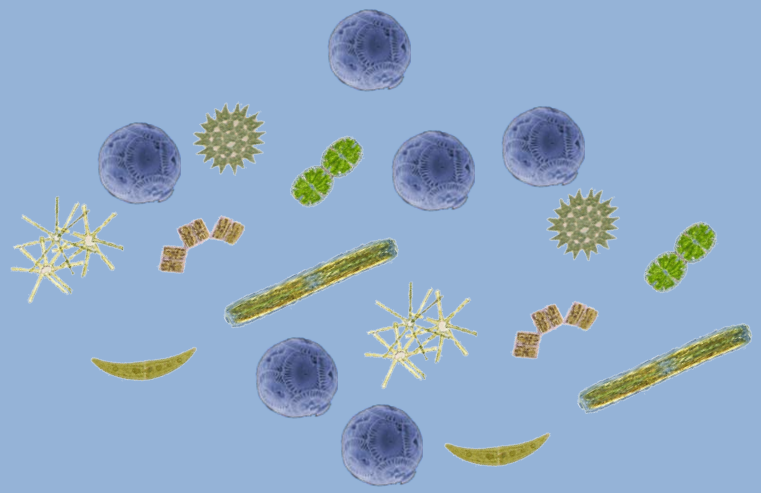


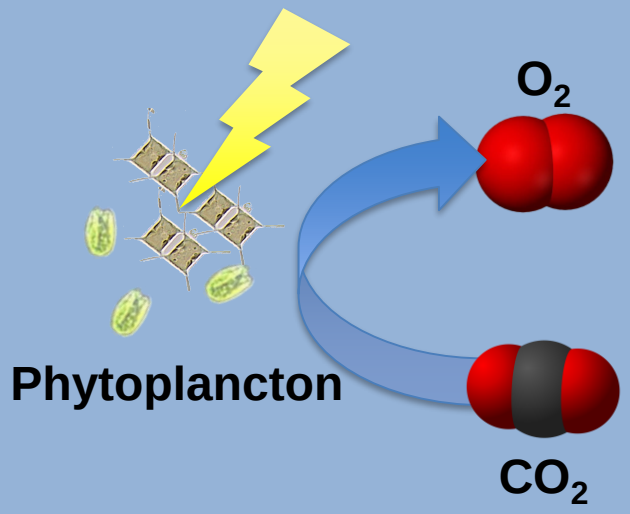
Introduction

Pourquoi s'intéresser au phytoplancton marin ?

Producteur primaire

- Base des réseaux trophiques
- Fixation de 50% du CO_2 à l'échelle de la planète (Chuecas *et al.*, 2016)
- Formidable diversité génétique et phénotypique (Costas *et al.*, 2008)



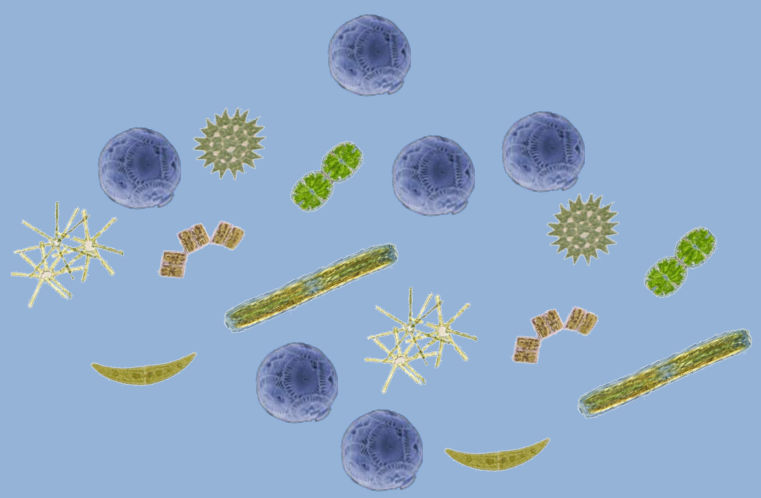


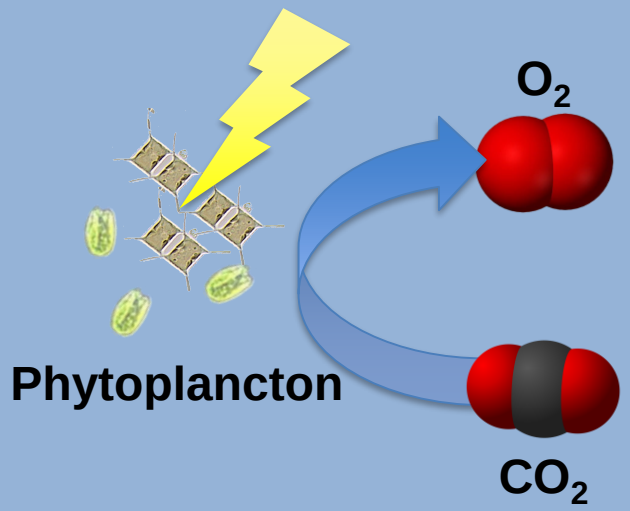
Introduction

Pourquoi s'intéresser au phytoplancton marin ?

Producteur primaire

- Base des réseaux trophiques
- Fixation de 50% du CO_2 à l'échelle de la planète (Chuecas *et al.*, 2016)
- Formidable diversité génétique et phénotypique (Costas *et al.*, 2008)





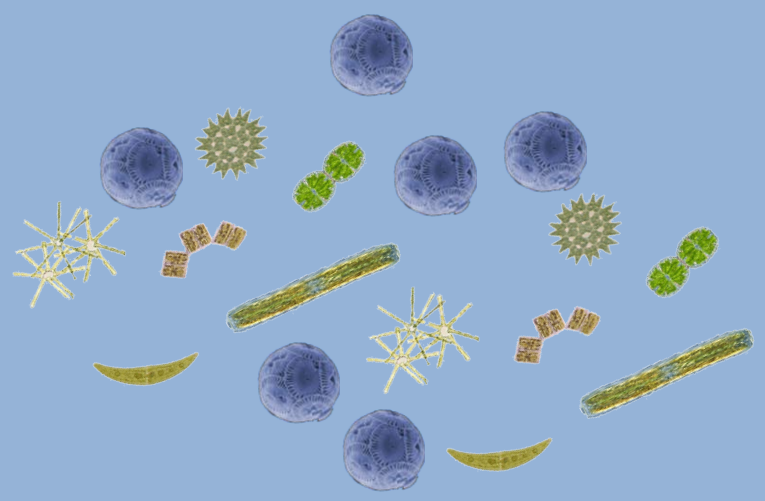
Organisme d'intérêt

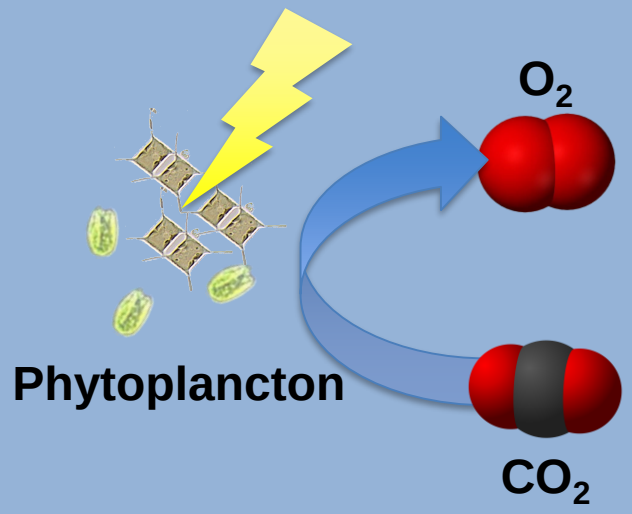
Introduction

Pourquoi s'intéresser au phytoplancton marin ?

Producteur primaire

- Base des réseaux trophiques
- Fixation de 50% du CO_2 à l'échelle de la planète (Chuecas *et al.*, 2016)
- Formidable diversité génétique et phénotypique (Costas *et al.*, 2008)

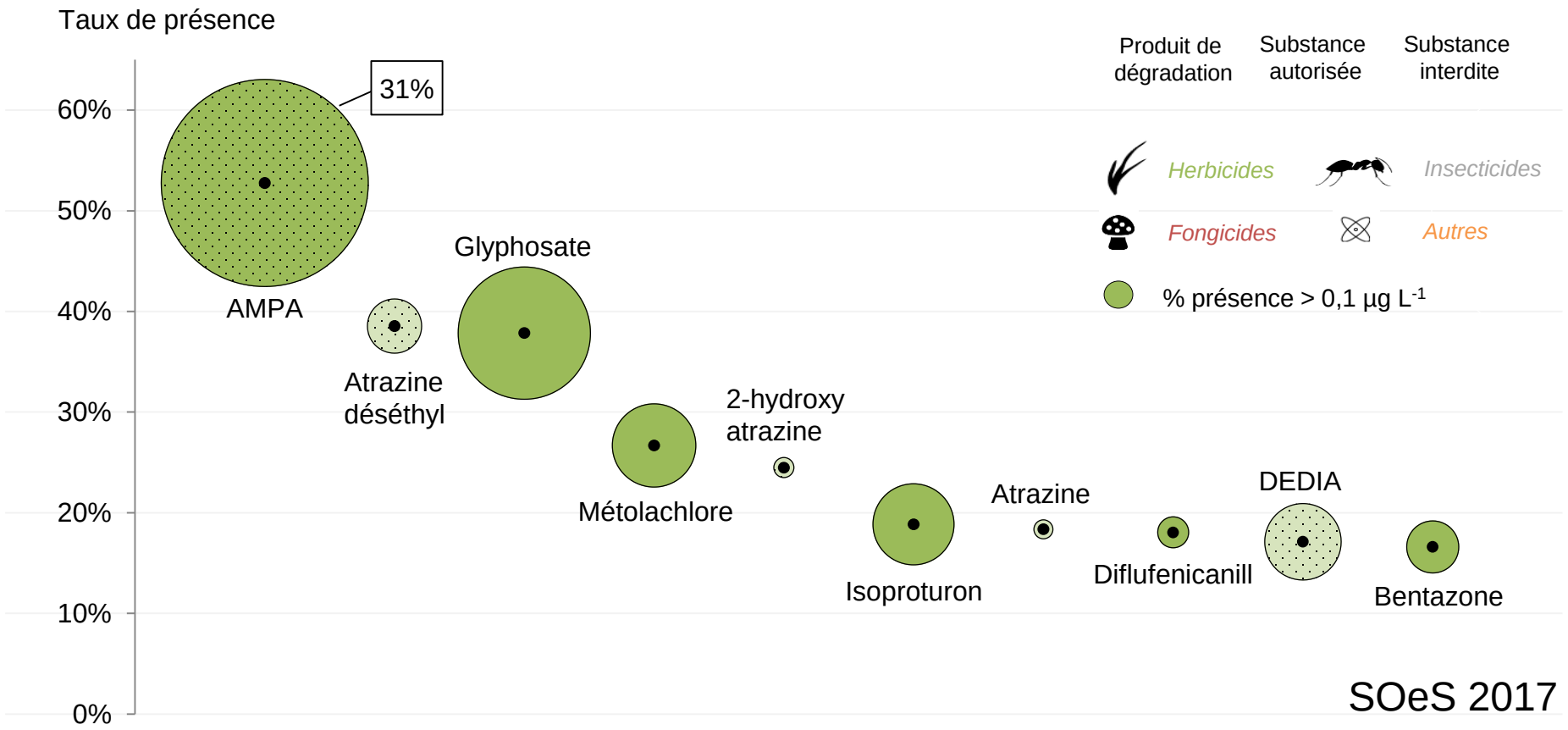




Organisme d'intérêt

Cible des pesticides ?

Introduction

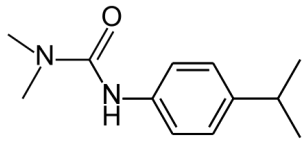


Contamination des masses d'eau (2014) → **Majorité d'herbicides**

Introduction

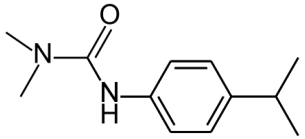
Introduction

Herbicides



Introduction

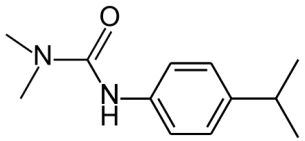
Herbicides



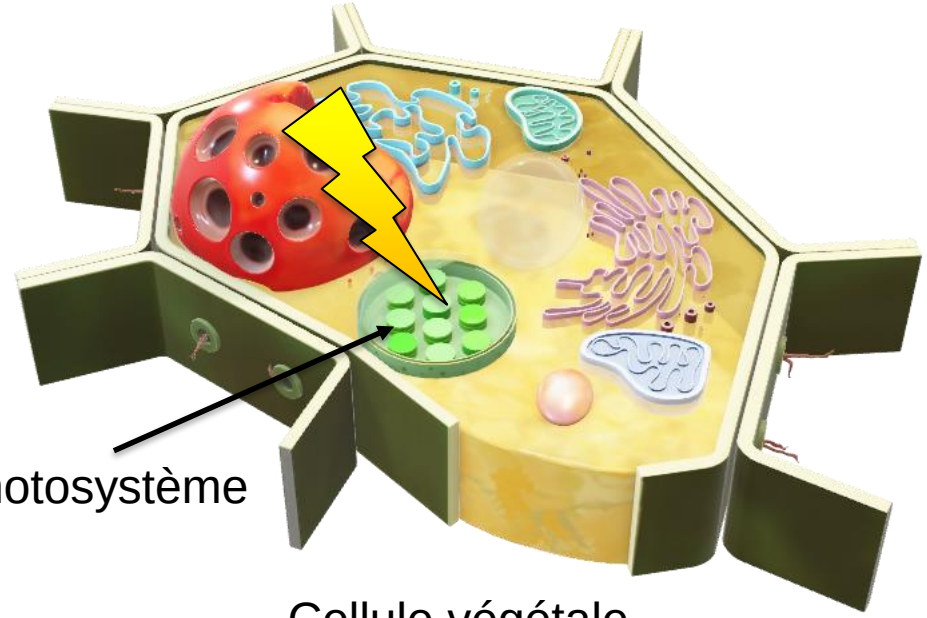
Plantes adventices des cultures

Introduction

Herbicides



Plantes adventices des cultures

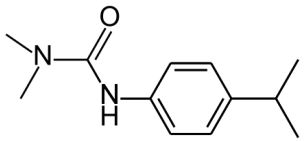


Photosystème

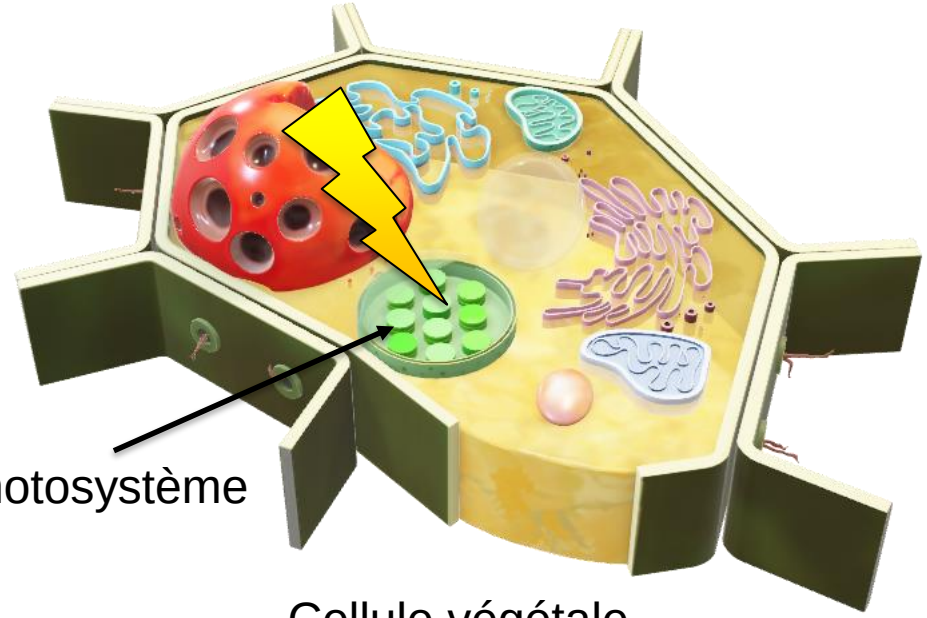
Cellule végétale

Introduction

Herbicides



Plantes adventices des cultures



Photosystème

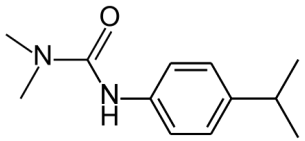
Cellule végétale

Microalgues ?

Structure cellulaire **similaire**

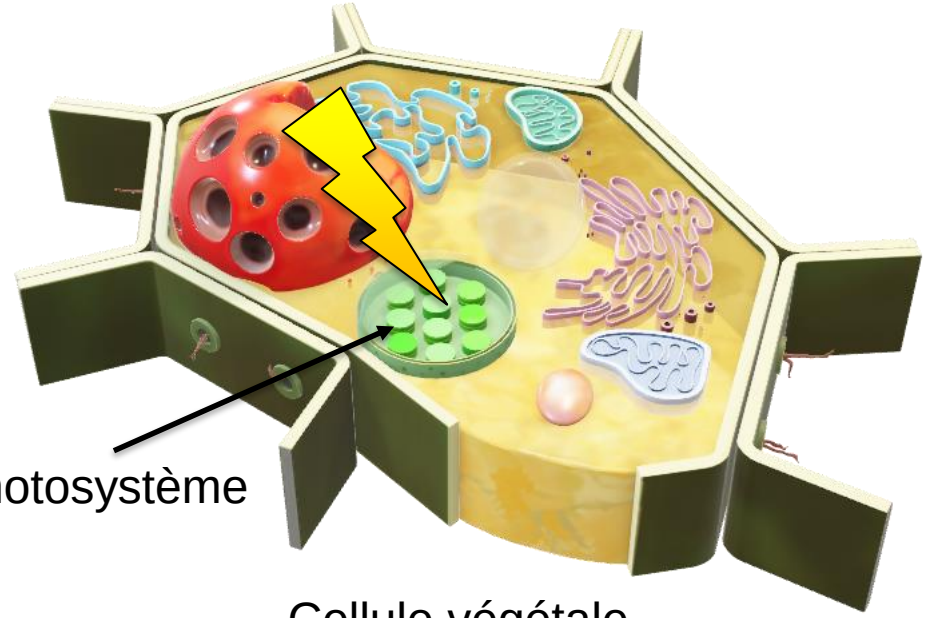
Introduction

Herbicides



Plantes adventices des cultures

Organismes **non-cibles**



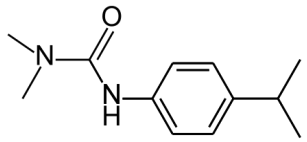
Cellule végétale

Microalgues ?

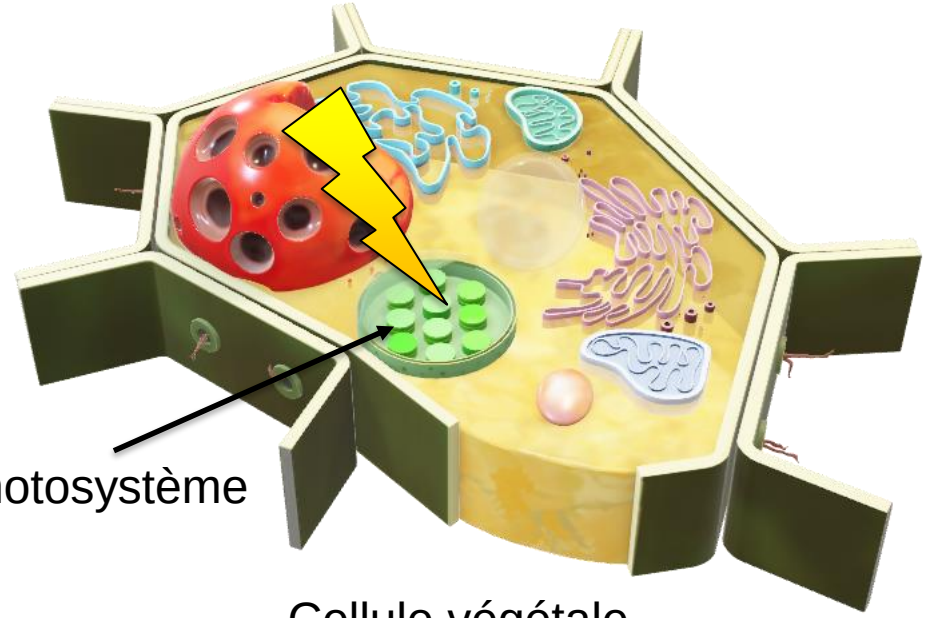
Structure cellulaire **similaire**

Introduction

Herbicides



Plantes adventices des cultures



Photosystème

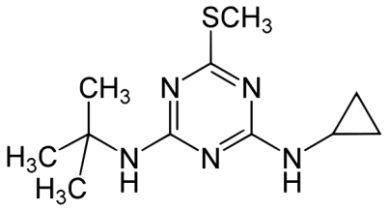
Cellule végétale

Organismes **non-cibles**

Microalgues ?

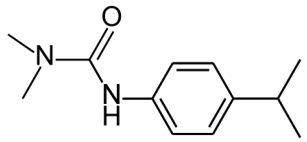
Structure cellulaire **similaire**

Biocides anti-salissures



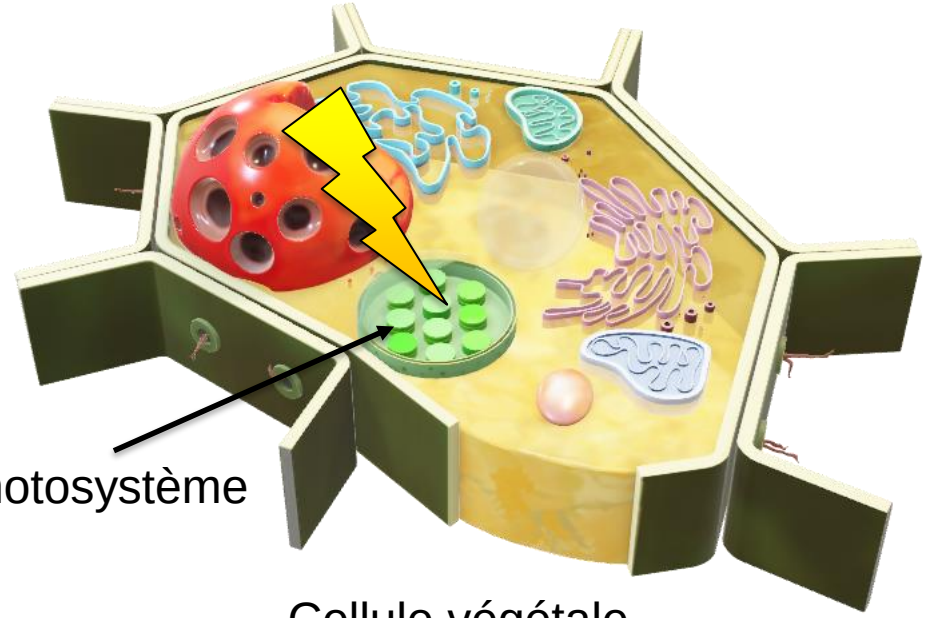
Introduction

Herbicides



Plantes adventices des cultures

Organismes **non-cibles**



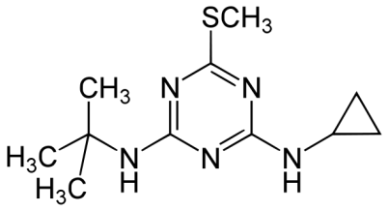
Photosystème

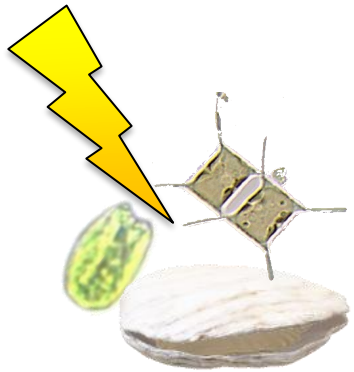
Cellule végétale

Microalgues ?

Structure cellulaire **similaire**

Biocides anti-salissures

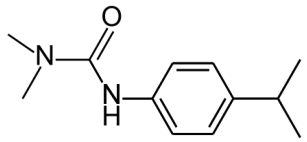




Organismes attachés à la coque

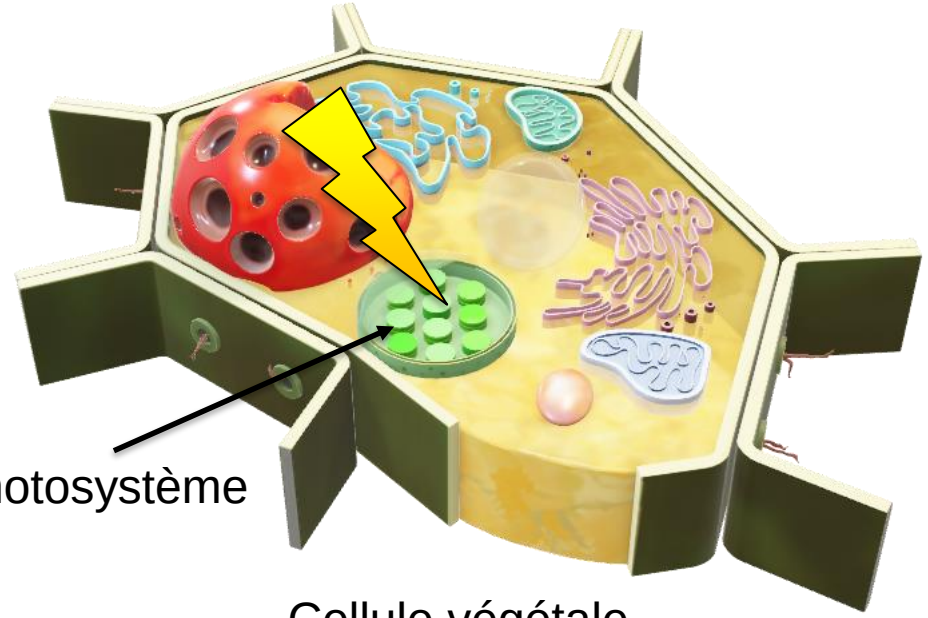
Introduction

Herbicides



Plantes adventices des cultures

Organismes **non-cibles**



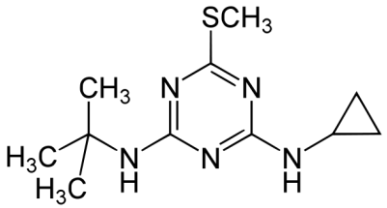
Photosystème

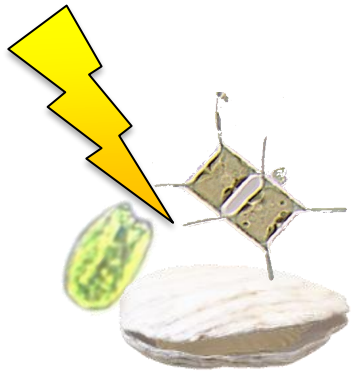
Cellule végétale

Microalgues ?

Structure cellulaire **similaire**

Biocides anti-salissures





Organismes attachés à la coque

Organismes **cibles**

Toxicité potentielle pour le phytoplancton marin

Introduction

- Les masses d'eau sont contaminées par des **mélanges complexes** de pesticides

Introduction

- Les masses d'eau sont contaminées par des **mélanges complexes** de pesticides
- Les organismes sont exposés de manière **chronique** à des **concentrations fluctuantes**

Introduction

- Les masses d'eau sont contaminées par des **mélanges complexes** de pesticides
- Les organismes sont exposés de manière **chronique** à des **concentrations fluctuantes**

Règlementation actuelle (REACH, DCE, DCSMM *etc.*) ?

- Majoritairement basée sur des **valeurs de toxicité individuelles** et issues de bioessais **très standardisés**

Introduction

- Les masses d'eau sont contaminées par des **mélanges complexes** de pesticides
- Les organismes sont exposés de manière **chronique** à des **concentrations fluctuantes**

➡ **Règlementation actuelle (REACH, DCE, DCSMM *etc.*) ?**

- Majoritairement basée sur des **valeurs de toxicité individuelles** et issues de bioessais **très standardisés**

➡ **Insuffisante pour prédire les effets chroniques de plusieurs substances en mélange**

Introduction

- Les masses d'eau sont contaminées par des **mélanges complexes** de pesticides
- Les organismes sont exposés de manière **chronique** à des **concentrations fluctuantes**

⇨ **Règlementation actuelle (REACH, DCE, DCSMM *etc.*) ?**

- Majoritairement basée sur des **valeurs de toxicité individuelles** et issues de bioessais **très standardisés**

⇨ **Insuffisante pour prédire les effets chroniques de plusieurs substances en mélange**

⇨ **Comment évaluer la toxicité des mélanges complexes de contaminants ?**

Introduction

- Les masses d'eau sont contaminées par des **mélanges complexes** de pesticides
- Les organismes sont exposés de manière **chronique** à des **concentrations fluctuantes**

⇨ **Règlementation actuelle (REACH, DCE, DCSMM *etc.*) ?**

- Majoritairement basée sur des **valeurs de toxicité individuelles** et issues de bioessais **très standardisés**

⇨ **Insuffisante pour prédire les effets chroniques de plusieurs substances en mélange**

⇨ **Comment évaluer la toxicité des mélanges complexes de contaminants ?**

- Prédiction de la toxicité des mélanges basée sur la toxicité individuelle des composants du mélanges ?

Introduction

- Les masses d'eau sont contaminées par des **mélanges complexes** de pesticides
- Les organismes sont exposés de manière **chronique** à des **concentrations fluctuantes**

⇒ **Règlementation actuelle (REACH, DCE, DCSMM *etc.*) ?**

- Majoritairement basée sur des **valeurs de toxicité individuelles** et issues de bioessais **très standardisés**

⇒ **Insuffisante pour prédire les effets chroniques de plusieurs substances en mélange**

⇒ **Comment évaluer la toxicité des mélanges complexes de contaminants ?**

- Prédiction de la toxicité des mélanges basée sur la toxicité individuelle des composants du mélanges ?
- Modèles de référence : *Concentration Addition* (CA) et *Independent Action* (IA)

Introduction

- Les masses d'eau sont contaminées par des **mélanges complexes** de pesticides
- Les organismes sont exposés de manière **chronique** à des **concentrations fluctuantes**

⇒ **Règlementation actuelle (REACH, DCE, DCSMM *etc.*) ?**

- Majoritairement basée sur des **valeurs de toxicité individuelles** et issues de bioessais **très standardisés**

⇒ **Insuffisante pour prédire les effets chroniques de plusieurs substances en mélange**

⇒ **Comment évaluer la toxicité des mélanges complexes de contaminants ?**

- Prédiction de la toxicité des mélanges basée sur la toxicité individuelle des composants du mélanges ?
- Modèles de référence : *Concentration Addition* (CA) et *Independent Action* (IA)
- Le modèle CA a été proposé comme approche par défaut (Kortenkamp et al., 2009, Backhaus et al., 2013)

Introduction

- Les masses d'eau sont contaminées par des **mélanges complexes** de pesticides
- Les organismes sont exposés de manière **chronique** à des **concentrations fluctuantes**

⇒ **Règlementation actuelle (REACH, DCE, DCSMM *etc.*) ?**

- Majoritairement basée sur des **valeurs de toxicité individuelles** et issues de bioessais **très standardisés**

⇒ **Insuffisante pour prédire les effets chroniques de plusieurs substances en mélange**

⇒ **Comment évaluer la toxicité des mélanges complexes de contaminants ?**

- Prédiction de la toxicité des mélanges basée sur la toxicité individuelle des composants du mélanges ?
- Modèles de référence : *Concentration Addition* (CA) et *Independent Action* (IA)
- Le modèle CA a été proposé comme approche par défaut (Kortenkamp et al., 2009, Backhaus et al., 2013)
- **Mais…**

Introduction

…Toxicité observée parfois plus de 2 fois supérieure à celle prédite !

Pour le phytoplancton :

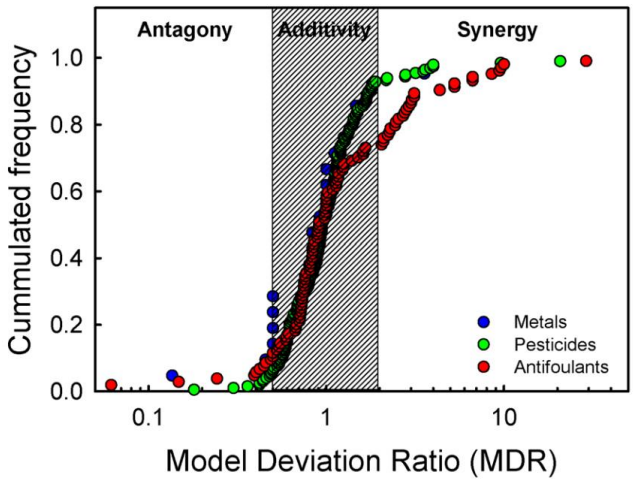
Introduction

…Toxicité observée parfois plus de 2 fois supérieure à celle prédite !

Pour le phytoplancton :

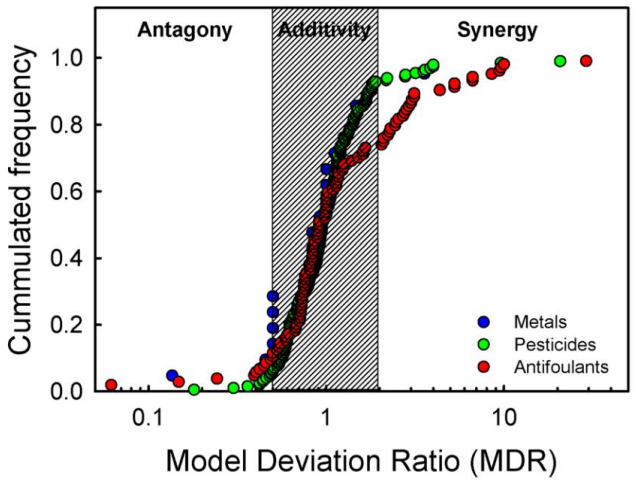
Coors & Frische, 2011

- **45%** des mélanges d'herbicides et **63%** des mélanges de fongicides



Introduction

…Toxicité observée parfois plus de 2 fois supérieure à celle prédite !



Pour le phytoplancton :

Coors & Frische, 2011

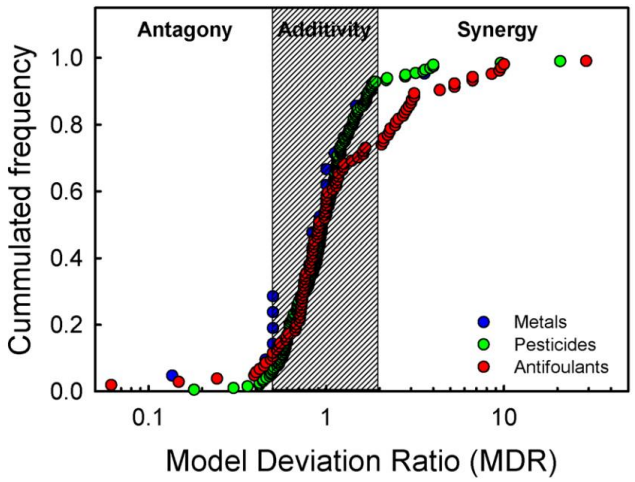
- **45%** des mélanges d'herbicides et **63%** des mélanges de fongicides

Cedergreen, 2014

- **5%** des mélanges de produits phytosanitaires, **26%** des mélanges de biocides anti-salissures

Introduction

…Toxicité observée parfois plus de 2 fois supérieure à celle prédite !



Pour le phytoplancton :

Coors & Frische, 2011

- **45%** des mélanges d'herbicides et **63%** des mélanges de fongicides

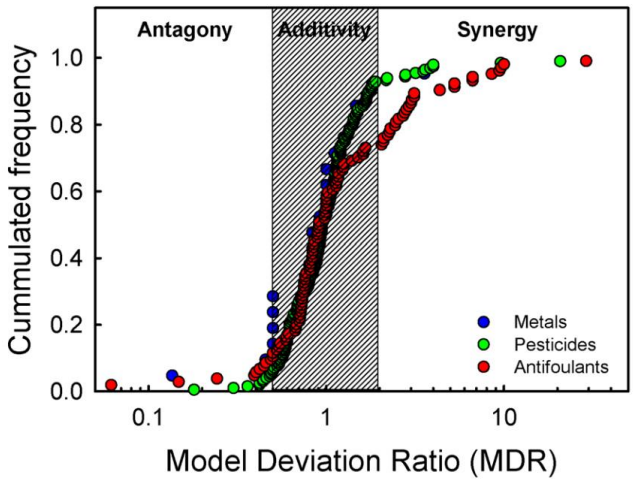
Cedergreen, 2014

- **5%** des mélanges de produits phytosanitaires, **26%** des mélanges de biocides anti-salissures

Limitations évidentes du modèle CA pour certains mélanges

Introduction

…Toxicité observée parfois plus de 2 fois supérieure à celle prédite !



Pour le phytoplancton :

Coors & Frische, 2011

- **45%** des mélanges d'herbicides et **63%** des mélanges de fongicides

Cedergreen, 2014

- **5%** des mélanges de produits phytosanitaires, **26%** des mélanges de biocides anti-salissures

➡ **Limitations évidentes du modèle CA pour certains mélanges**

➡ **Il est urgent de proposer des approches alternatives pour appréhender correctement les effets des mélanges de contaminants**

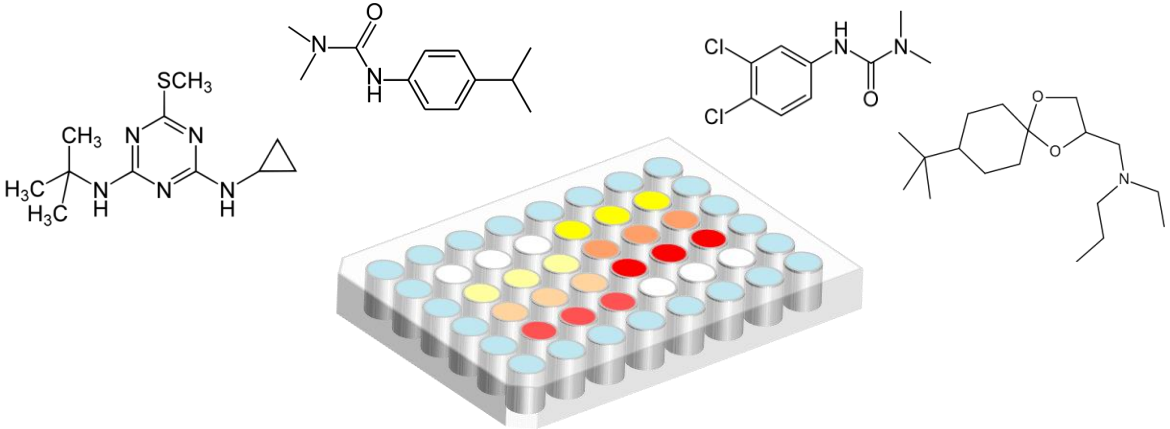
Différentes approches…

I. Toxicité des substances seules

Différentes approches…

I. Toxicité des substances seules

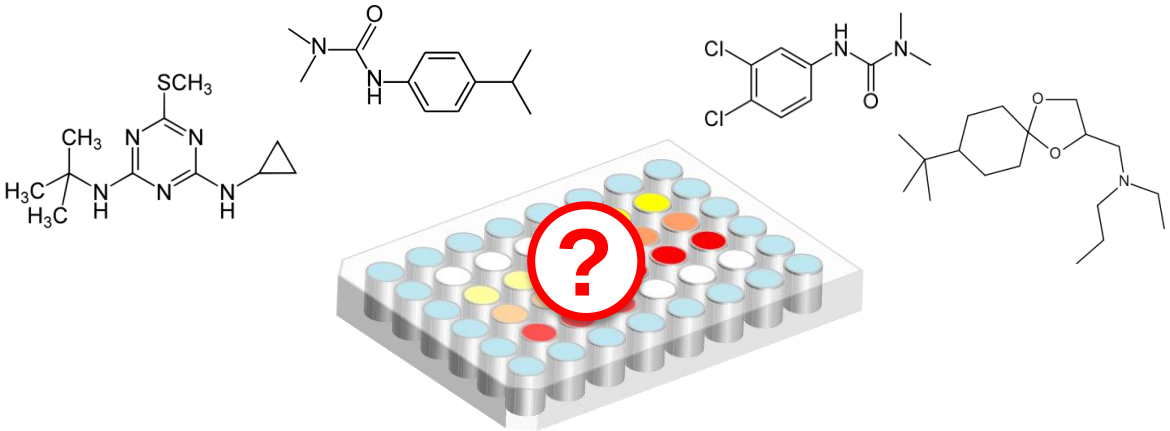
- Développement et validation d'un test de toxicité



Différentes approches…

I. Toxicité des substances seules

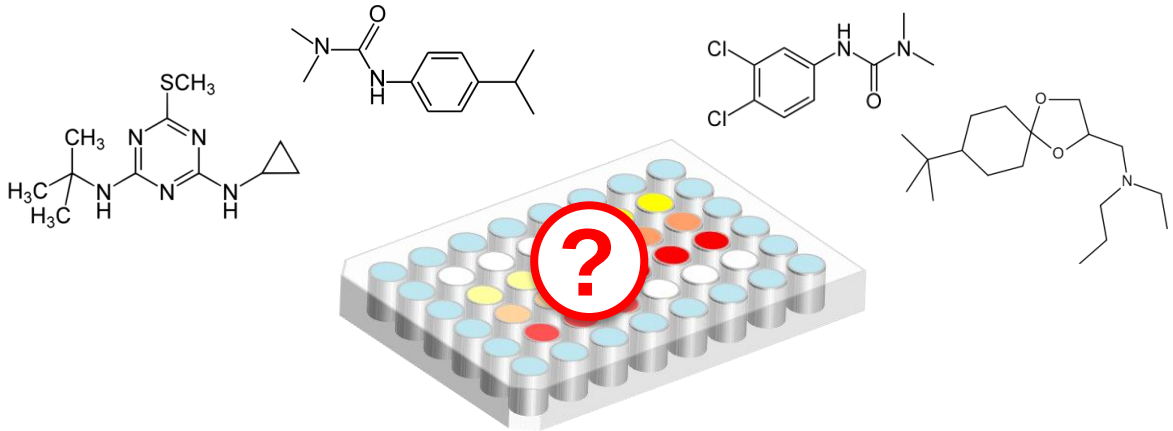
- Développement et validation d'un test de toxicité
- Obtention des courbes et paramètres concentration-réponse pour chaque contaminant



Différentes approches…

I. Toxicité des substances seules

- Développement et validation d'un test de toxicité
- Obtention des courbes et paramètres concentration-réponse pour chaque contaminant

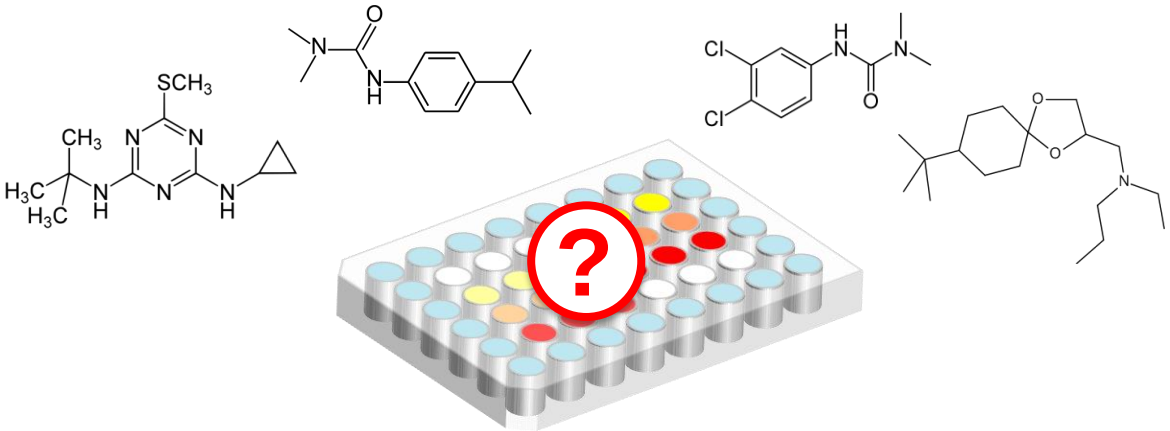


II. Toxicité de mélanges binaires sur la croissance

Différentes approches…

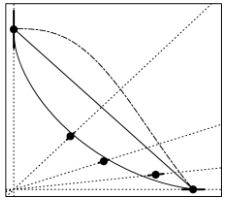
I. Toxicité des substances seules

- Développement et validation d'un test de toxicité
- Obtention des courbes et paramètres concentration-réponse pour chaque contaminant



II. Toxicité de mélanges binaires sur la croissance

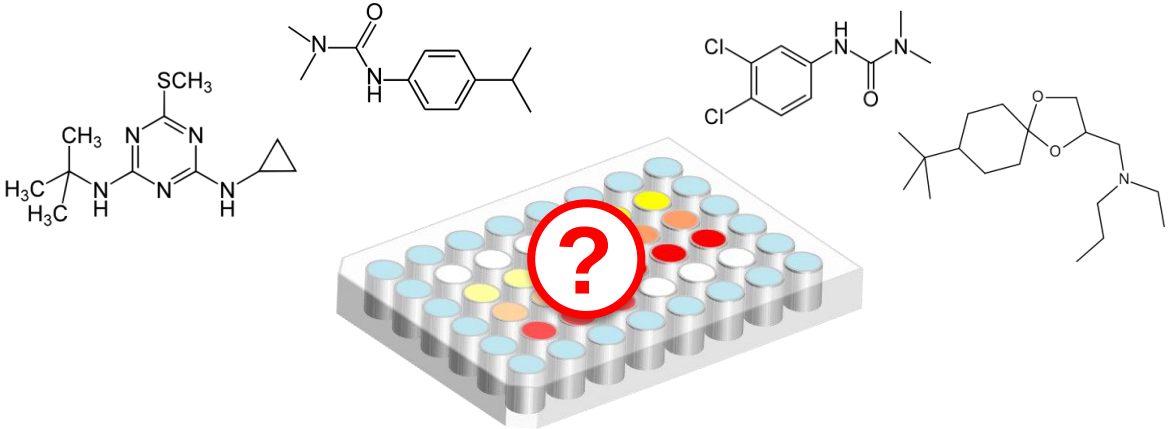
- Introduction à la méthodologie appropriée



Différentes approches…

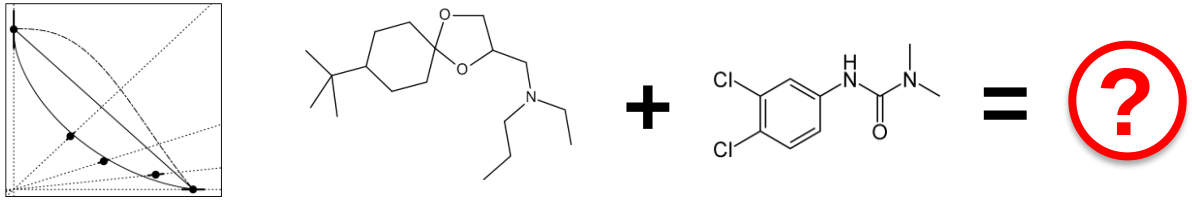
I. Toxicité des substances seules

- Développement et validation d'un test de toxicité
- Obtention des courbes et paramètres concentration-réponse pour chaque contaminant



II. Toxicité de mélanges binaires sur la croissance

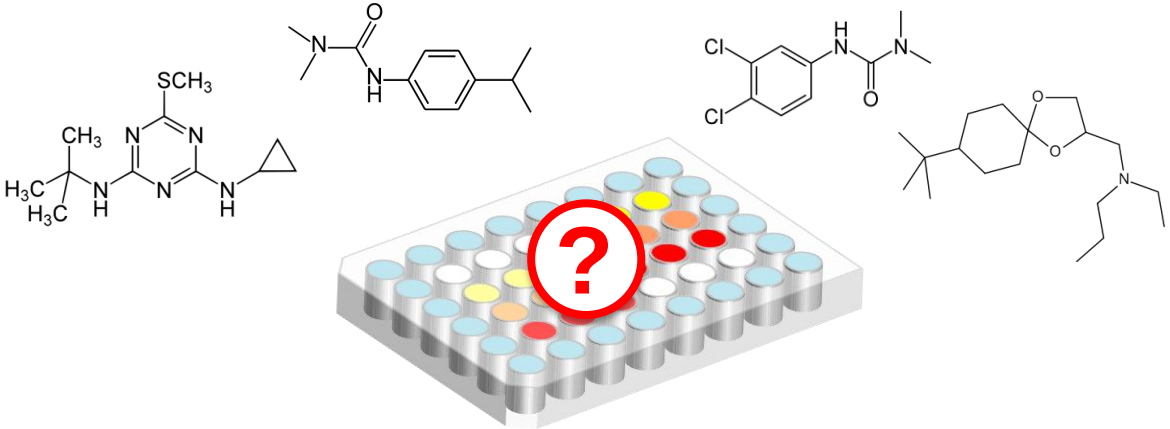
- Introduction à la méthodologie appropriée
- Illustration des interactions en mélanges binaires



Différentes approches…

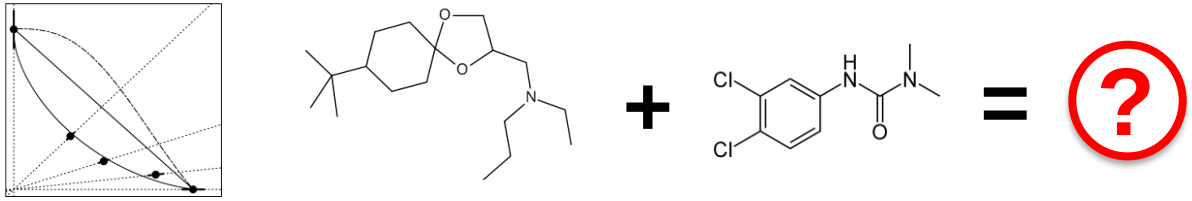
I. Toxicité des substances seules

- Développement et validation d'un test de toxicité
- Obtention des courbes et paramètres concentration-réponse pour chaque contaminant



II. Toxicité de mélanges binaires sur la croissance

- Introduction à la méthodologie appropriée
- Illustration des interactions en mélanges binaires

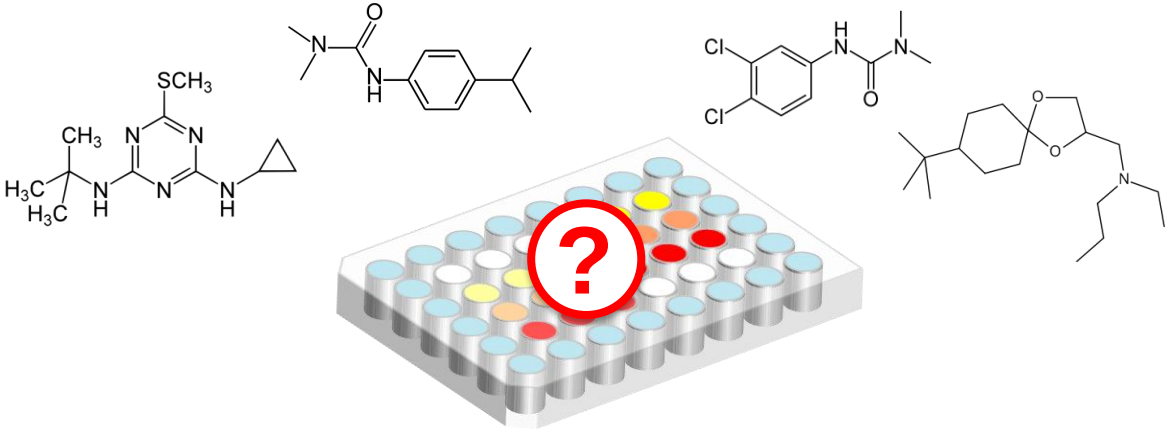


III. Toxicité de mélanges complexes sur la croissance

Différentes approches…

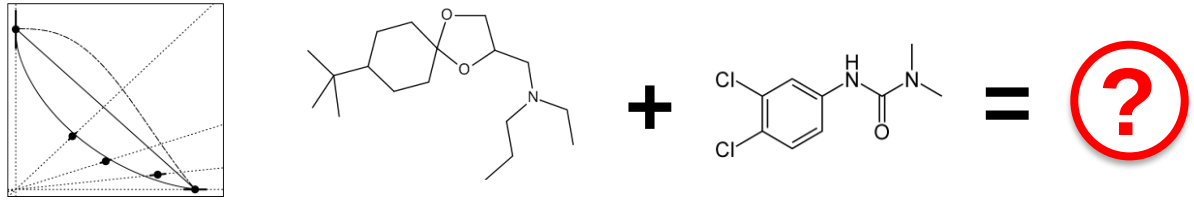
I. Toxicité des substances seules

- Développement et validation d'un test de toxicité
- Obtention des courbes et paramètres concentration-réponse pour chaque contaminant



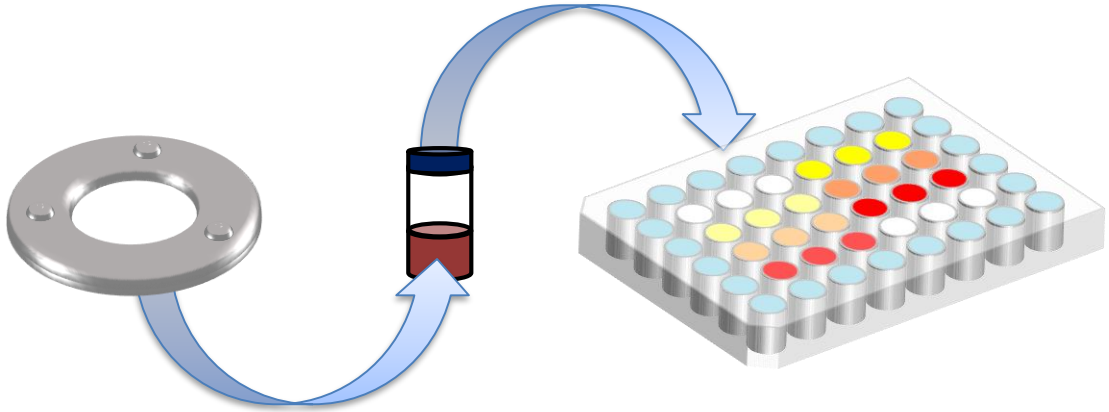
II. Toxicité de mélanges binaires sur la croissance

- Introduction à la méthodologie appropriée
- Illustration des interactions en mélanges binaires



III. Toxicité de mélanges complexes sur la croissance

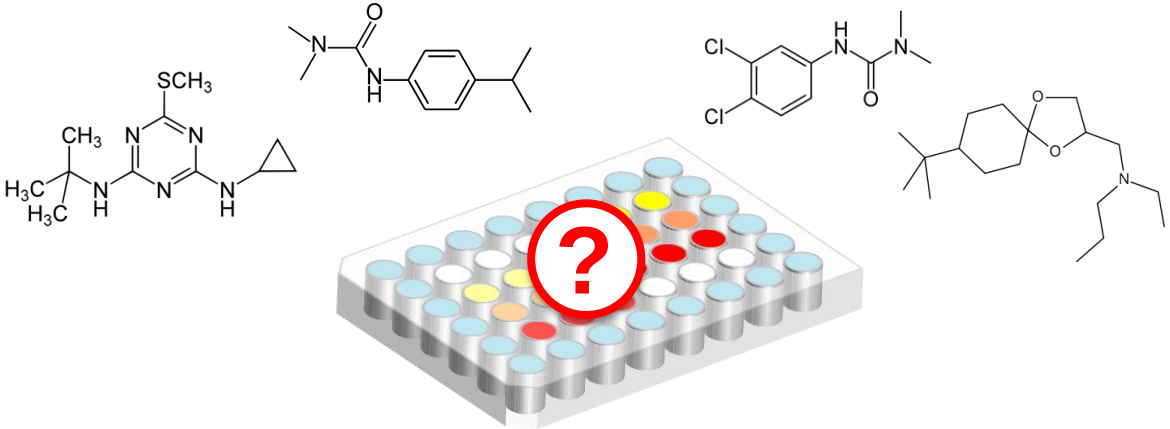
- Évaluation de l'évolution spatio-temporelle du potentiel toxique des extraits de POCIS



Différentes approches…

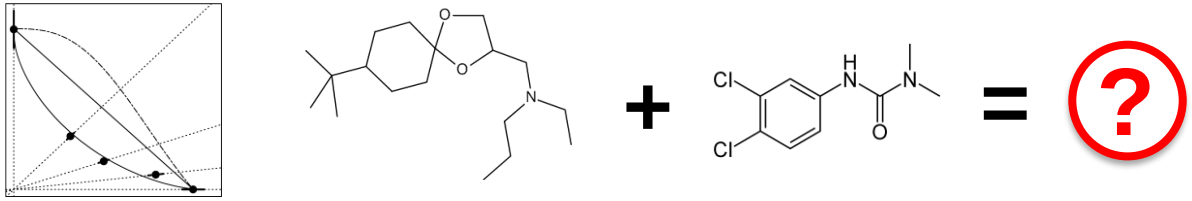
I. Toxicité des substances seules

- Développement et validation d'un test de toxicité
- Obtention des courbes et paramètres concentration-réponse pour chaque contaminant



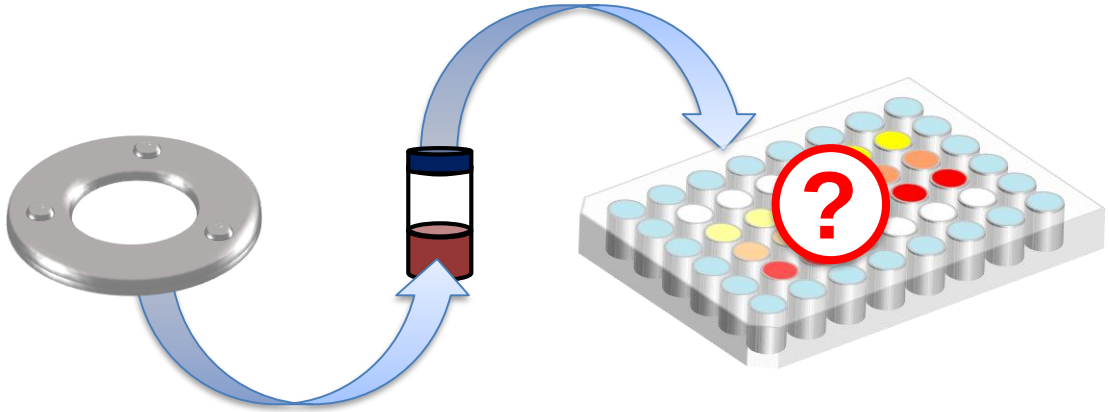
II. Toxicité de mélanges binaires sur la croissance

- Introduction à la méthodologie appropriée
- Illustration des interactions en mélanges binaires

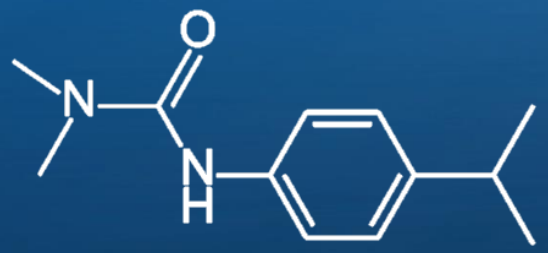


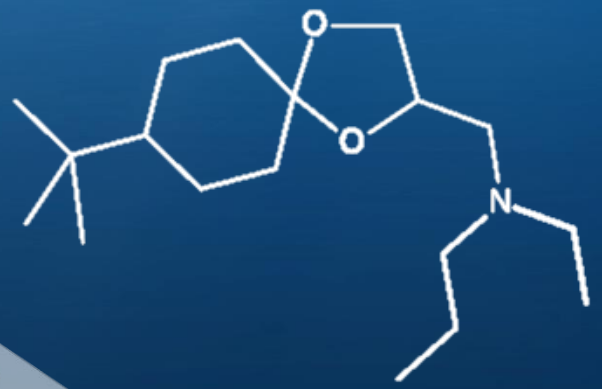
III. Toxicité de mélanges complexes sur la croissance

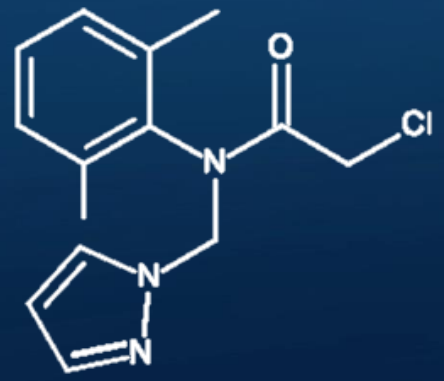
- Évaluation de l'évolution spatio-temporelle du potentiel toxique des extraits de POCIS
- Identification des substances responsables de la toxicité

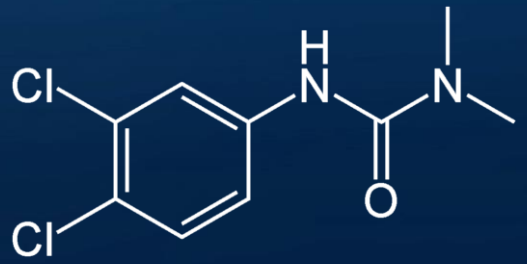


I. Toxicité des substances seules









Liste des 18 substances testées

17 pesticides + 1 métabolite : enquêtes menées sur le site d'étude (IRSTEA Bordeaux, GT1)

Usage	Substance	Famille	Log K_{OW}	Log H	Mode d'action	Autorisation
Herbicides	diuron	phénylurée	2,87	-7,52	inhibition de la photosynthèse au niveau du photosystème II	biocide
	isoproturon	phénylurée	2,50	-4,84		biocide
	flazasulfuron	sulfonlyurée	-0,06	-5,59	inhibition de l'acétolactate synthase (ALS)	viticulture
	métazachlore	chloroacétanilide	2,13	-4,23	inhibition des élongases et de la géranylgéranyl pyrophosphate (GGPP)	viticulture
	S-métolachlore	chloroacétanilide	2,90	-2,66		viticulture
	glyphosate	glycine	-3,20	-6,68	inhibition de l'EPSP synthase	viticulture
	AMPA	(métabolite)	-1,63	-0,80	*n.d.*	

Liste des 18 substances testées

17 pesticides + 1 métabolite : enquêtes menées sur le site d'étude (IRSTEA Bordeaux, GT1)

Usage	Substance	Famille	Log K_{OW}	Log H	Mode d'action	Autorisation
Herbicides	diuron	phénylurée	2,87	-7,52	inhibition de la photosynthèse au niveau du photosystème II	biocide
	isoproturon	phénylurée	2,50	-4,84		biocide
	flazasulfuron	sulfonlyurée	-0,06	-5,59	inhibition de l'acétolactate synthase (ALS)	viticulture
	métazachlore	chloroacétanilide	2,13	-4,23	inhibition des élongases et de la géranylgéranyl pyrophosphate (GGPP)	viticulture
	S-métolachlore	chloroacétanilide	2,90	-2,66		viticulture
	glyphosate	glycine	-3,20	-6,68	inhibition de l'EPSP synthase	viticulture
	AMPA	(métabolite)	-1,63	-0,80	*n.d.*	
Insecticides	α-cyperméthrine	pyréthrinoïde	5,50	-1,16	modulation de la fermeture des canaux sodium voltage-dépendants	viticulture
	acrinathrine	pyréthrinoïde	5,24	-1,97		viticulture
	chlorpyrifos	organophosphoré	4,70	-0,32	inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE)	viticulture
	chlorpyrifos-méthyl	organophosphoré	4,24	-0,63		viticulture
	fipronil	phénylpyrazole	3,75	-3,64	blocage des canaux chlorures associés aux récepteurs GABA	biocide
	imidaclopride	néonicotinoïde	0,57	-9,77	agoniste des récepteurs nicotiniques à acétylcholine	usage restreint

Liste des 18 substances testées

17 pesticides + 1 métabolite : enquêtes menées sur le site d'étude (IRSTEA Bordeaux, GT1)

Usage	Substance	Famille	Log K_{OW}	Log H	Mode d'action	Autorisation
Herbicides	diuron	phénylurée	2,87	-7,52	inhibition de la photosynthèse au niveau du photosystème II	biocide
	isoproturon	phénylurée	2,50	-4,84		biocide
	flazasulfuron	sulfonlyurée	-0,06	-5,59	inhibition de l'acétolactate synthase (ALS)	viticulture
	métazachlore	chloroacétanilide	2,13	-4,23	inhibition des élongases et de la géranylgéranyl pyrophosphate (GGPP)	viticulture
	S-métolachlore	chloroacétanilide	2,90	-2,66		viticulture
	glyphosate	glycine	-3,20	-6,68	inhibition de l'EPSP synthase	viticulture
	AMPA	(métabolite)	-1,63	-0,80	*n.d.*	
Insecticides	α-cyperméthrine	pyréthrinoïde	5,50	-1,16	modulation de la fermeture des canaux sodium voltage-dépendants	viticulture
	acrinathrine	pyréthrinoïde	5,24	-1,97		viticulture
	chlorpyrifos	organophosphoré	4,70	-0,32	inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE)	viticulture
	chlorpyrifos-méthyl	organophosphoré	4,24	-0,63		viticulture
	fipronil	phénylpyrazole	3,75	-3,64	blocage des canaux chlorures associés aux récepteurs GABA	biocide
	imidaclopride	néonicotinoïde	0,57	-9,77	agoniste des récepteurs nicotiniques à acétylcholine	usage restreint
Fongicides	azoxystrobine	strobilurine	2,50	-8,13	inhibition de la chaîne respiratoire au niveau du complexe III	viticulture
	krésoxim-méthyl	strobilurine	3,40	-3,44		viticulture
	quinoxyfène	quinoléine	4,66	-1,50	perturbation de la signalisation cellulaire	viticulture
	spiroxamine	morpholine	2,89	-2,42	inhibition de la synthèse des stérols	viticulture

Liste des 18 substances testées

17 pesticides + 1 métabolite : enquêtes menées sur le site d'étude (IRSTEA Bordeaux, GT1)

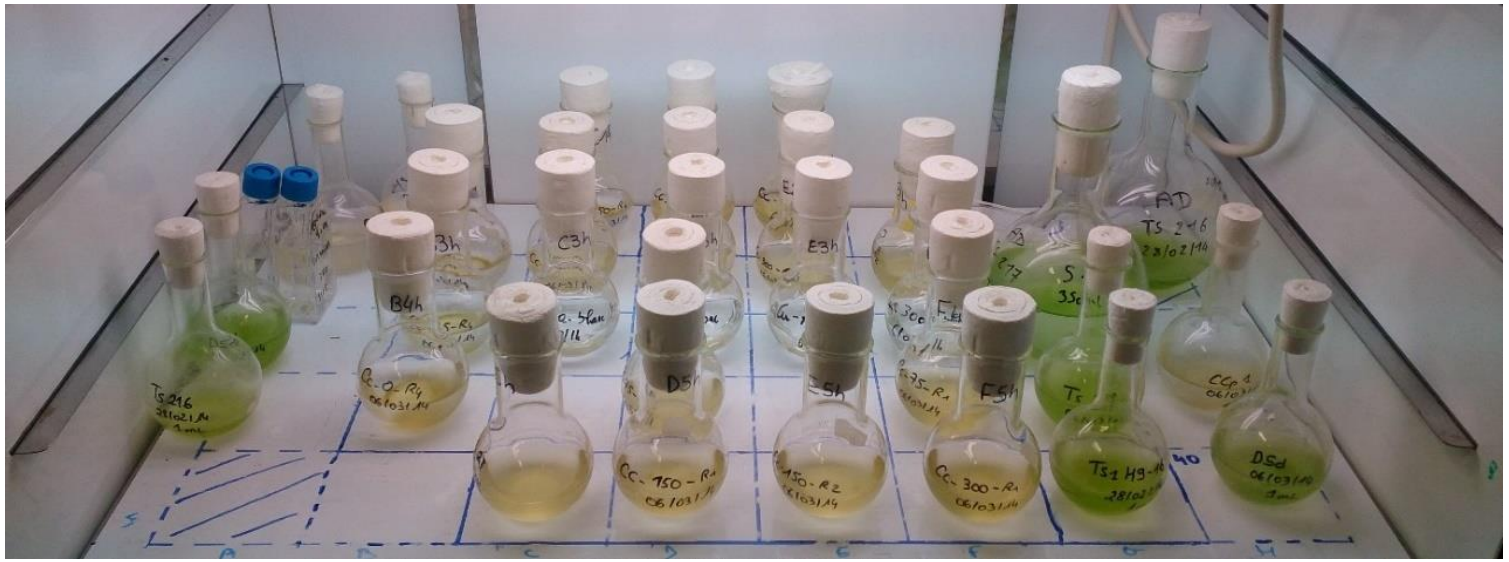
Usage	Substance	Famille	Log K_{OW}	Log H	Mode d'action	Autorisation
Herbicides	diuron	phénylurée	2,87	-7,52	inhibition de la photosynthèse au niveau du photosystème II	biocide
	isoproturon	phénylurée	2,50	-4,84		biocide
	flazasulfuron	sulfonlyurée	-0,06	-5,59	inhibition de l'acétolactate synthase (ALS)	viticulture
	métazachlore	chloroacétanilide	2,13	-4,23	inhibition des élongases et de la géranylgéranyl pyrophosphate (GGPP)	viticulture
	S-métolachlore	chloroacétanilide	2,90	-2,66		viticulture
	glyphosate	glycine	-3,20	-6,68	inhibition de l'EPSP synthase	viticulture
	AMPA	(métabolite)	-1,63	-0,80	*n.d.*	
Insecticides	α-cyperméthrine	pyréthrinoïde	5,50	-1,16	modulation de la fermeture des canaux sodium voltage-dépendants	viticulture
	acrinathrine	pyréthrinoïde	5,24	-1,97		viticulture
	chlorpyrifos	organophosphoré	4,70	-0,32	inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE)	viticulture
	chlorpyrifos-méthyl	organophosphoré	4,24	-0,63		viticulture
	fipronil	phénylpyrazole	3,75	-3,64	blocage des canaux chlorures associés aux récepteurs GABA	biocide
	imidaclopride	néonicotinoïde	0,57	-9,77	agoniste des récepteurs nicotiniques à acétylcholine	usage restreint
Fongicides	azoxystrobine	strobilurine	2,50	-8,13	inhibition de la chaîne respiratoire au niveau du complexe III	viticulture
	krésoxim-méthyl	strobilurine	3,40	-3,44		viticulture
	quinoxyfène	quinoléine	4,66	-1,50	perturbation de la signalisation cellulaire	viticulture
	spiroxamine	morpholine	2,89	-2,42	inhibition de la synthèse des stérols	viticulture

Évaluation de la toxicité d'une substance

Criblage de toxicité des 18 substances

Choix des organismes à tester

Cultures de microalgues en phase exponentielle de croissance



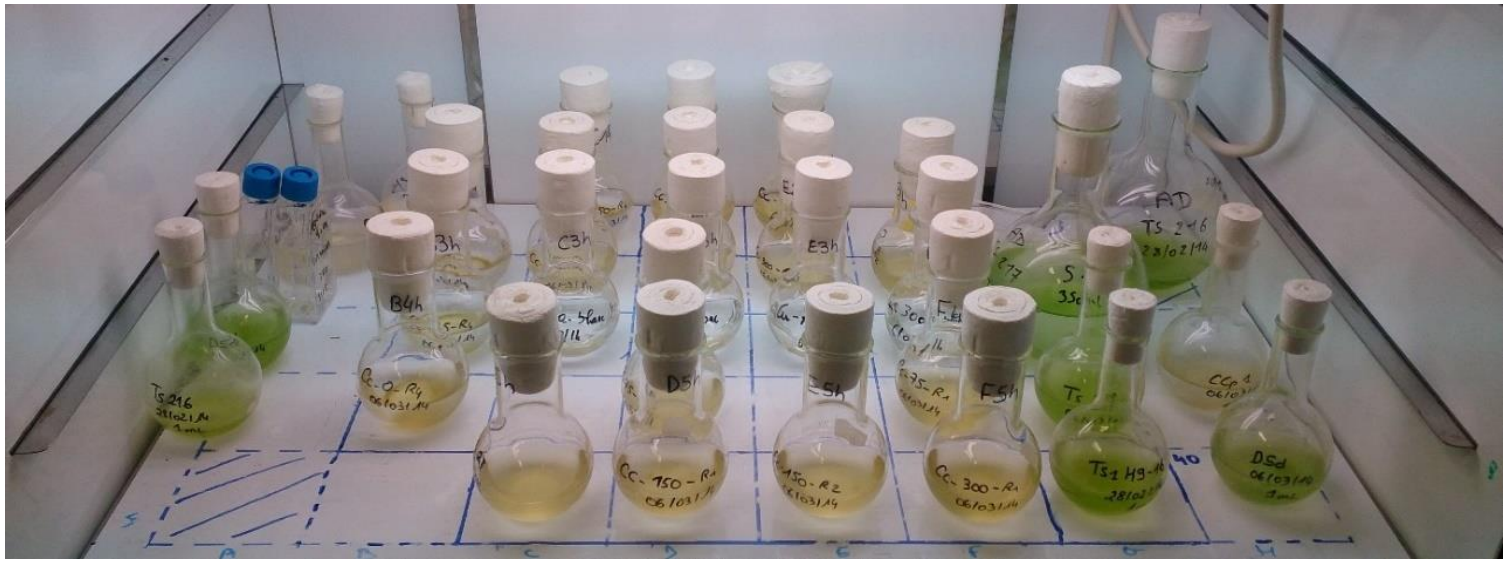
Température : 20 ± 1°C Intensité lumineuse : 130 µmol m^{-2} s^{-1} Cycle jour/nuit : 16:8 h

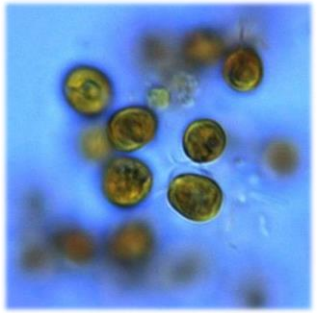
Évaluation de la toxicité d'une substance

Criblage de toxicité des 18 substances

Choix des organismes à tester

Cultures de microalgues en phase exponentielle de croissance





Tisochrysis lutea

Haptophyte

Espèce tropicale

Aquaculture, biotechnologie

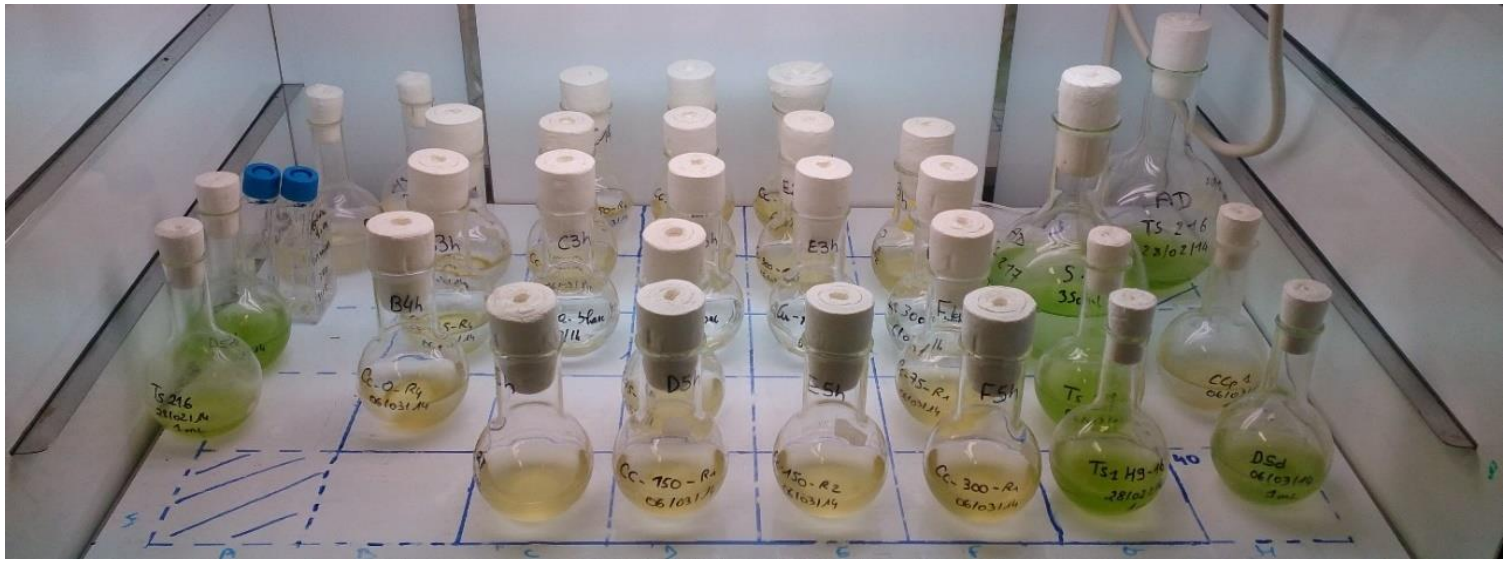
Température : 20 ± 1°C Intensité lumineuse : 130 µmol m^{-2} s^{-1} Cycle jour/nuit : 16:8 h

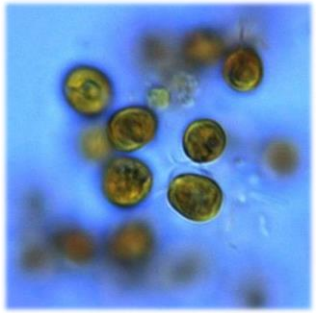
Évaluation de la toxicité d'une substance

Criblage de toxicité des 18 substances

Choix des organismes à tester

Cultures de microalgues en phase exponentielle de croissance



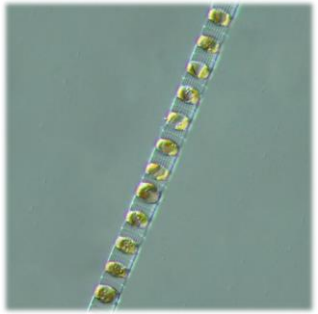


Tisochrysis lutea

Haptophyte

Espèce tropicale

Aquaculture, biotechnologie



Skeletonema marinoi

Bacillariophyte (diatomée)

Espèce endémique

Aquaculture, biotechnologie

Température : 20 ± 1°C Intensité lumineuse : 130 µmol m^{-2} s^{-1} Cycle jour/nuit : 16:8 h

Évaluation de la toxicité d'une substance

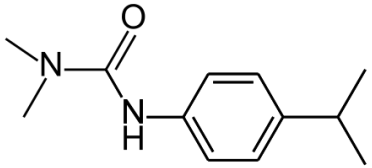
Comment effectuer le criblage de toxicité de ces 18 substances ?

Évaluation de la toxicité d'une substance

Culture de microalgues

Paramètre physiologique suivi

→ taux de croissance μ



Exposition à une
gamme de concentrations

Évaluation de la toxicité d'une substance

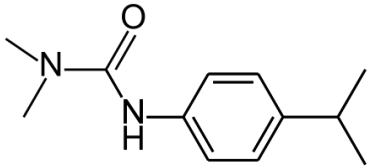
Comment effectuer le criblage de toxicité de ces 18 substances ?

Évaluation de la toxicité d'une substance

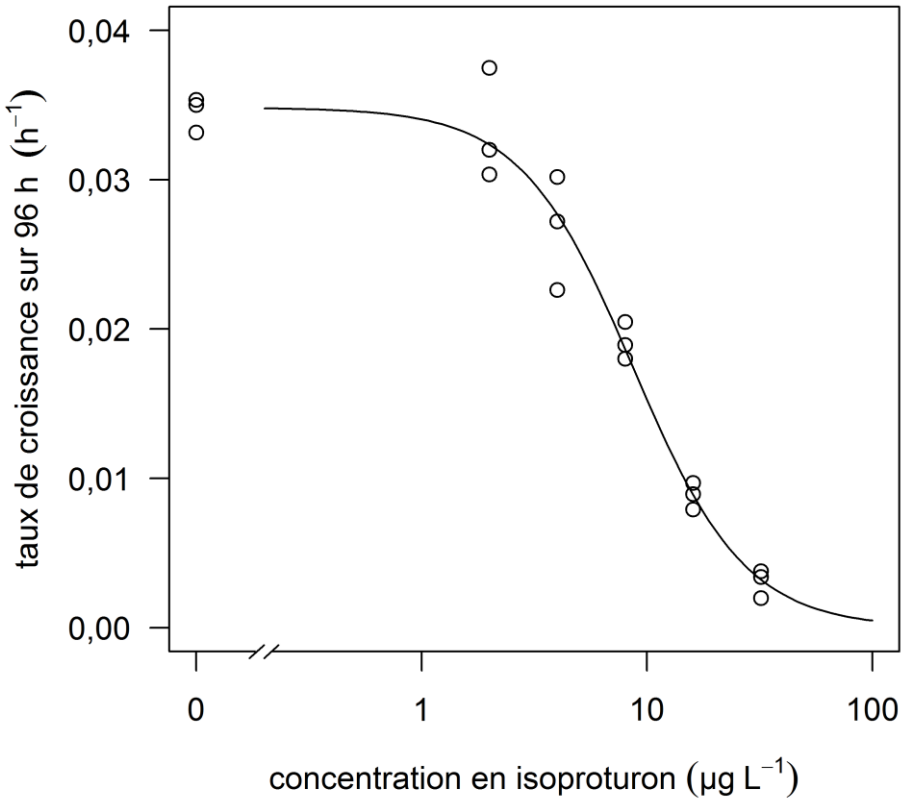
Culture de microalgues

Paramètre physiologique suivi

→ taux de croissance μ



Exposition à une gamme de concentrations



Évaluation de la toxicité d'une substance

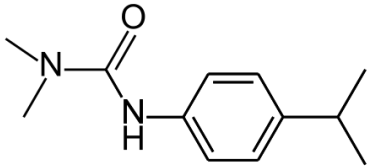
Comment effectuer le criblage de toxicité de ces 18 substances ?

Évaluation de la toxicité d'une substance

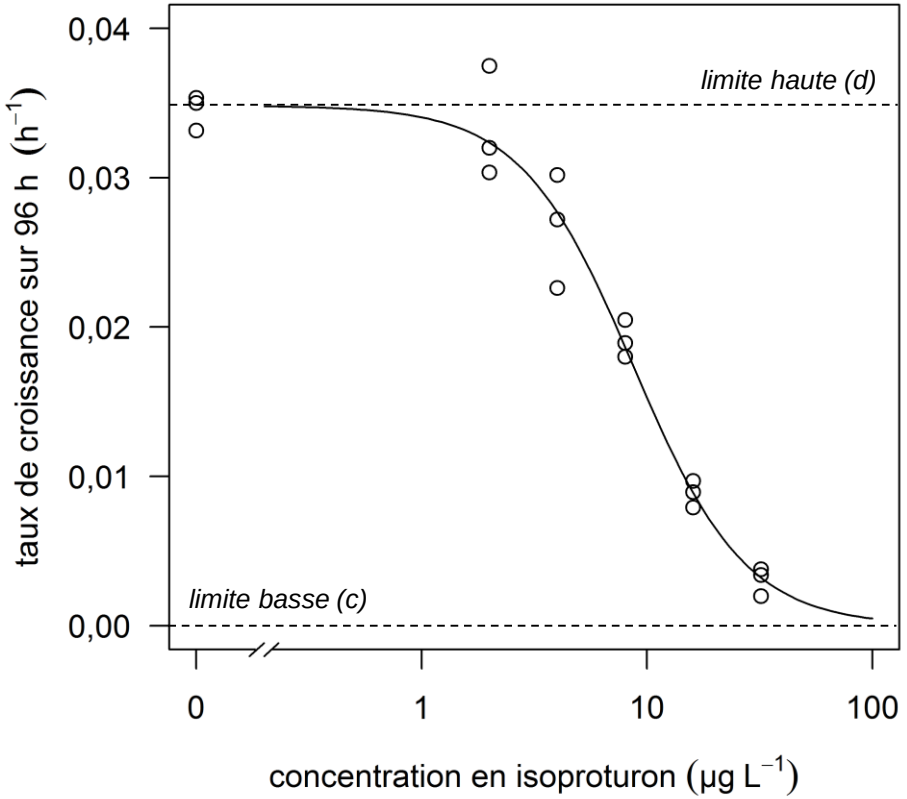
Culture de microalgues

Paramètre physiologique suivi

→ taux de croissance μ



Exposition à une gamme de concentrations



Évaluation de la toxicité d'une substance

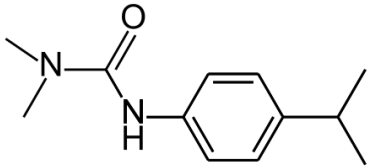
Comment effectuer le criblage de toxicité de ces 18 substances ?

Évaluation de la toxicité d'une substance

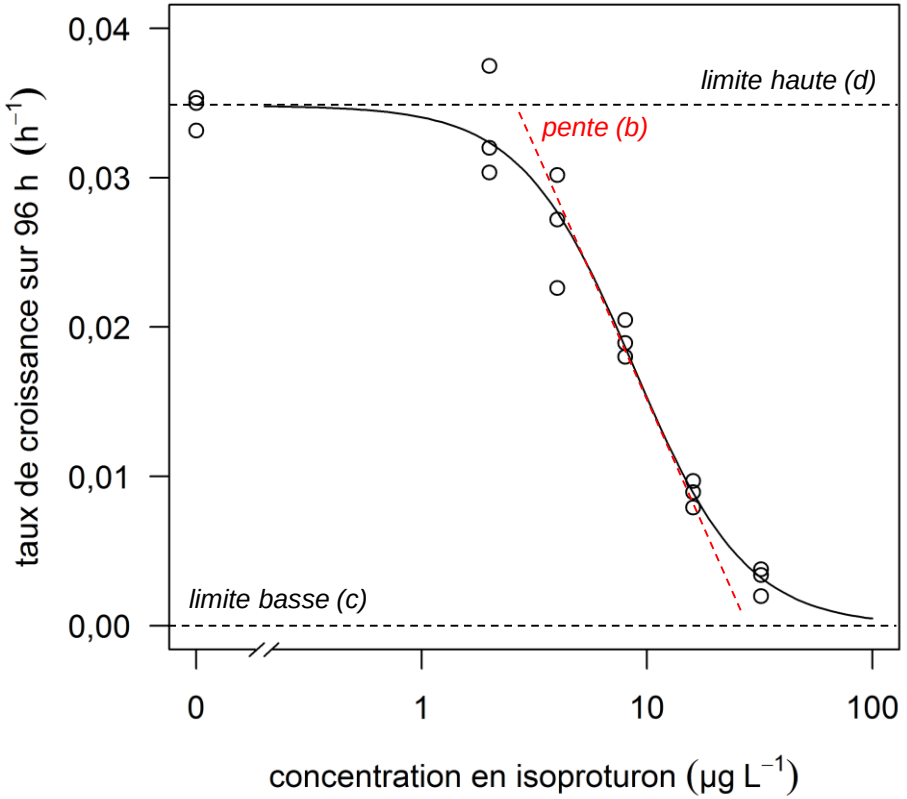
Culture de microalgues

Paramètre physiologique suivi

→ taux de croissance μ



Exposition à une gamme de concentrations



Évaluation de la toxicité d'une substance

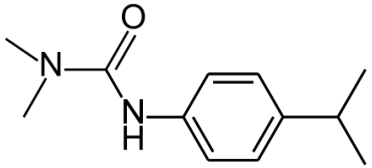
Comment effectuer le criblage de toxicité de ces 18 substances ?

Évaluation de la toxicité d'une substance

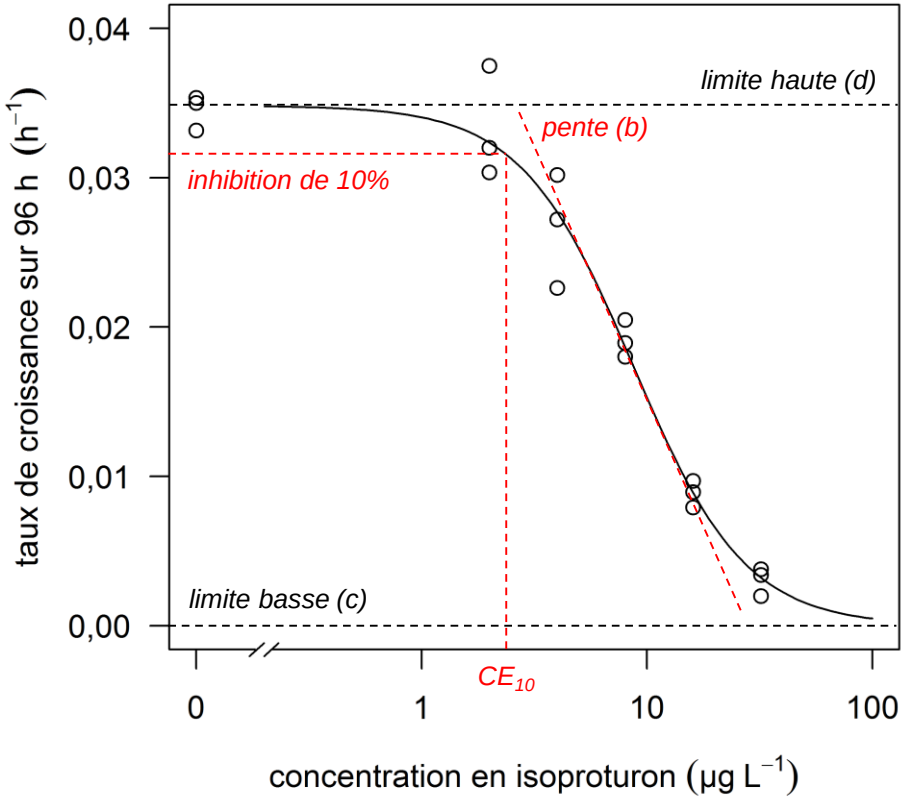
Culture de microalgues

Paramètre physiologique suivi

→ taux de croissance μ



Exposition à une gamme de concentrations



Évaluation de la toxicité d'une substance

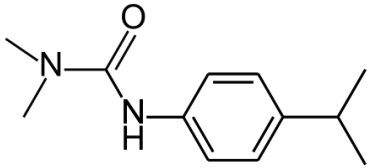
Comment effectuer le criblage de toxicité de ces 18 substances ?

Évaluation de la toxicité d'une substance

Culture de microalgues

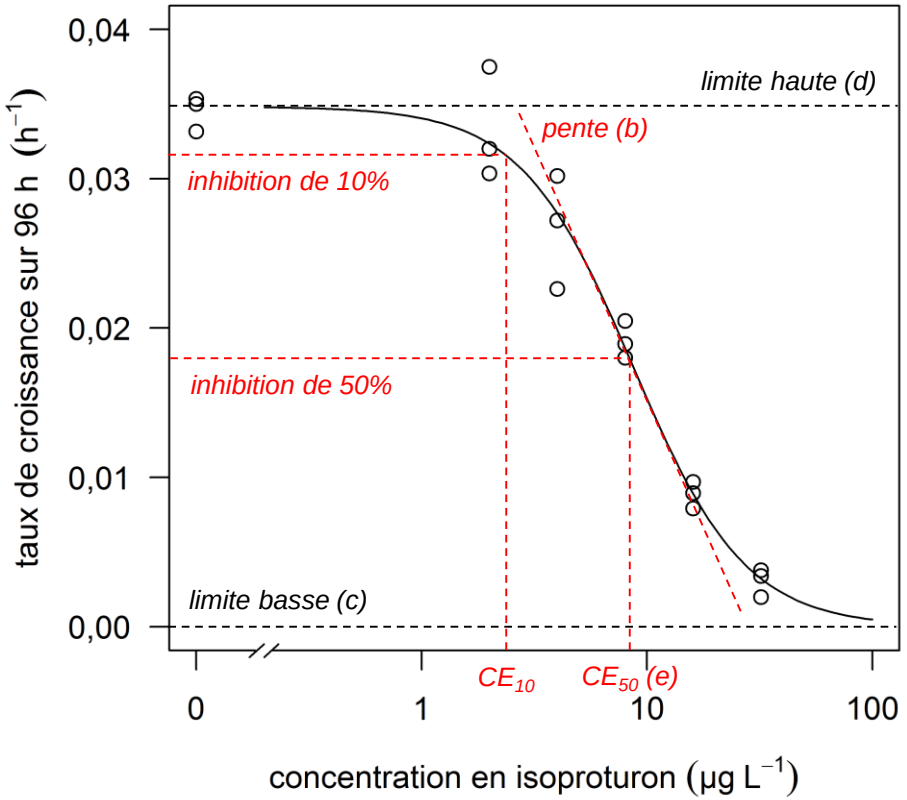
Paramètre physiologique suivi

→ taux de croissance μ



Exposition à une gamme de concentrations

→ **CE_{50}** : **C**oncentration **E**ffective induisant **50%** d'inhibition



Évaluation de la toxicité d'une substance

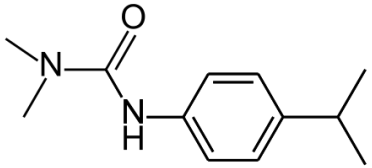
Comment effectuer le criblage de toxicité de ces 18 substances ?

Évaluation de la toxicité d'une substance

Culture de microalgues

Paramètre physiologique suivi

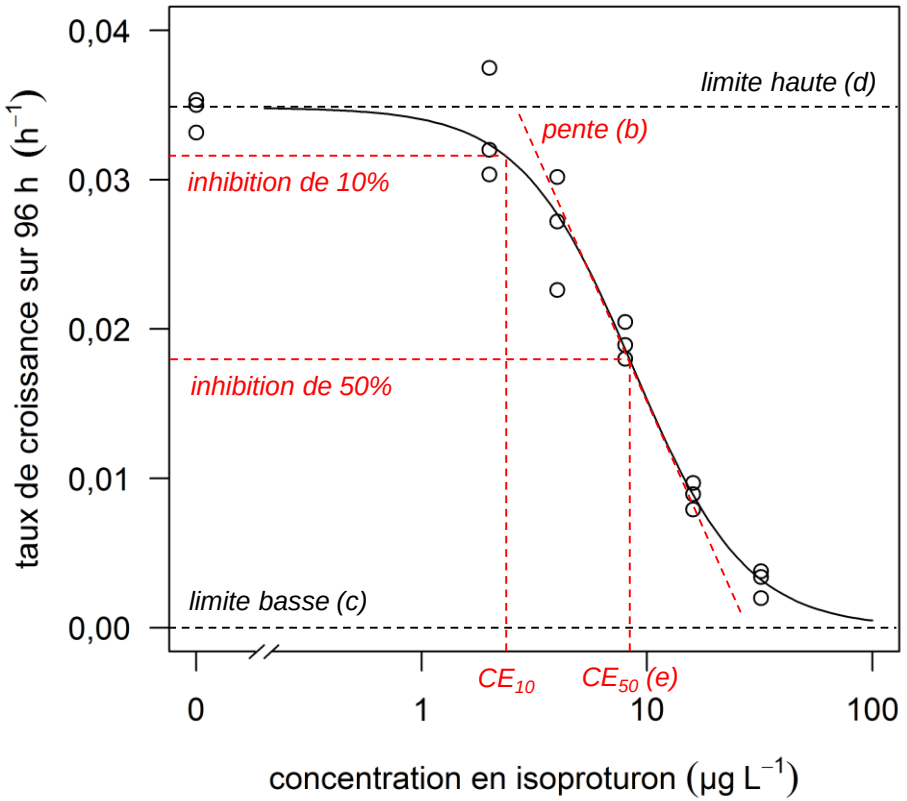
→ taux de croissance μ



Exposition à une gamme de concentrations

→ **CE_{50}** : **C**oncentration **E**ffective induisant **50%** d'inhibition

Besoins du test
- **Miniaturisé**
- **Rapide**
- **Peu coûteux**
- **Fiable**



Évaluation de la toxicité d'une substance

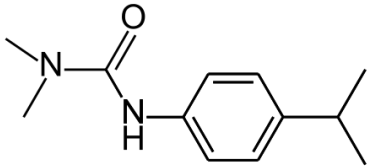
Comment effectuer le criblage de toxicité de ces 18 substances ?

Évaluation de la toxicité d'une substance

Culture de microalgues

Paramètre physiologique suivi

→ taux de croissance μ

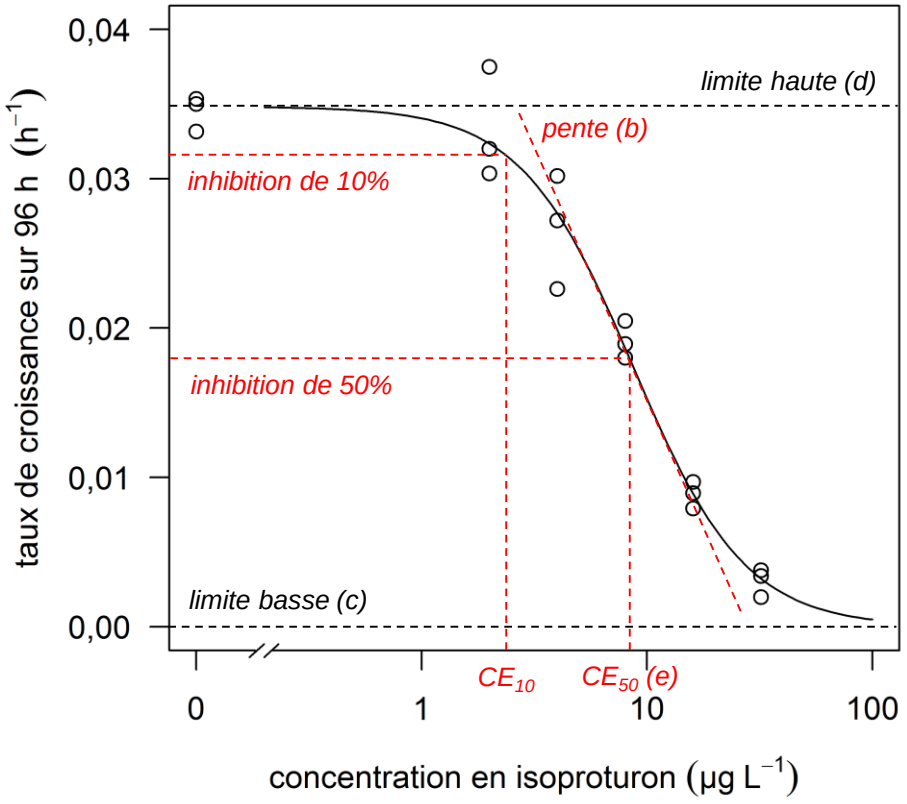


Exposition à une gamme de concentrations

→ **CE_{50}** : **C**oncentration **E**ffective induisant **50%** d'inhibition

Besoins du test
- **Miniaturisé**
- **Rapide**
- **Peu coûteux**
- **Fiable**

Ballons de culture ?



Évaluation de la toxicité d'une substance

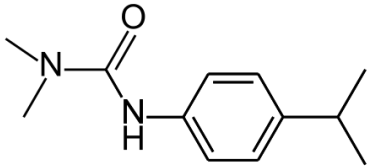
Comment effectuer le criblage de toxicité de ces 18 substances ?

Évaluation de la toxicité d'une substance

Culture de microalgues

Paramètre physiologique suivi

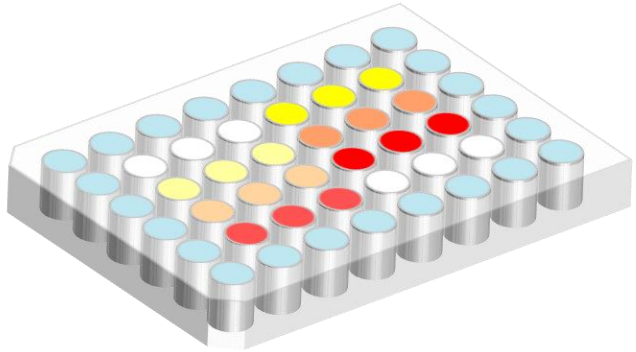
→ taux de croissance μ



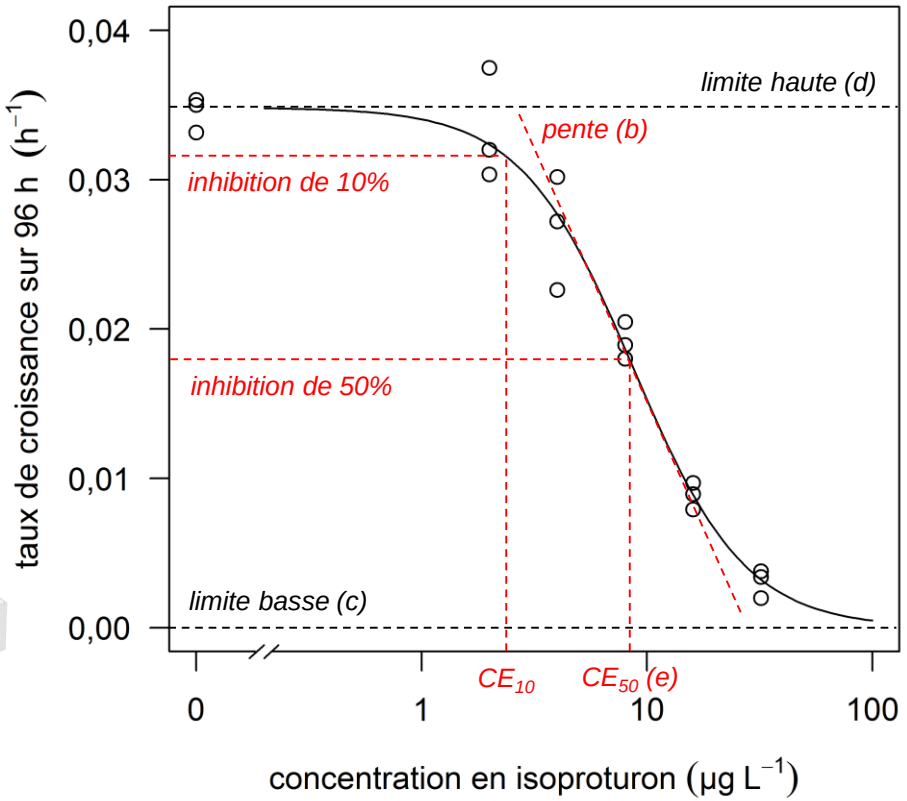
Exposition à une gamme de concentrations

→ **CE_{50}** : **C**oncentration **E**ffective induisant **50%** d'inhibition

Besoins du test
- **Miniaturisé**
- **Rapide**
- **Peu coûteux**
- **Fiable**

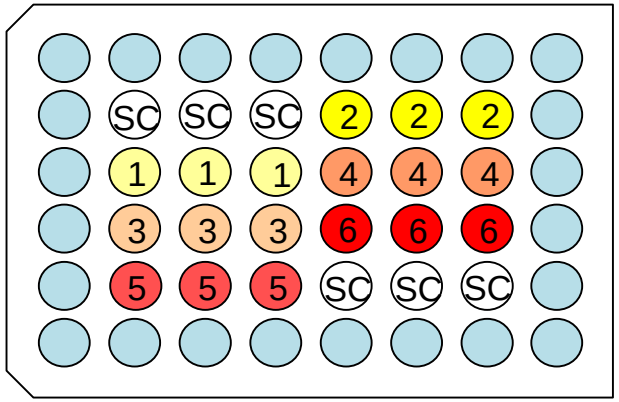


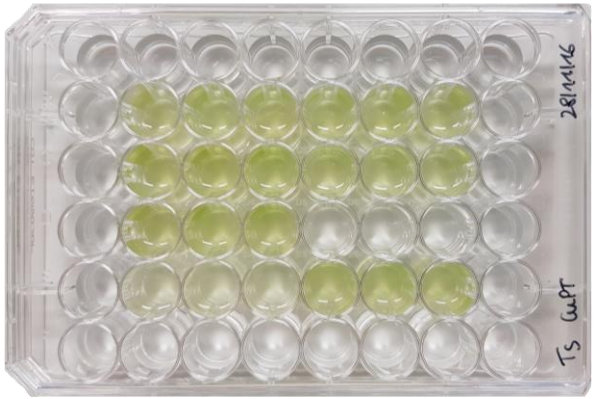
Utilisation de microplaques



Description du test en microplaques

Utilisation de **microplaques 48-puits** non-traitées

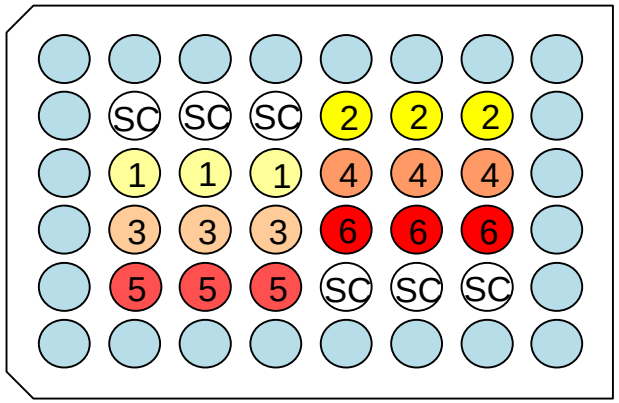


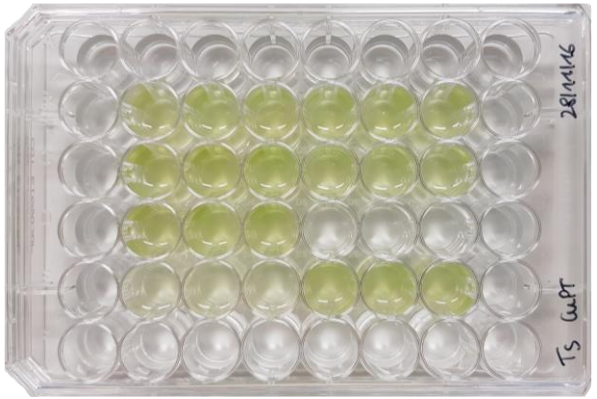


Description du test en microplaques

Utilisation de **microplaques 48-puits** non-traitées

- **6 concentrations** testées en triplicats
- **6 témoins solvants**
- Durée d'exposition : **96 h**



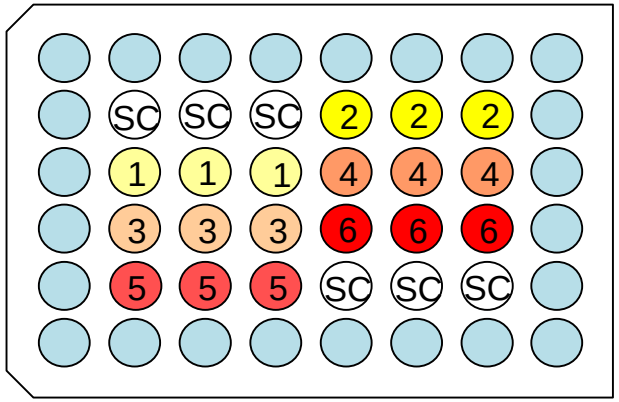


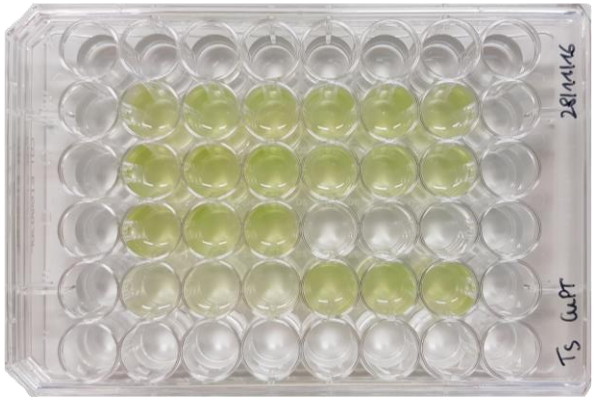
Description du test en microplaques

Utilisation de **microplaques 48-puits** non-traitées

- **6 concentrations** testées en triplicats
- **6 témoins solvants**
- Durée d'exposition : **96 h**

Capacité de criblage





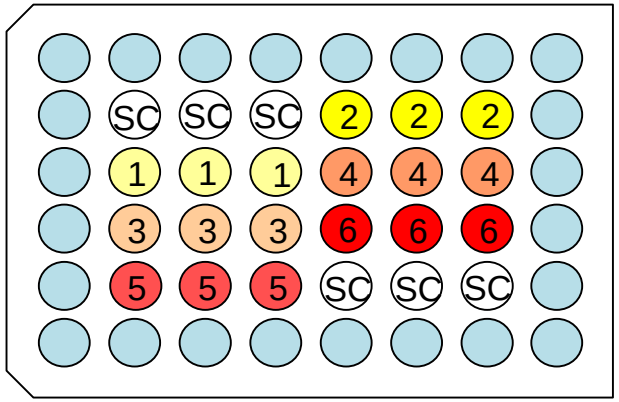
Description du test en microplaques

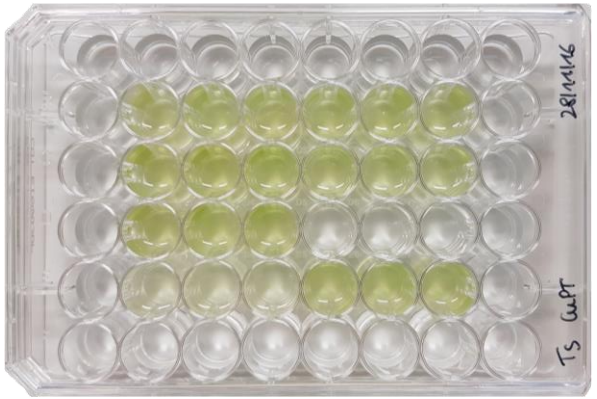
Utilisation de **microplaques 48-puits** non-traitées

- **6 concentrations** testées en triplicats
- **6 témoins solvants**
- Durée d'exposition : **96 h**

Capacité de criblage

Calcul du taux de croissance



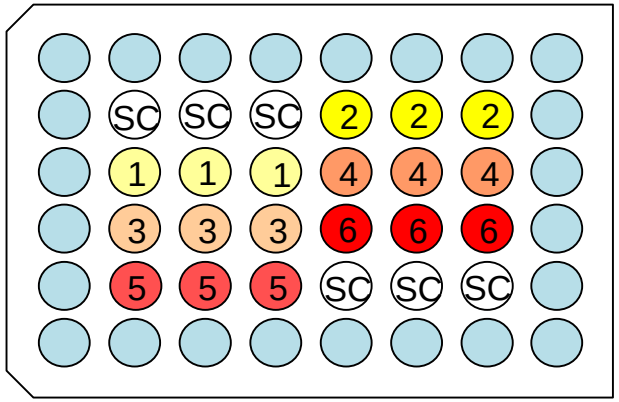


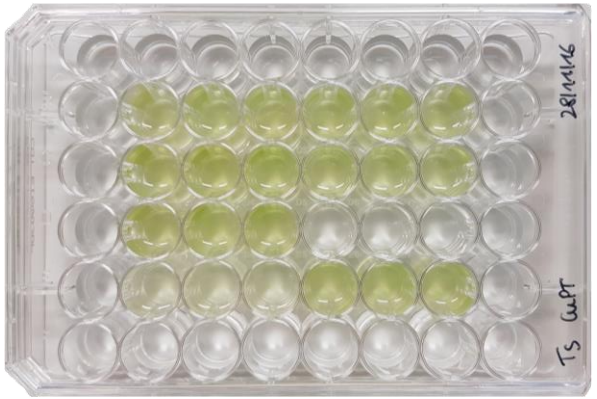
Description du test en microplaques

Utilisation de **microplaques 48-puits** non-traitées

- **6 concentrations** testées en triplicats
- **6 témoins solvants**
- Durée d'exposition : **96 h**

Capacité de criblage





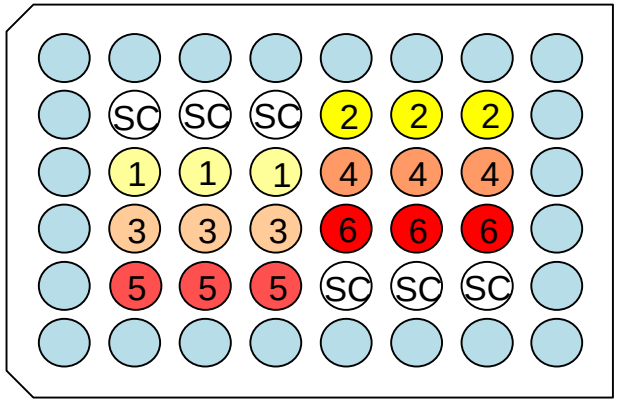
Calcul du taux de croissance

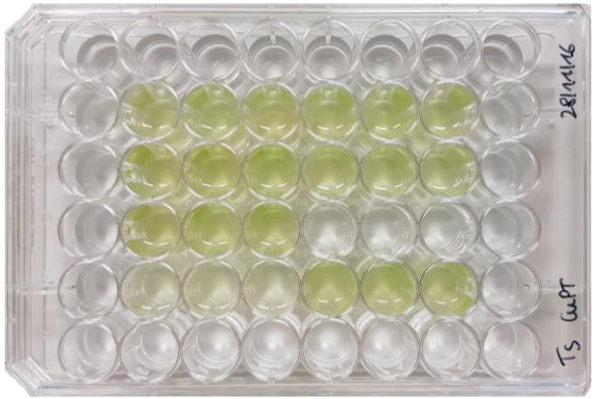
- **Fluorescence** (Ex/Em: 450/684 nm)
- Taux de croissance : $\mu = \ln (F_t - F_0)/t$
- Calcul des CE_{50} : modèle log-logistique (*drc*, R)

Description du test en microplaques

Utilisation de **microplaques 48-puits** non-traitées

- **6 concentrations** testées en triplicats
- **6 témoins solvants**
- Durée d'exposition : **96 h**





Capacité de criblage

Calcul du taux de croissance

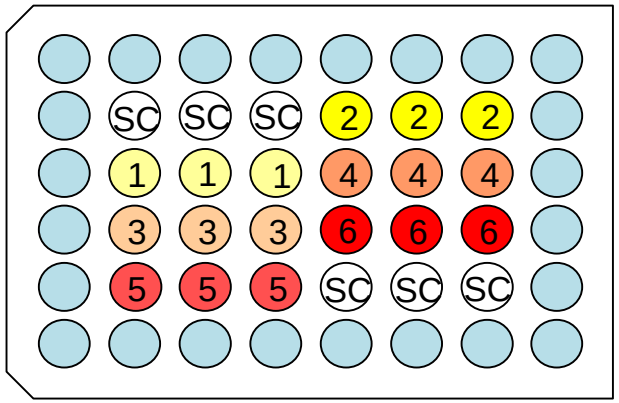
- **Fluorescence** (Ex/Em: 450/684 nm)
- Taux de croissance : $\mu = \ln (F_t - F_0)/t$
- Calcul des CE_{50} : modèle log-logistique (*drc*, R)

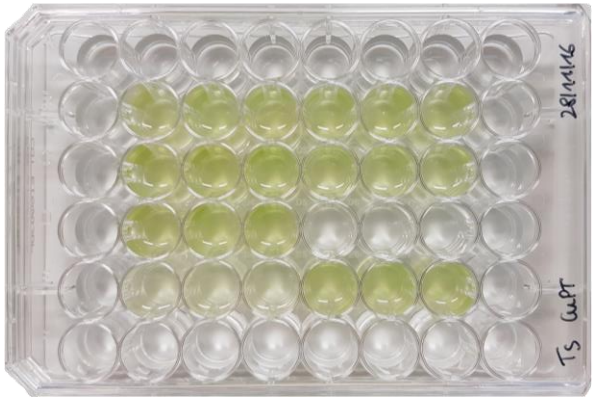
Validation du test

Description du test en microplaques

Utilisation de **microplaques 48-puits** non-traitées

- **6 concentrations** testées en triplicats
- **6 témoins solvants**
- Durée d'exposition : **96 h**





Capacité de criblage

Calcul du taux de croissance

- **Fluorescence** (Ex/Em: 450/684 nm)
- Taux de croissance : $\mu = \ln (F_t - F_0)/t$
- Calcul des CE_{50} : modèle log-logistique (*drc*, R)

Validation du test

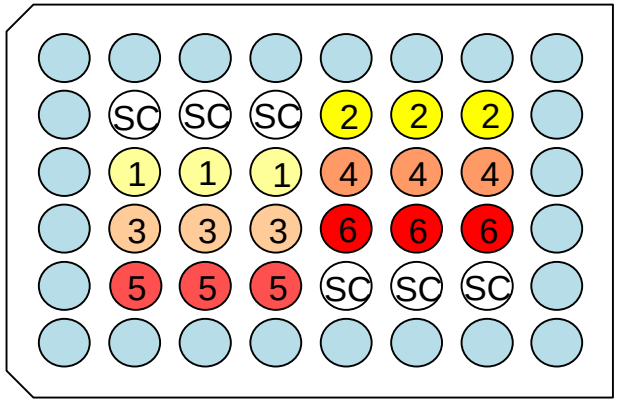
- Corrélation entre fluorescence et densité cellulaire

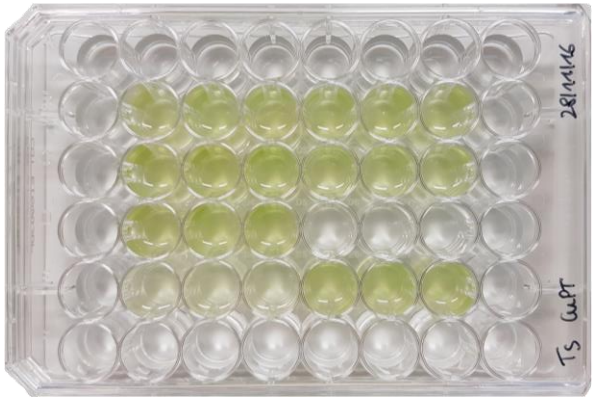
Description du test en microplaques

Utilisation de **microplaques 48-puits** non-traitées

- **6 concentrations** testées en triplicats
- **6 témoins solvants**
- Durée d'exposition : **96 h**

Capacité de criblage



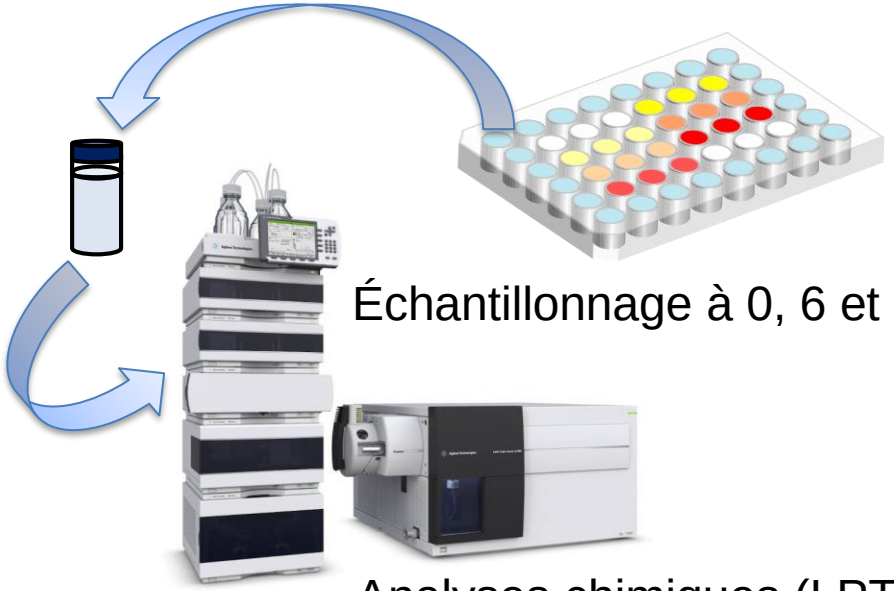


Calcul du taux de croissance

- **Fluorescence** (Ex/Em: 450/684 nm)
- Taux de croissance : $\mu = \ln (F_t - F_0)/t$
- Calcul des CE_{50} : modèle log-logistique (*drc*, R)

Validation du test

- Corrélation entre fluorescence et densité cellulaire
- Stabilité chimique des pesticides dans les puits



Échantillonnage à 0, 6 et 96 h

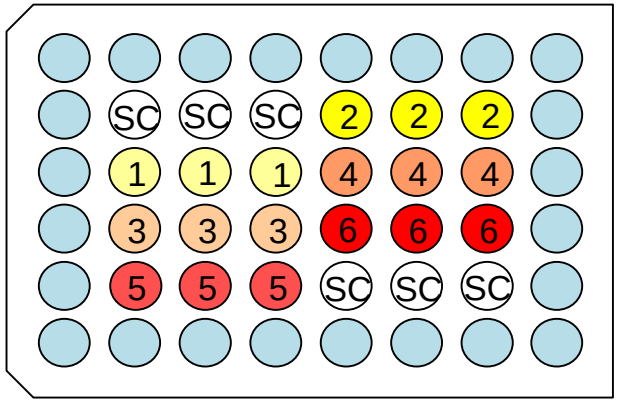
Analyses chimiques (LPTC-EPOC)

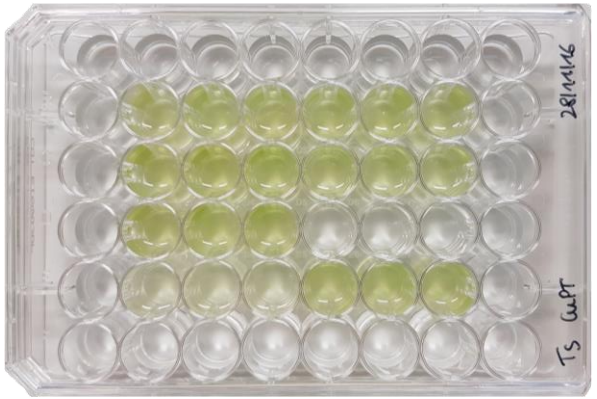
Description du test en microplaques

Utilisation de **microplaques 48-puits** non-traitées

- **6 concentrations** testées en triplicats
- **6 témoins solvants**
- Durée d'exposition : **96 h**

Capacité de criblage



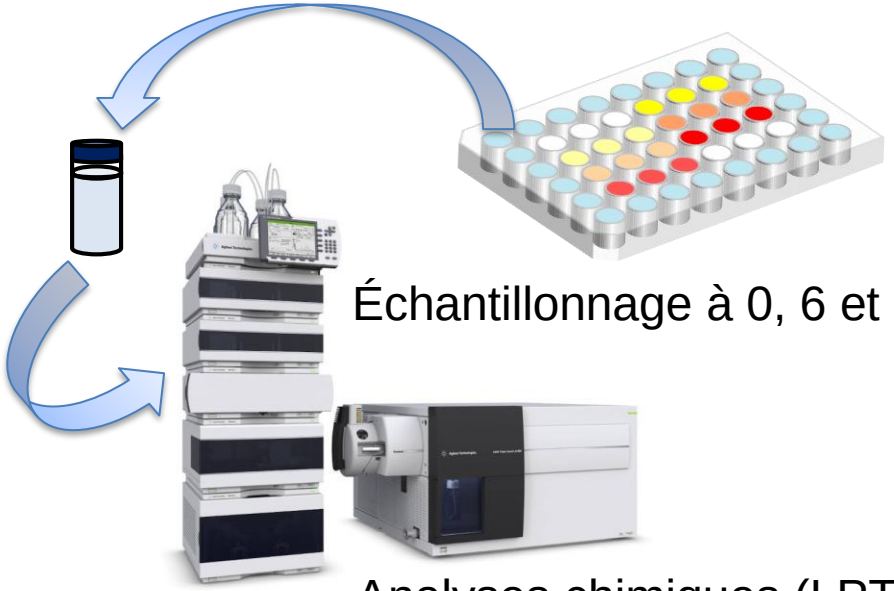


Calcul du taux de croissance

- **Fluorescence** (Ex/Em: 450/684 nm)
- Taux de croissance : $\mu = \ln (F_t - F_0)/t$
- Calcul des CE_{50} : modèle log-logistique (*drc*, R)

Validation du test

- Corrélation entre fluorescence et densité cellulaire
- Stabilité chimique des pesticides dans les puits
- Correction des concentrations d'exposition nominales



Échantillonnage à 0, 6 et 96 h

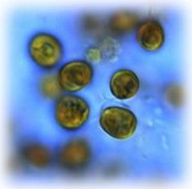
Analyses chimiques (LPTC-EPOC)

Résultats : microalgues – CE_{50} obtenues

CE_{50} calculées avec les concentrations d'exposition mesurées analytiquement

Résultats : microalgues – CE_{50} obtenues

CE_{50} calculées avec les concentrations d'exposition mesurées analytiquement



Tisochrysis lutea

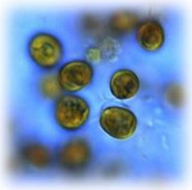
Herbicides

Insecticides

Fongicides

Résultats : microalgues – CE_{50} obtenues

CE_{50} calculées avec les concentrations d'exposition mesurées analytiquement



Tisochrysis lutea

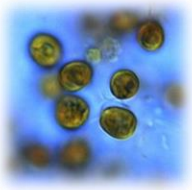
Herbicides

Insecticides

Fongicides

Résultats : microalgues – CE_{50} obtenues

CE_{50} calculées avec les concentrations d'exposition mesurées analytiquement



Tisochrysis lutea

Herbicides

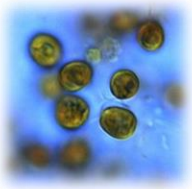
Insecticides

Fongicides

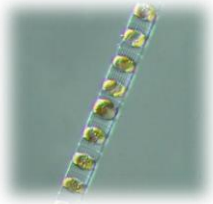
Résultats : microalgues – CE_{50} obtenues

CE_{50} calculées avec les concentrations d'exposition mesurées analytiquement

Herbicides
Insecticides
Fongicides



Tisochrysis lutea

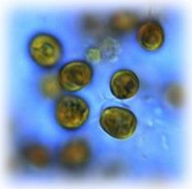


Skeletonema marinoi

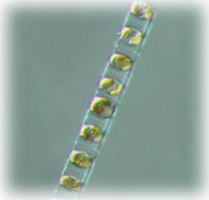
Résultats : microalgues – CE_{50} obtenues

CE_{50} calculées avec les concentrations d'exposition mesurées analytiquement

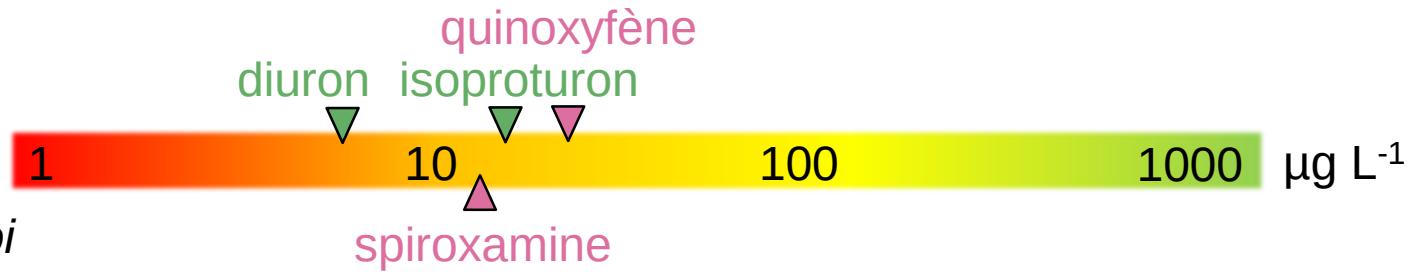
Herbicides
Insecticides
Fongicides



Tisochrysis lutea



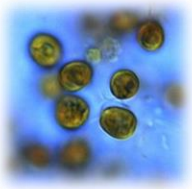
Skeletonema marinoi



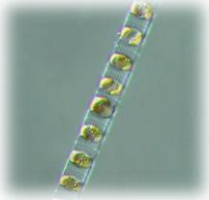
Résultats : microalgues – CE_{50} obtenues

CE_{50} calculées avec les concentrations d'exposition mesurées analytiquement

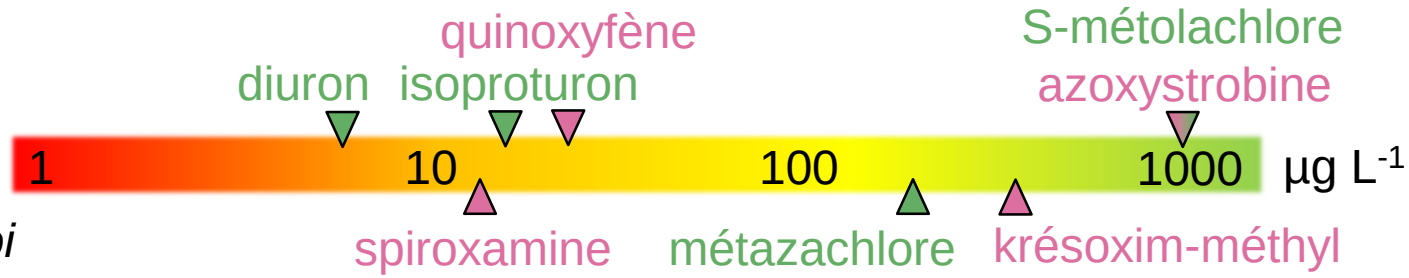
Herbicides
Insecticides
Fongicides



Tisochrysis lutea



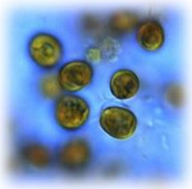
Skeletonema marinoi



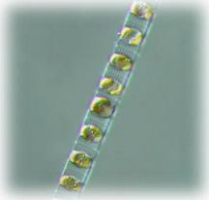
Résultats : microalgues – CE_{50} obtenues

CE_{50} calculées avec les concentrations d'exposition mesurées analytiquement

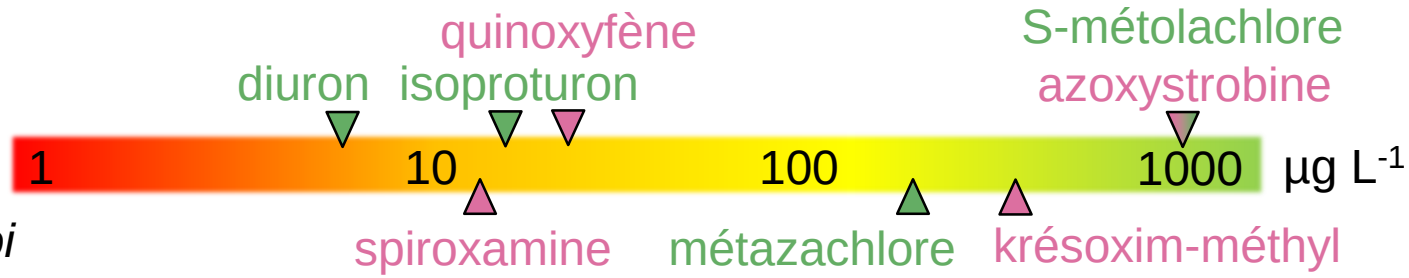
Herbicides
Insecticides
Fongicides



Tisochrysis lutea



Skeletonema marinoi



Dupraz *et al*. 2019a

II. Toxicité de mélanges binaires sur la croissance

Méthodologie d’étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Méthodologie d’étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$)

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) Substance B ($CE_{50}B$)

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) **+** Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) **+** Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$ → Inhibition = 50% : **Additivité**

Toxicité **expérimentale =** Toxicité **prédite**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

Inhibition > 50% : **Synergie** — Toxicité **expérimentale >** Toxicité **prédite**

Inhibition = 50% : **Additivité** — Toxicité **expérimentale =** Toxicité **prédite**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

- Inhibition > 50% : **Synergie** — Toxicité **expérimentale >** Toxicité **prédite**
- Inhibition = 50% : **Additivité** — Toxicité **expérimentale =** Toxicité **prédite**
- Inhibition < 50% : **Antagonisme** — Toxicité **expérimentale <** Toxicité **prédite**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

Inhibition > 50% : **Synergie** — Toxicité **expérimentale >** Toxicité **prédite**

Inhibition = 50% : **Additivité** — Toxicité **expérimentale =** Toxicité **prédite**

Inhibition < 50% : **Antagonisme** — Toxicité **expérimentale <** Toxicité **prédite**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

Inhibition > 50% : **Synergie** — Toxicité **expérimentale >** Toxicité **prédite**

Inhibition = 50% : **Additivité** — Toxicité **expérimentale =** Toxicité **prédite**

Inhibition < 50% : **Antagonisme** — Toxicité **expérimentale <** Toxicité **prédite**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

Inhibition > 50% : **Synergie** — Toxicité **expérimentale >** Toxicité **prédite**

Inhibition = 50% : **Additivité** — **ΣTU = 1**

Inhibition < 50% : **Antagonisme** — Toxicité **expérimentale <** Toxicité **prédite**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

Inhibition > 50% : **Synergie** **ΣTU < 1**

Inhibition = 50% : **Additivité** **ΣTU = 1**

Inhibition < 50% : **Antagonisme** Toxicité **expérimentale <** Toxicité **prédite**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

Inhibition > 50% : **Synergie** **ΣTU < 1**

Inhibition = 50% : **Additivité** **ΣTU = 1**

Inhibition < 50% : **Antagonisme** **ΣTU > 1**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

Inhibition > 50% : **Synergie** **ΣTU < 1**

Inhibition = 50% : **Additivité** **ΣTU = 1**

Inhibition < 50% : **Antagonisme** **ΣTU > 1**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

→ Inhibition > 50% : **Synergie**

→ Inhibition = 50% : **Additivité**

→ Inhibition < 50% : **Antagonisme**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

→ Inhibition > 50% : **Synergie**

→ Inhibition = 50% : **Additivité**

→ Inhibition < 50% : **Antagonisme**

Comment déterminer l'interaction ?

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

→ Inhibition > 50% : **Synergie**

→ Inhibition = 50% : **Additivité**

→ Inhibition < 50% : **Antagonisme**

Comment déterminer l'interaction ?

→ **Comparaison** : toxicité **expérimentale (Tox_{exp})** *vs* toxicité **prédite ($Tox_{préd}$)**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

→ Inhibition > 50% : **Synergie**

→ Inhibition = 50% : **Additivité**

→ Inhibition < 50% : **Antagonisme**

Comment déterminer l'interaction ?

→ **Comparaison** : toxicité **expérimentale (Tox_{exp})** *vs* toxicité **prédite ($Tox_{préd}$)**

→ **Prédiction (modèles CA et IA)** : à partir de la **toxicité** des **substances seules** **CE_{50} requises**

Méthodologie d'étude des mélanges binaires

Quelles sont les interactions possibles ?

Substance A ($CE_{50}A$) + Substance B ($CE_{50}B$) → **Mélange binaire**

Unités Toxiques (TU)

1 TU = CE_{50}

$$\frac{CE_{50}A}{2} + \frac{CE_{50}B}{2} = ?$$

0,5 TU **0,5 TU**

- Inhibition > 50% : **Synergie**
- Inhibition = 50% : **Additivité**
- Inhibition < 50% : **Antagonisme**

Interaction significative ?
Tox_{exp} = 2 x $Tox_{préd}$ ou $Tox_{préd}$ /2
soit, ∑TU > 2 ou < 0,5
selon Belden *et al*. (2007)

Comment déterminer l'interaction ?

- **Comparaison** : toxicité **expérimentale (Tox_{exp})** *vs* toxicité **prédite ($Tox_{préd}$)**
- **Prédiction (modèles CA et IA)** : à partir de la **toxicité** des **substances seules** **CE_{50} requises**

Approche des isobolograms

- *Ray-design* (Gessner 1995) :

Approche des isobolograms

- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

Approche des isobolgrammes

- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0%

100:0%

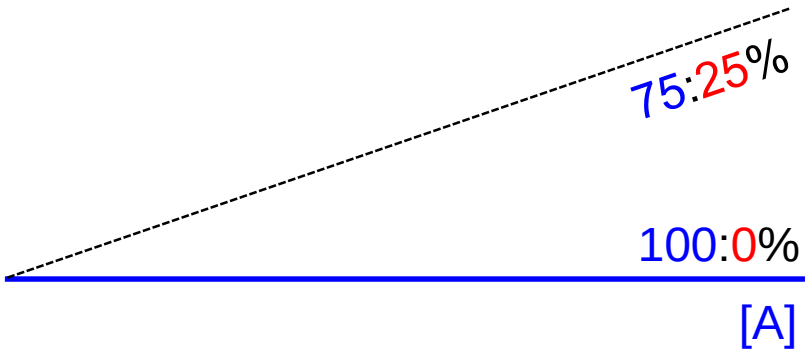
[A]

Approche des isobolgrammes

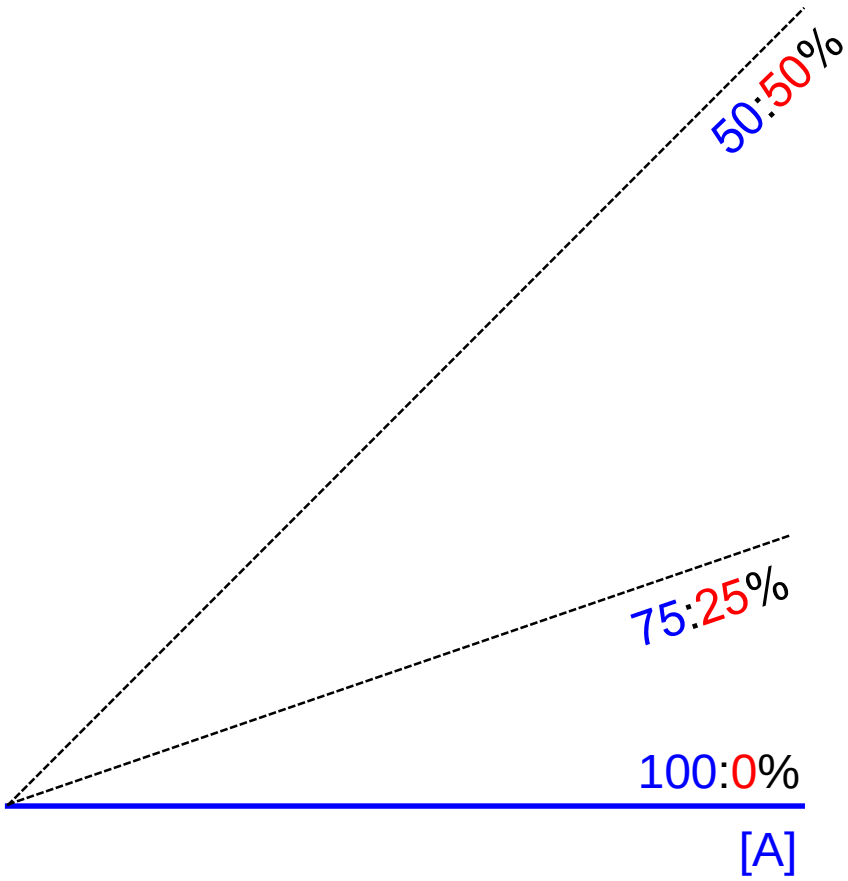
- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25%



Approche des isobolgrammes

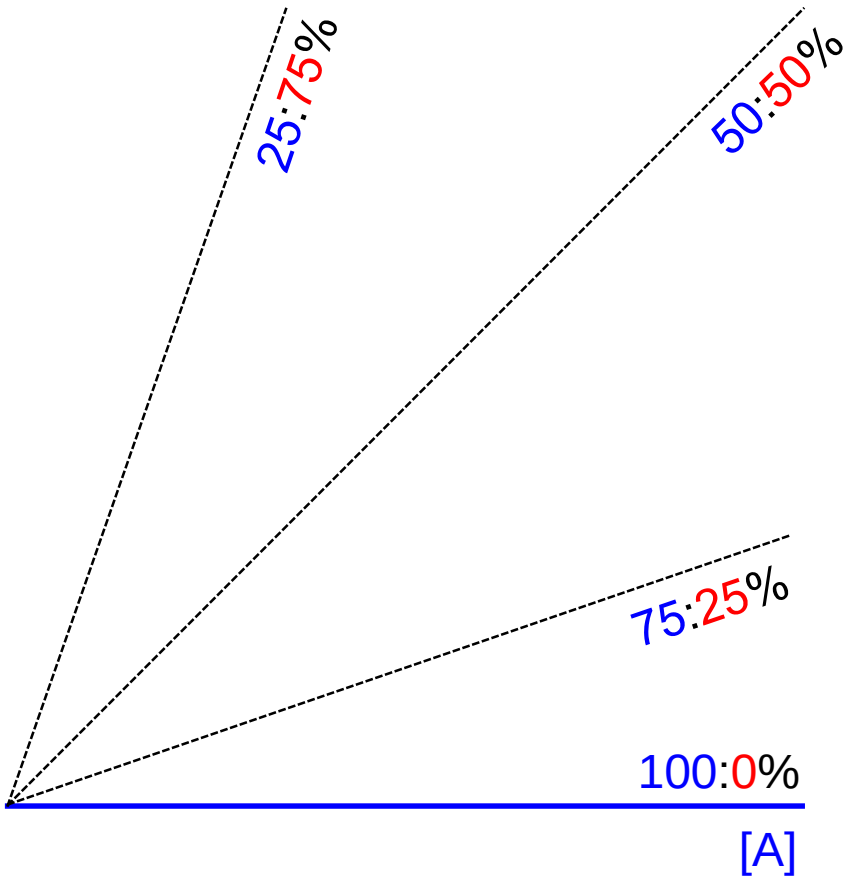


- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50%

Approche des isobolgrammes

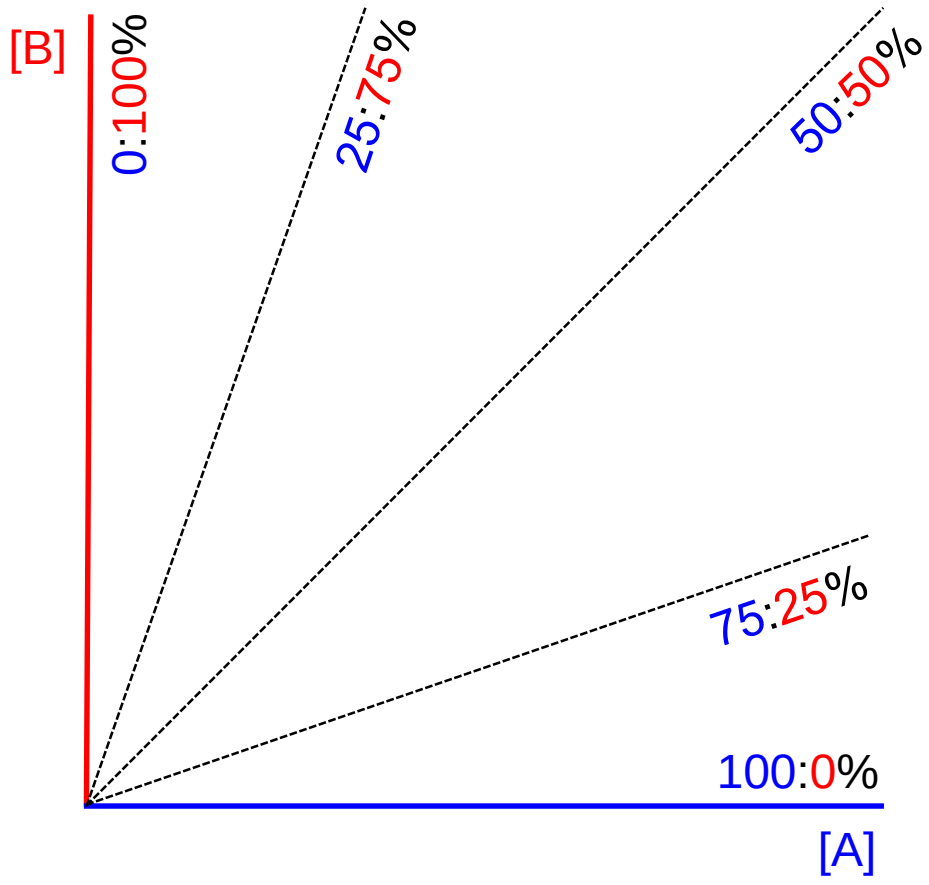


- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75%

Approche des isobolgrammes

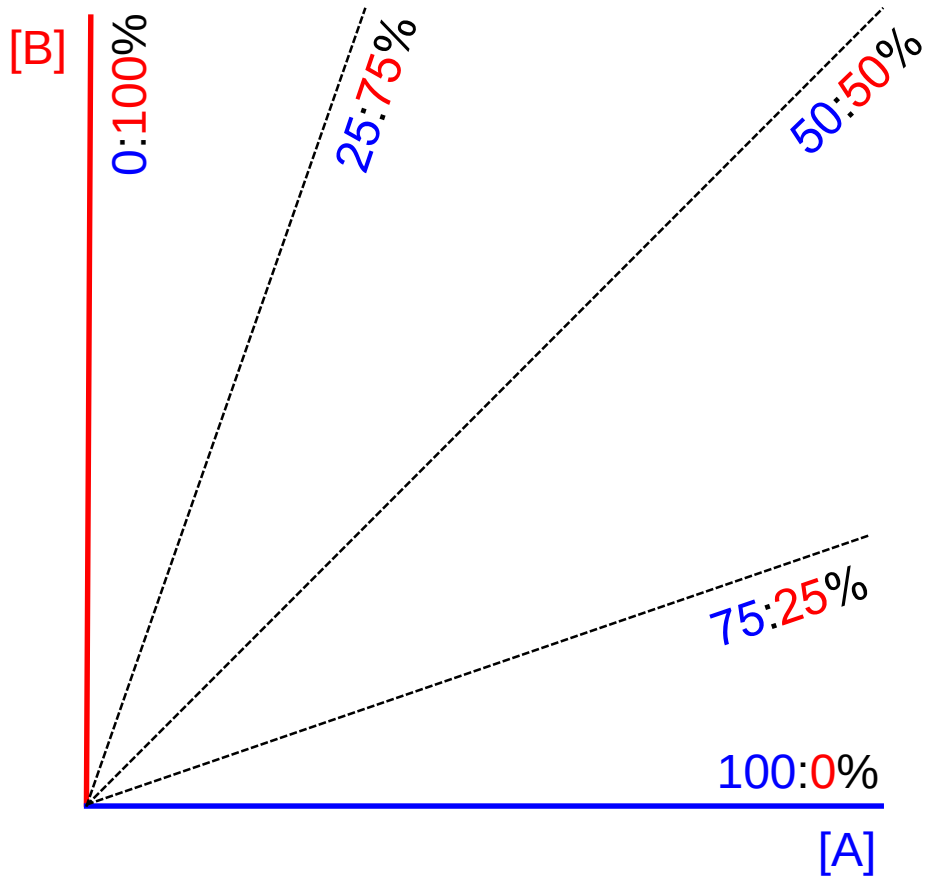


- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

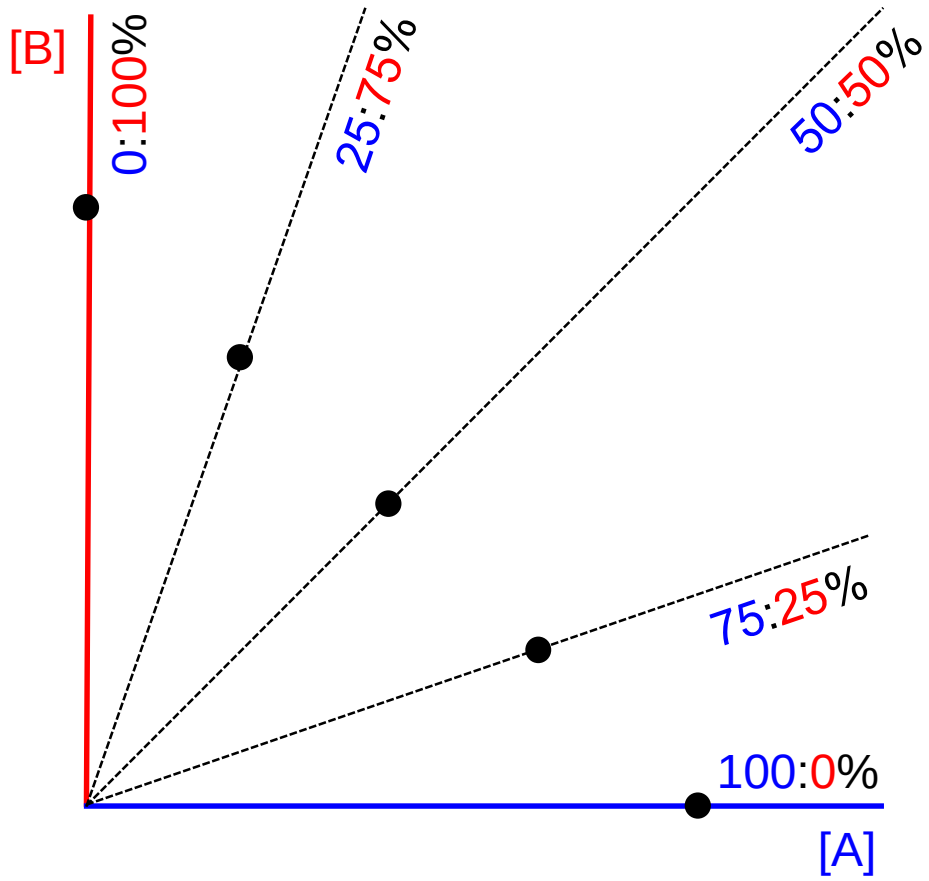
5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

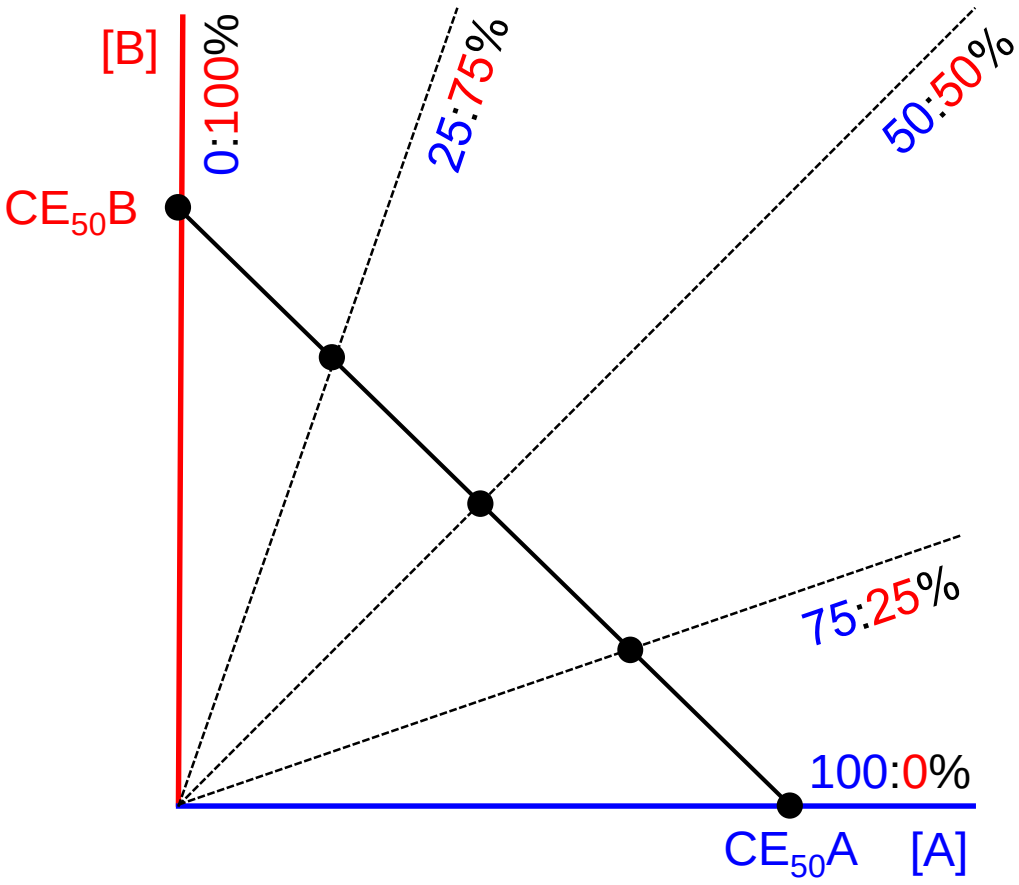
5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

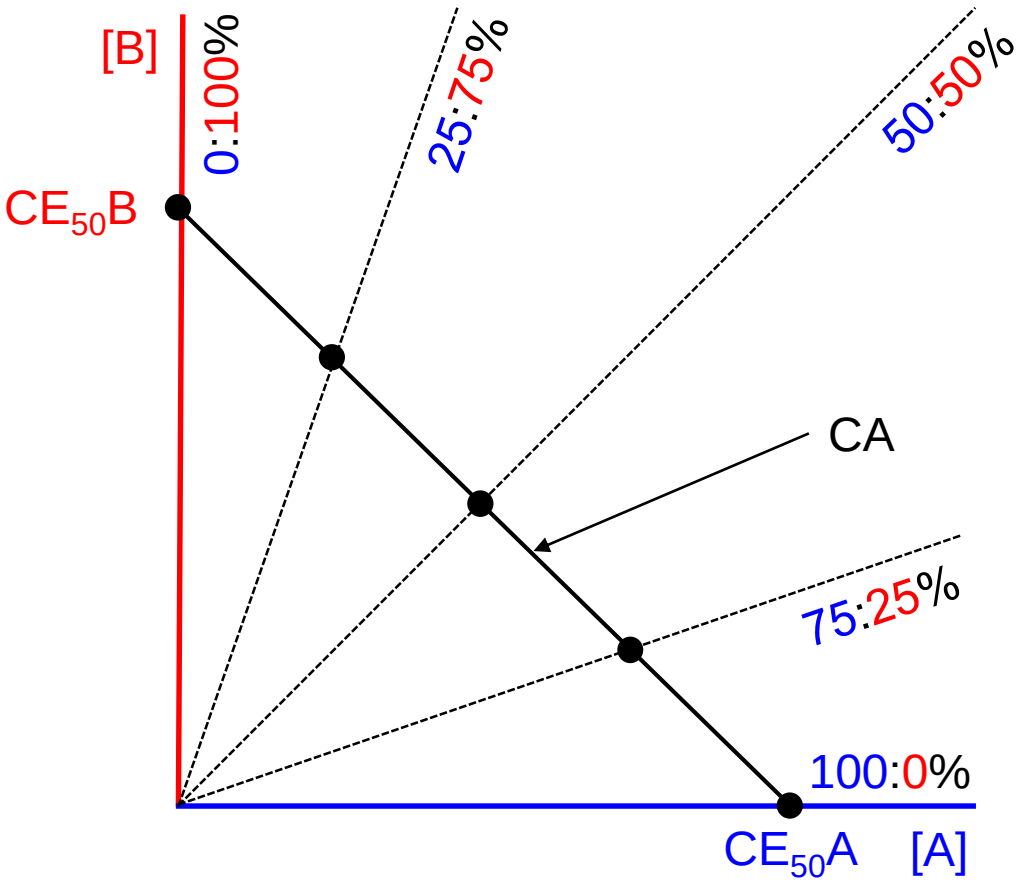
5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

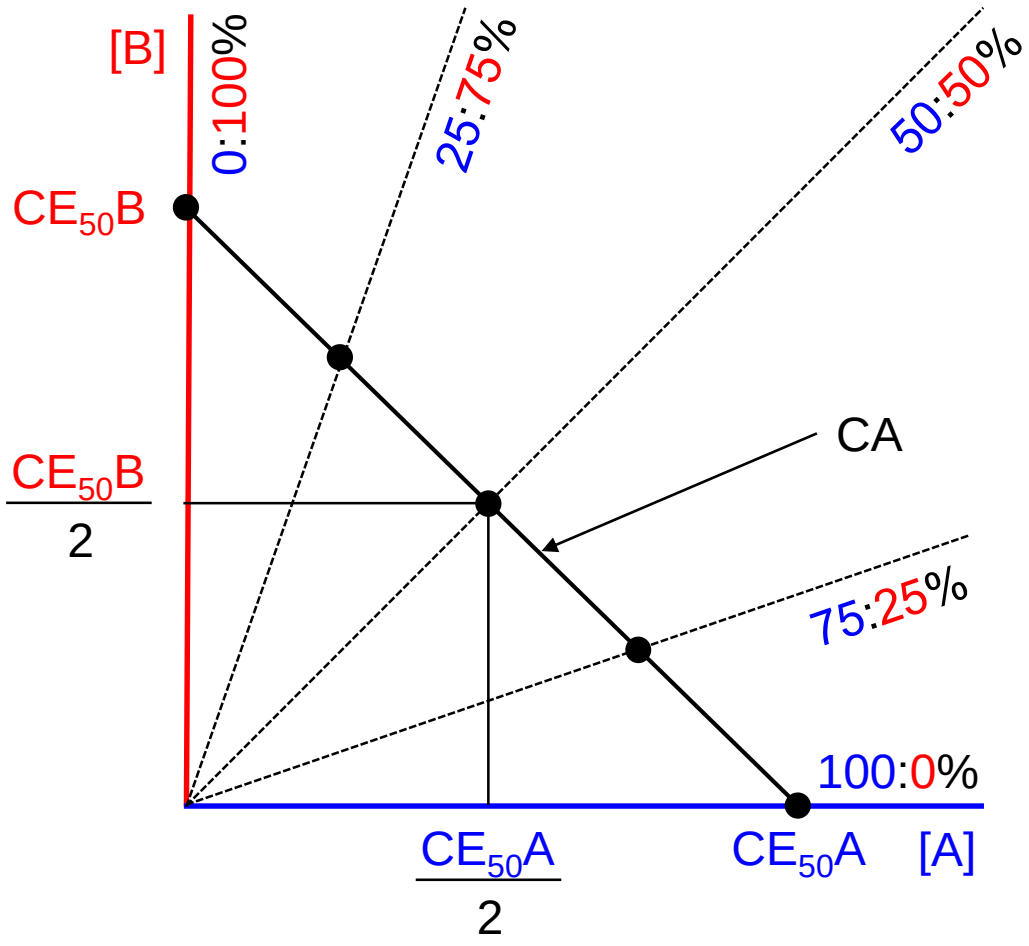
5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

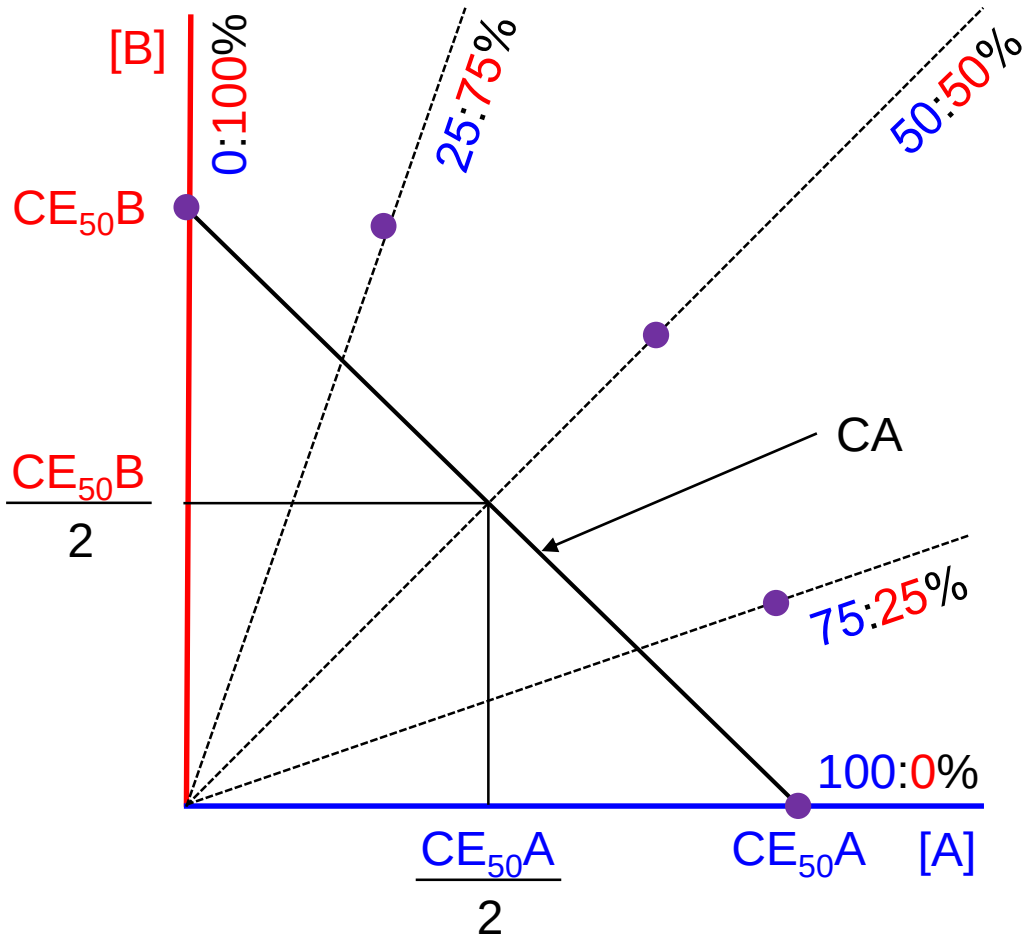
5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

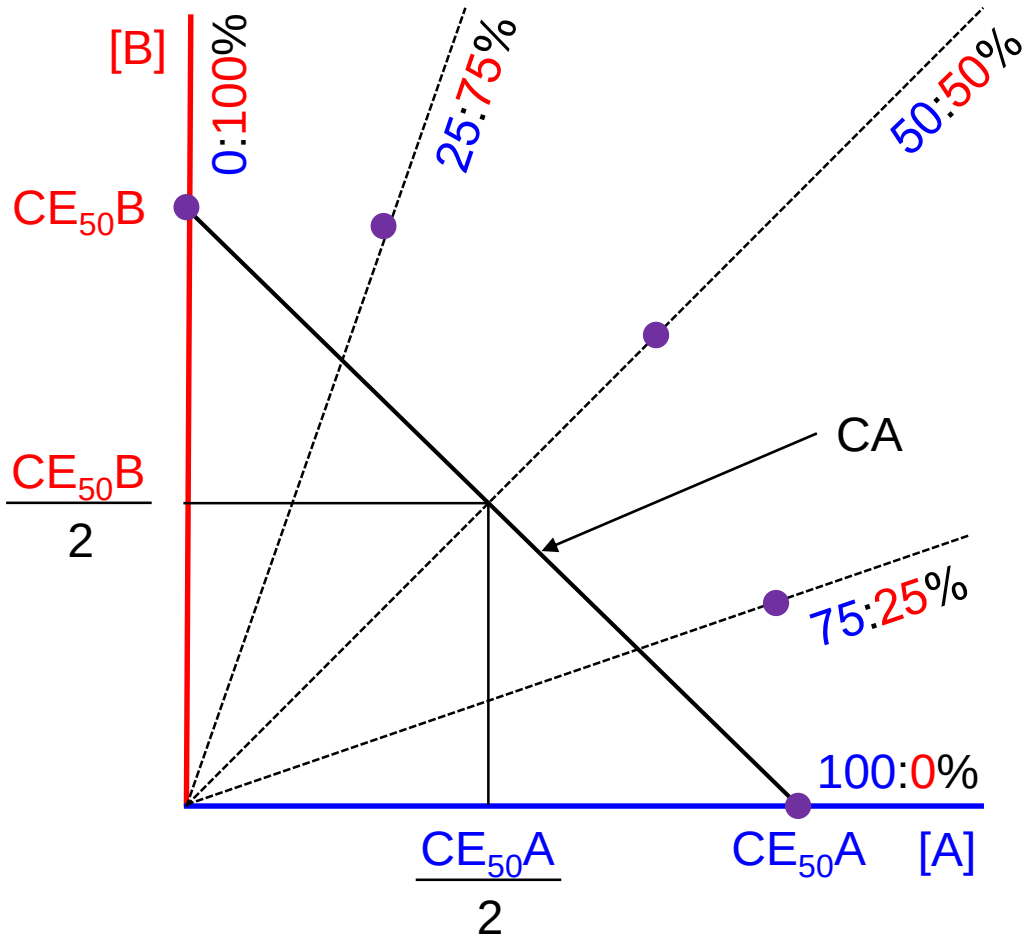
5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

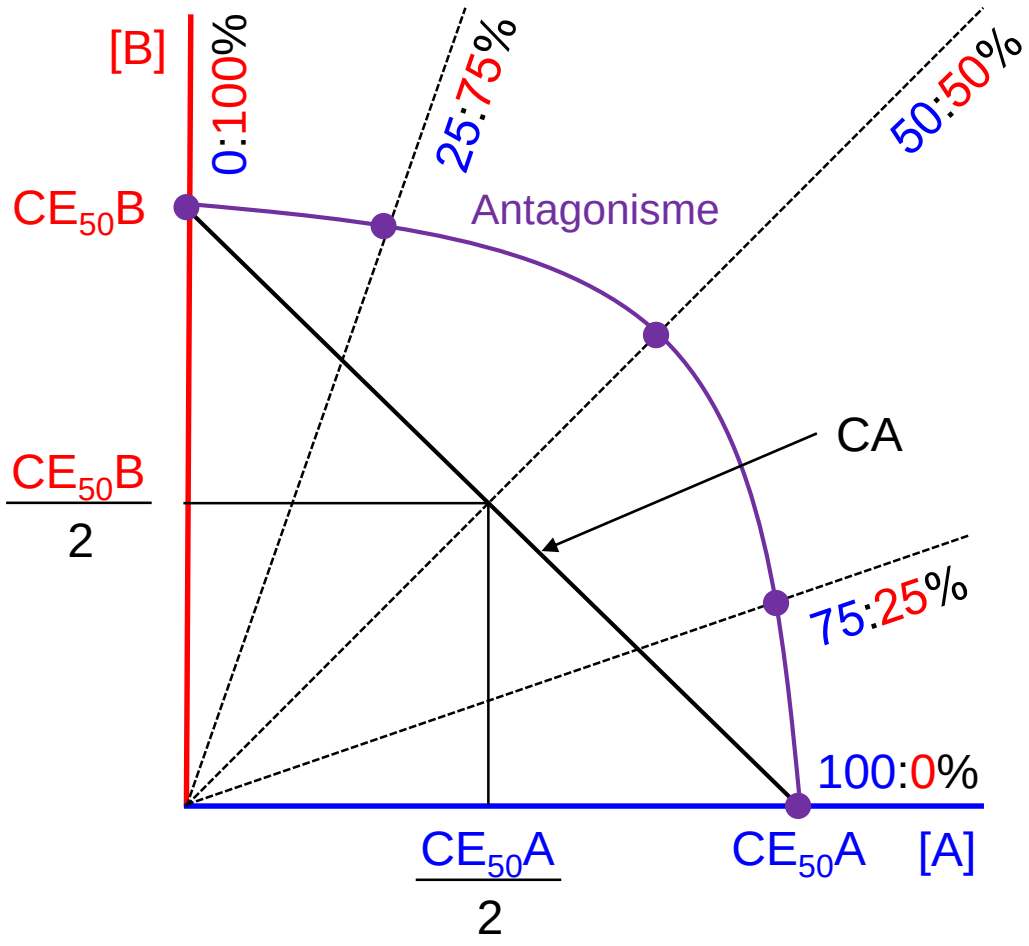
2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Modèles plus complexes permettant de décrire les interactions

- Module '*drc*' avec R (Ritz *et al*., 2015)
- MIXTOX tool – Excel® macro (Jonker *et al*., 2005)

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

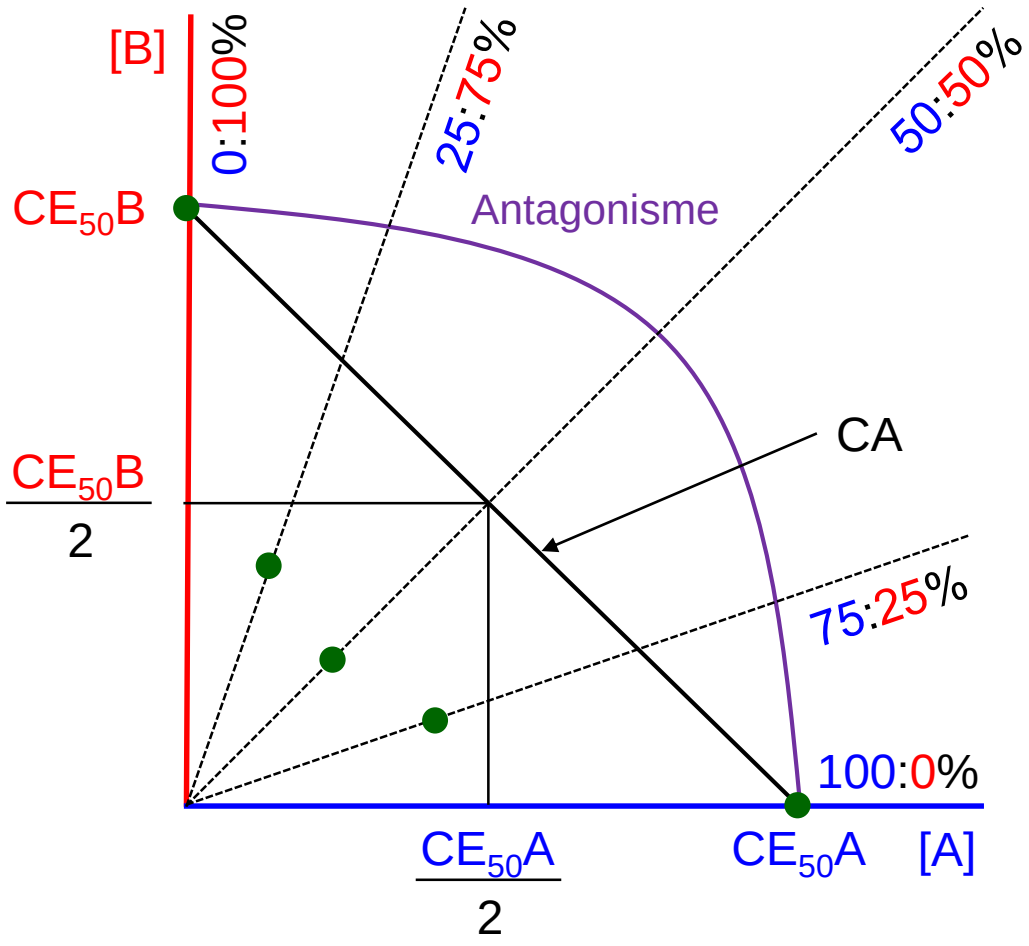
2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Modèles plus complexes permettant de décrire les interactions

- Module '*drc*' avec R (Ritz *et al*., 2015)
- MIXTOX tool – Excel® macro (Jonker *et al*., 2005)

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

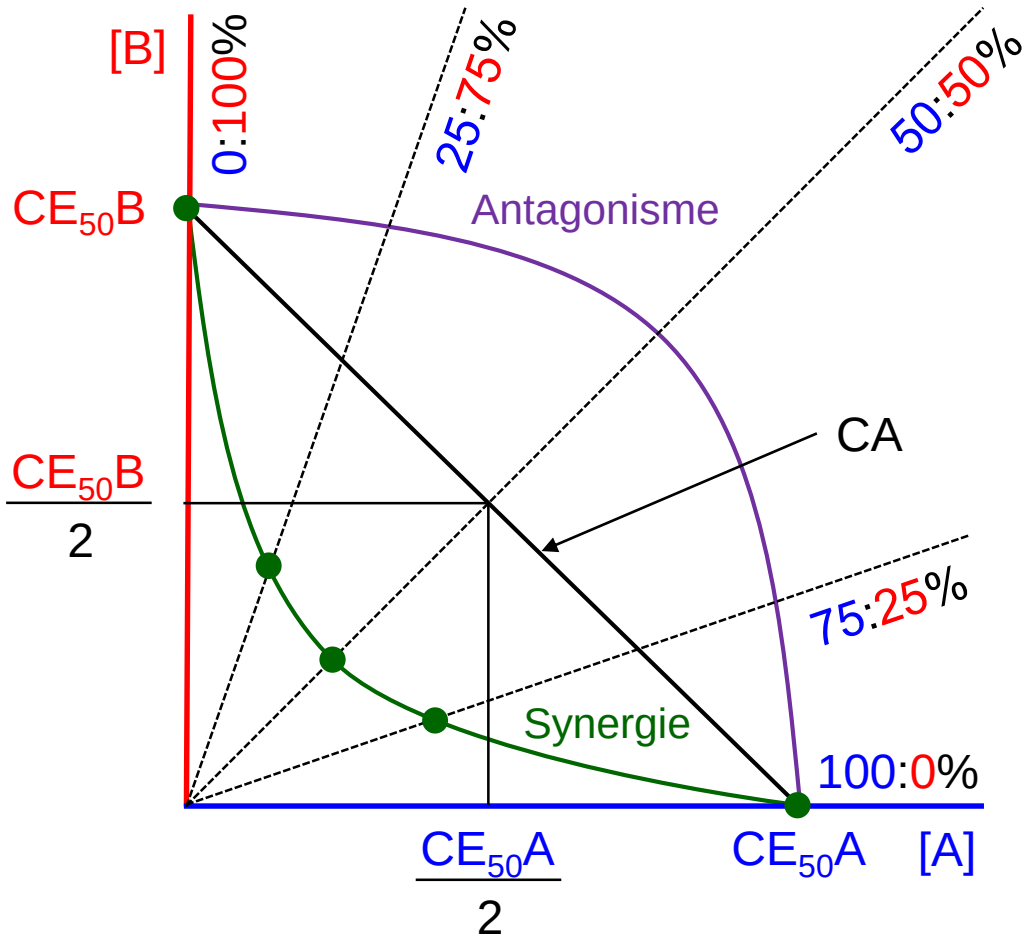
2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Modèles plus complexes permettant de décrire les interactions

- Module '*drc*' avec R (Ritz *et al*., 2015)
- MIXTOX tool – Excel® macro (Jonker *et al*., 2005)

Approche des isobolgrammes



- *Ray-design* (Gessner 1995) :

5 ratios fixes du mélange [A]:[B]%

100:0% 75:25% 50:50% 25:75% 0:100%

2 modèles de référence :

- *Concentration Addition* (CA, Loewe and Muischnek, 1926)
- *Independent Action* (IA, Bliss, 1939)

Modèles plus complexes permettant de décrire les interactions

- Module '*drc*' avec R (Ritz *et al*., 2015)
- MIXTOX tool – Excel® macro (Jonker *et al*., 2005)

Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

Problématique de l'étude : les mélanges binaires de biocides anti-salissures (*antifouling)*

Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

Problématique de l'étude : les mélanges binaires de biocides anti-salissures (*antifouling)*

Suite logique à de précédents travaux (Dupraz *et al*., 2016)

Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

Problématique de l'étude : les mélanges binaires de biocides anti-salissures (*antifouling)*

- Suite logique à de précédents travaux (Dupraz *et al*., 2016)
- **Synergie** fréquente (26% des mélanges testés, Cedergreen, 2014)

Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

Problématique de l'étude : les mélanges binaires de biocides anti-salissures (*antifouling)*

- Suite logique à de précédents travaux (Dupraz *et al*., 2016)
- **Synergie** fréquente (26% des mélanges testés, Cedergreen, 2014)

Cas de **synergie** documenté dans la littérature scientifique : ZnPT + Cu^{2+}

Koutsaftis et Aoyama, 2006 ; Bao *et al*., 2008

Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

Problématique de l'étude : les mélanges binaires de biocides anti-salissures (*antifouling)*

- Suite logique à de précédents travaux (Dupraz *et al*., 2016)
- **Synergie** fréquente (26% des mélanges testés, Cedergreen, 2014)

Cas de **synergie** documenté dans la littérature scientifique : ZnPT + Cu^{2+}

Koutsaftis et Aoyama, 2006 ; Bao *et al*., 2008

ZnPT :

Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

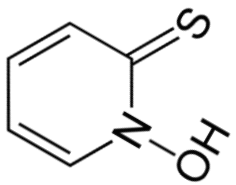
Problématique de l'étude : les mélanges binaires de biocides anti-salissures (*antifouling)*

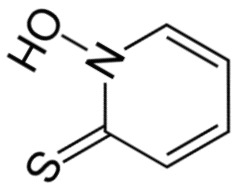
- Suite logique à de précédents travaux (Dupraz *et al*., 2016)
- **Synergie** fréquente (26% des mélanges testés, Cedergreen, 2014)

Cas de **synergie** documenté dans la littérature scientifique : ZnPT + Cu^{2+}

Koutsaftis et Aoyama, 2006 ; Bao *et al*., 2008

ZnPT :





2 pyrithione

Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

Problématique de l'étude : les mélanges binaires de biocides anti-salissures (*antifouling)*

- Suite logique à de précédents travaux (Dupraz *et al*., 2016)
- **Synergie** fréquente (26% des mélanges testés, Cedergreen, 2014)

Cas de **synergie** documenté dans la littérature scientifique : ZnPT + Cu^{2+}

Koutsaftis et Aoyama, 2006 ; Bao *et al*., 2008

ZnPT :

2 pyrithione + un ion Zn^{2+}

Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

Problématique de l'étude : les mélanges binaires de biocides anti-salissures (*antifouling)*

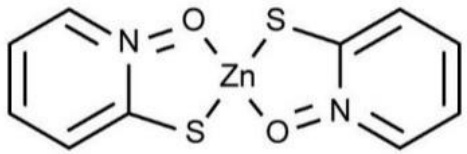
- Suite logique à de précédents travaux (Dupraz *et al*., 2016)
- **Synergie** fréquente (26% des mélanges testés, Cedergreen, 2014)

Cas de **synergie** documenté dans la littérature scientifique : ZnPT + Cu^{2+}

Koutsaftis et Aoyama, 2006 ; Bao *et al*., 2008

ZnPT :

2 pyrithione + un ion Zn^{2+}



Initiation à la méthodologie

Mobilité de 3 mois à l'Université de Copenhague sous la direction de N. Cedergreen (bourse LabEx)

Problématique de l'étude : les mélanges binaires de biocides anti-salissures (*antifouling)*

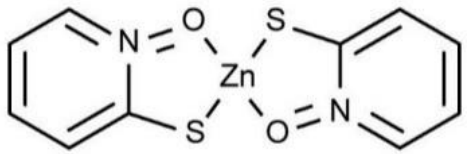
- Suite logique à de précédents travaux (Dupraz *et al*., 2016)
- **Synergie** fréquente (26% des mélanges testés, Cedergreen, 2014)

Cas de **synergie** documenté dans la littérature scientifique : ZnPT + Cu^{2+}

Koutsaftis et Aoyama, 2006 ; Bao *et al*., 2008

ZnPT :

2 pyrithione + un ion Zn^{2+}



+

= ?

Exemple d’un cas de synergie : ZnPT + Cu

Retrouve-t-on cette synergie chez d’autres espèces de microalgues marines ?

Exemple d’un cas de synergie : ZnPT + Cu

Retrouve-t-on cette synergie chez d’autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

Exemple d’un cas de synergie : ZnPT + Cu

Retrouve-t-on cette synergie chez d’autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

T. lutea

S. marinoi

Tetraselmis suecica

Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

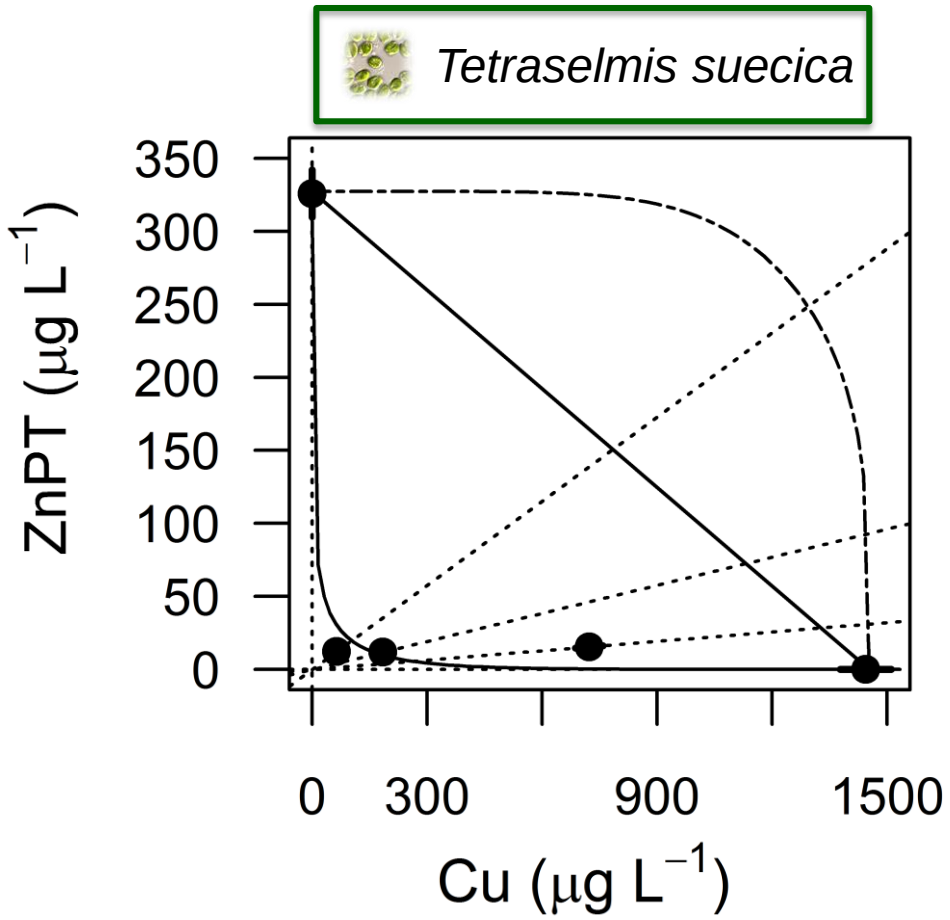
Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

Tetraselmis suecica

Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

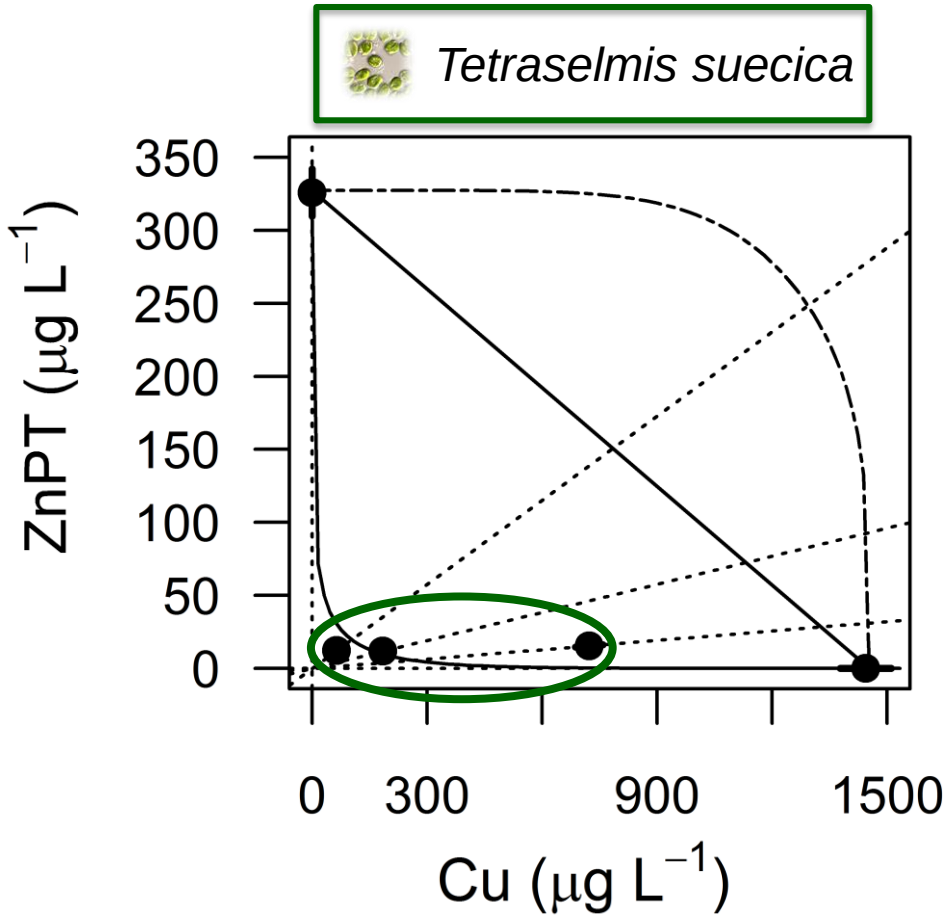


Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

Très forte **synergie** : **$\Sigma TU_{50:50}$ = 0,16, soit Tox_{exp} = 6,25 x Tox_{pred}**



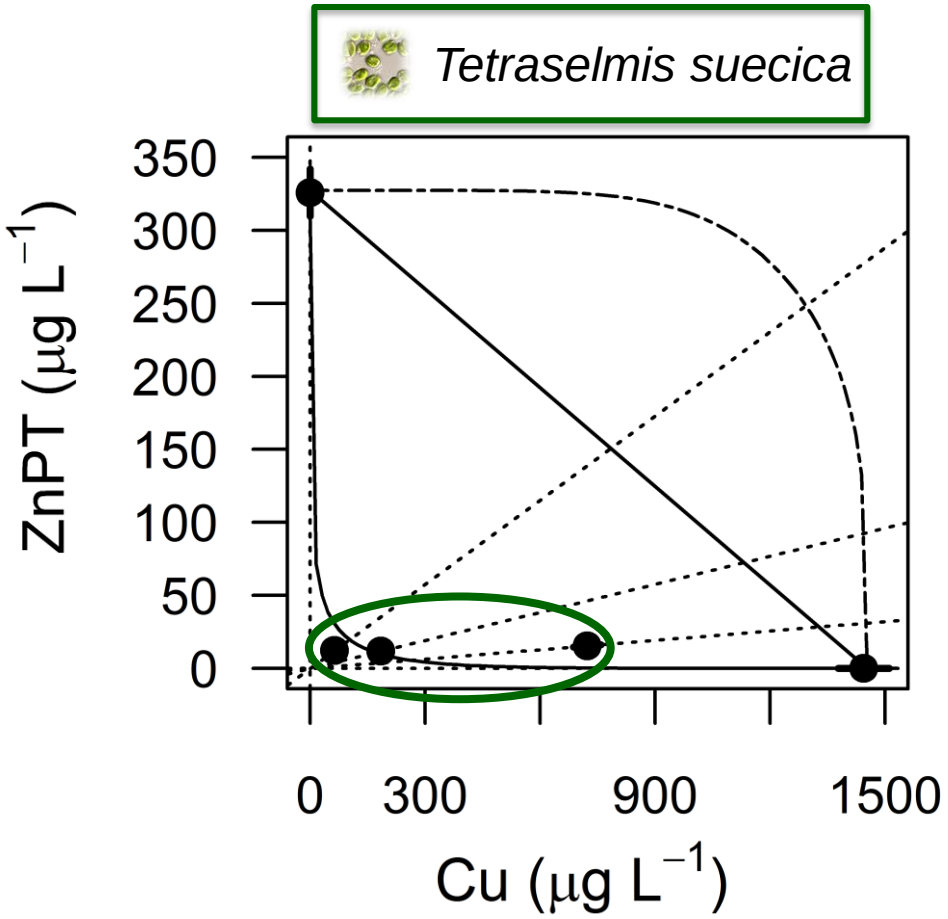
Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

Très forte **synergie** : **$\Sigma TU_{50:50}$ = 0,16, soit Tox_{exp} = 6,25 x Tox_{pred}**

Quelle est la cause de la synergie observée ?



Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

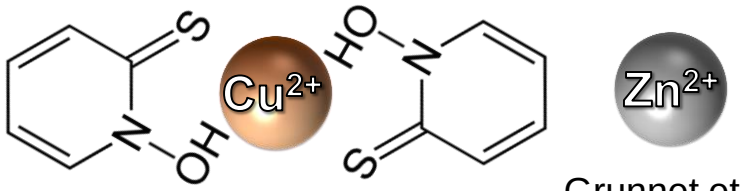
Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

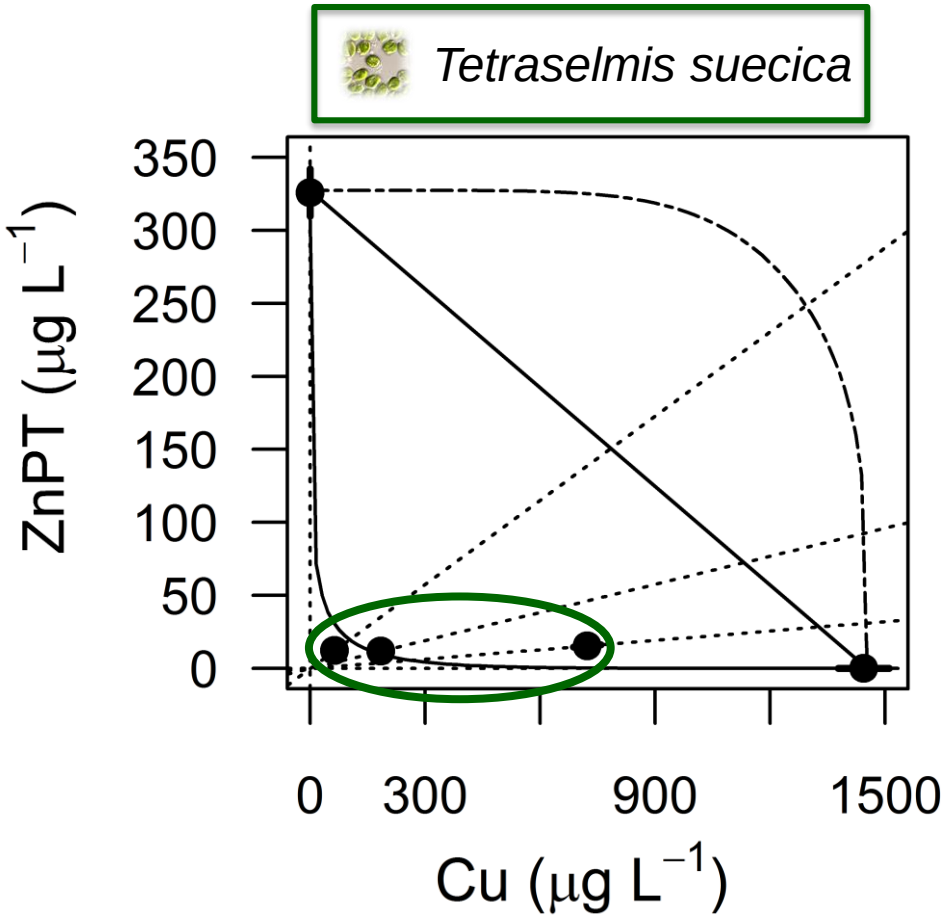
Très forte **synergie** : **$\Sigma TU_{50:50}$ = 0,16, soit Tox_{exp} = 6,25 x Tox_{pred}**

Quelle est la cause de la synergie observée ?

Transchélation du ZnPT en CuPT en présence de Cu^{2+} ?



Grunnet et Dahllöf, 2005



Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

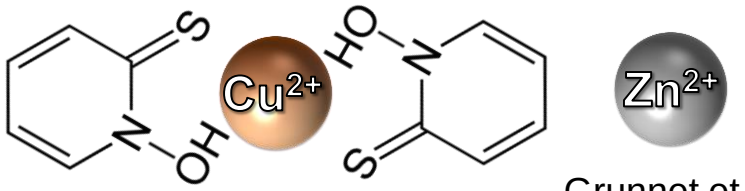
Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

Très forte **synergie** : **$\Sigma TU_{50:50}$ = 0,16, soit Tox_{exp} = 6,25 x Tox_{pred}**

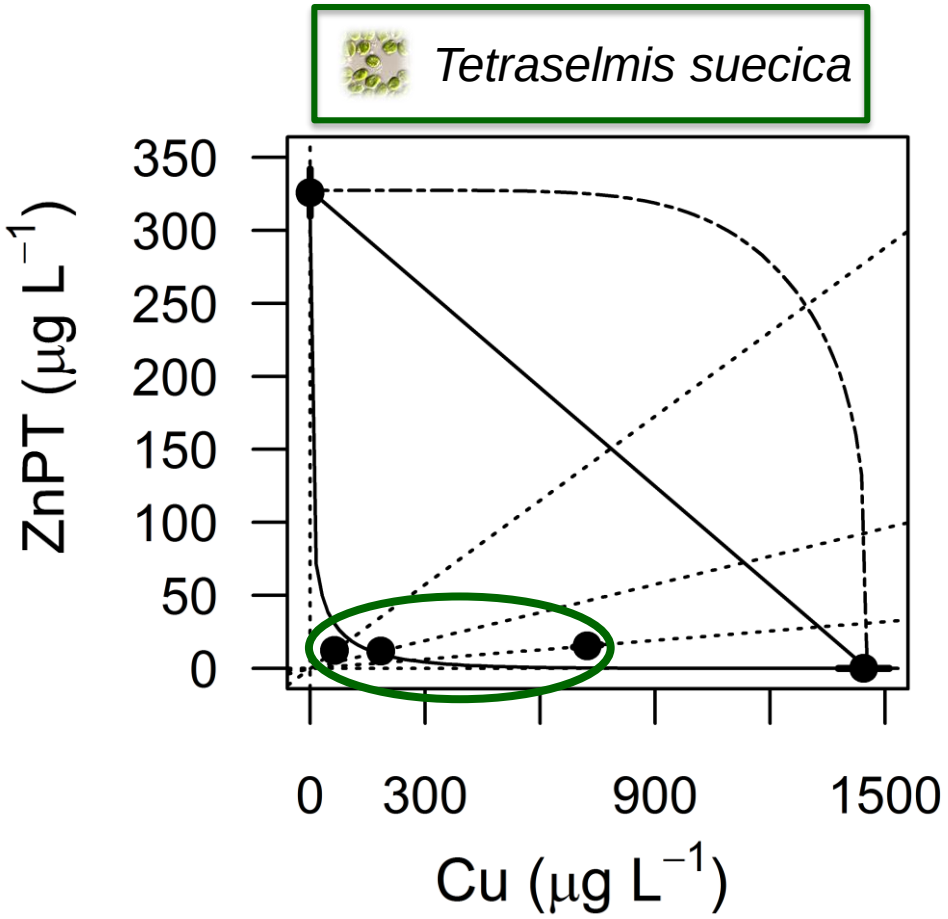
Quelle est la cause de la synergie observée ?

Transchélation du ZnPT en CuPT en présence de Cu^{2+} ?



Grunnet et Dahllöf, 2005

Analyses chimiques (LABOCEA)



Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

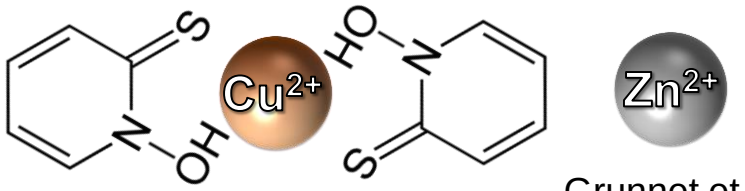
Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

Très forte **synergie** : **$\Sigma TU_{50:50}$ = 0,16, soit Tox_{exp} = 6,25 x Tox_{pred}**

Quelle est la cause de la synergie observée ?

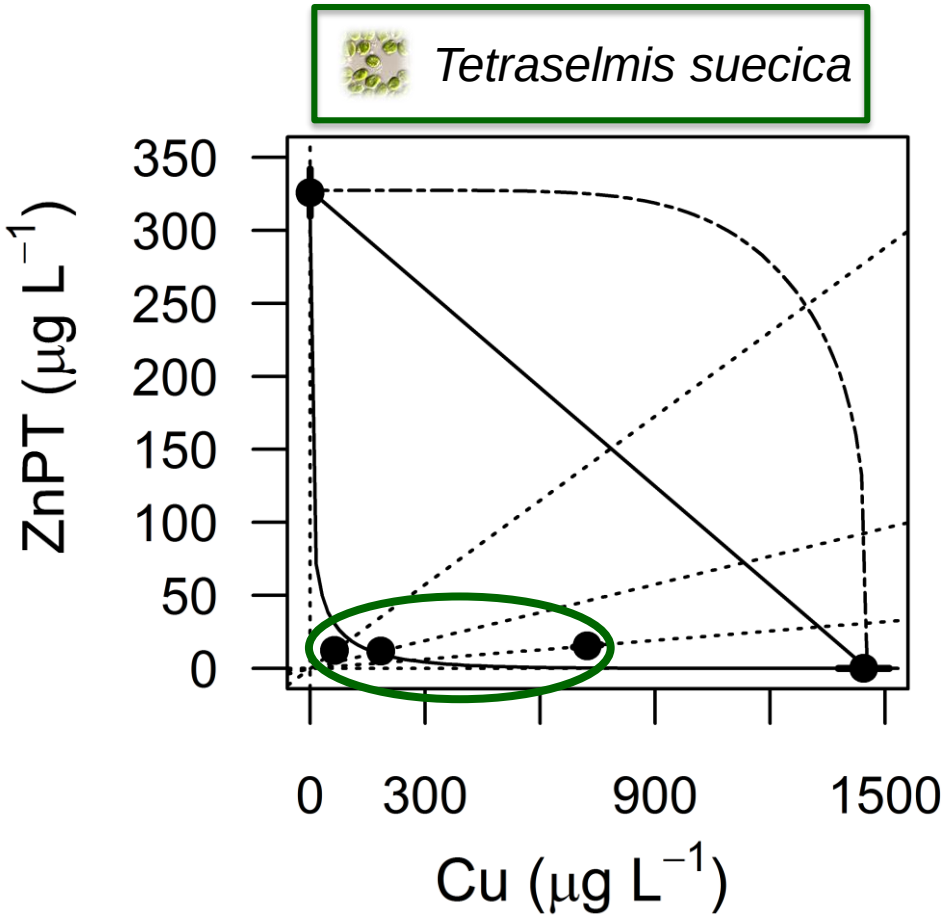
Transchélation du ZnPT en CuPT en présence de Cu^{2+} ?



Grunnet et Dahllöf, 2005

Analyses chimiques (LABOCEA)

Confirmation de la transchélation en condition biotique



Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

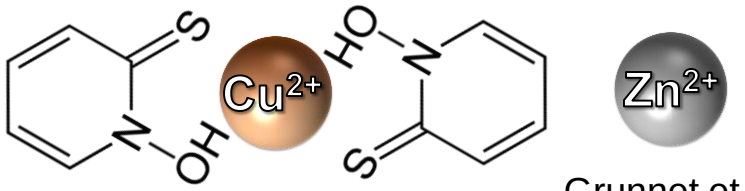
Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

Très forte **synergie** : **$\Sigma TU_{50:50}$ = 0,16, soit Tox_{exp} = 6,25 x Tox_{pred}**

Quelle est la cause de la synergie observée ?

Transchélation du ZnPT en CuPT en présence de Cu^{2+} ?

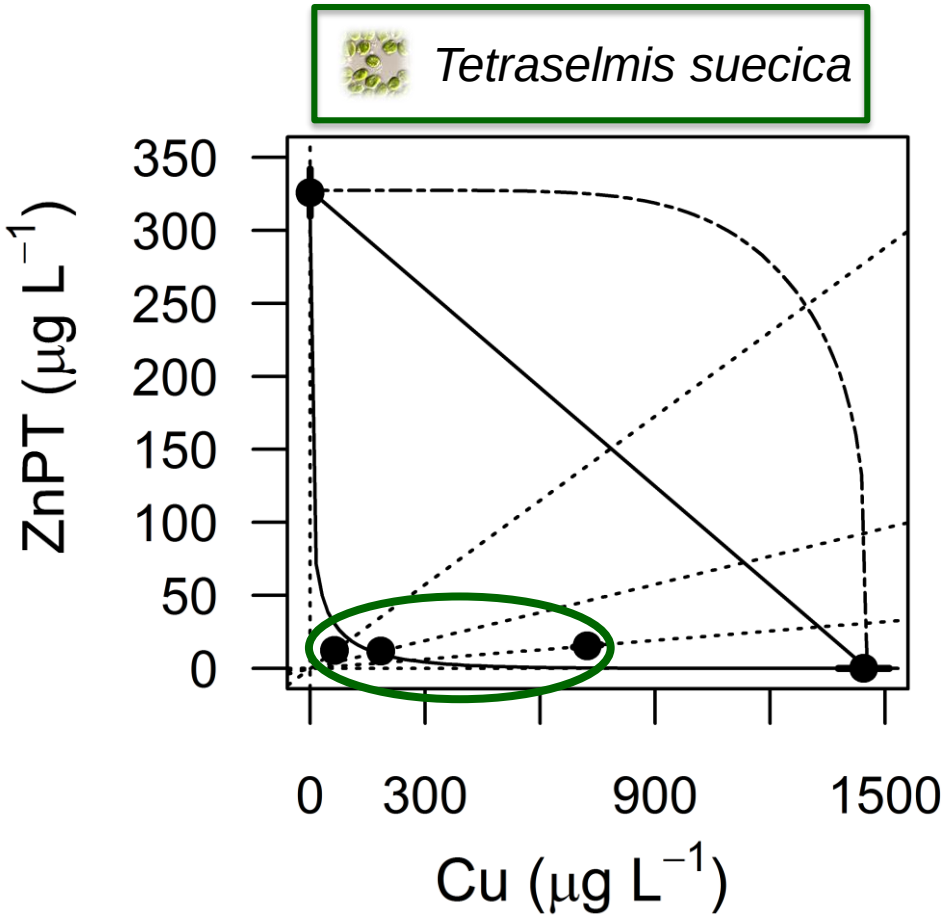


Grunnet et Dahllöf, 2005

Analyses chimiques (LABOCEA)

Confirmation de la transchélation en condition biotique

CuPT : **18 fois plus toxique** que **ZnPT** pour *T. suecica*



Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

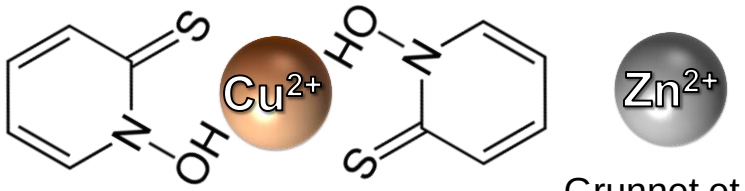
Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

Très forte **synergie** : **$\Sigma TU_{50:50}$ = 0,16, soit Tox_{exp} = 6,25 x Tox_{pred}**

Quelle est la cause de la synergie observée ?

Transchélation du ZnPT en CuPT en présence de Cu^{2+} ?



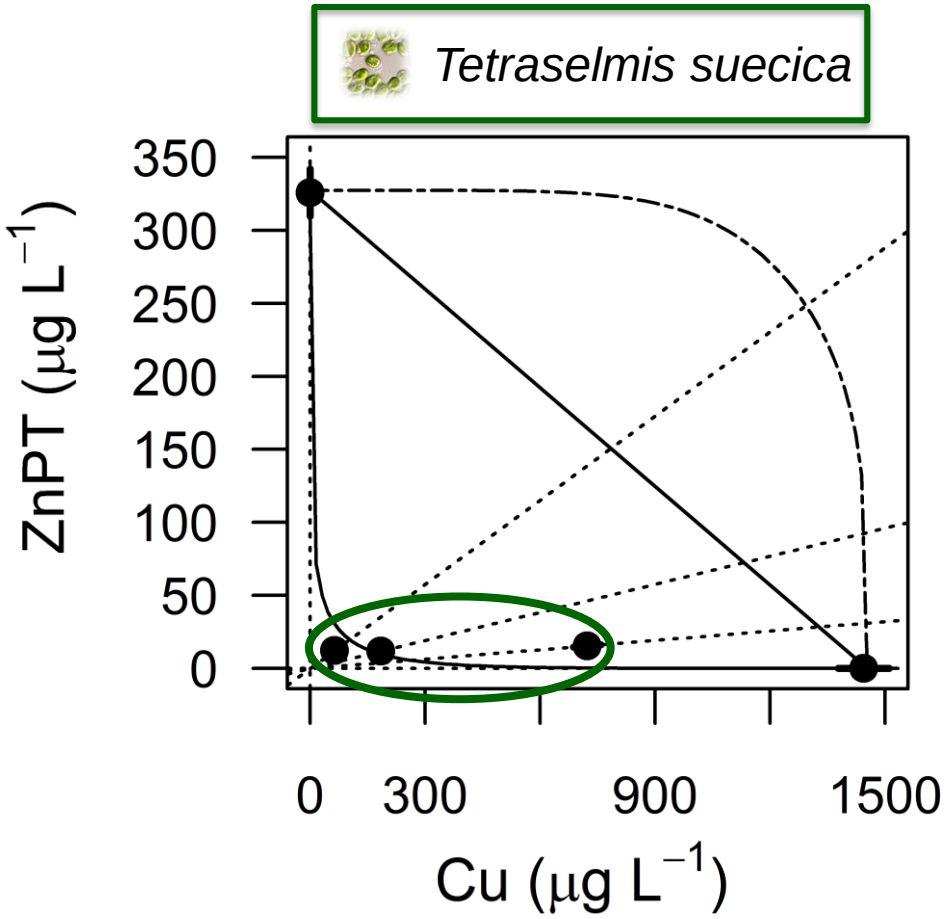
Grunnet et Dahllöf, 2005

Analyses chimiques (LABOCEA)

Confirmation de la transchélation en condition biotique

CuPT : **18 fois plus toxique** que **ZnPT** pour *T. suecica*

Explication de la **synergie** observée



Exemple d'un cas de synergie : ZnPT + Cu

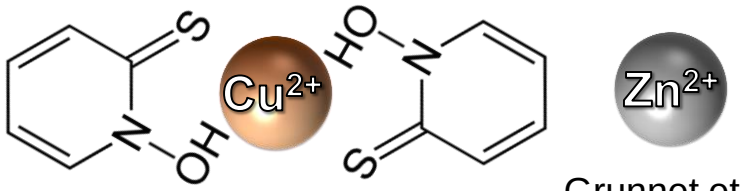
Retrouve-t-on cette synergie chez d'autres espèces de microalgues marines ?

Test du mélange sur 3 espèces de microalgues marines

Très forte **synergie** : **$\Sigma TU_{50:50}$ = 0,16, soit Tox_{exp} = 6,25 x Tox_{pred}**

Quelle est la cause de la synergie observée ?

Transchélation du ZnPT en CuPT en présence de Cu^{2+} ?



Grunnet et Dahllöf, 2005

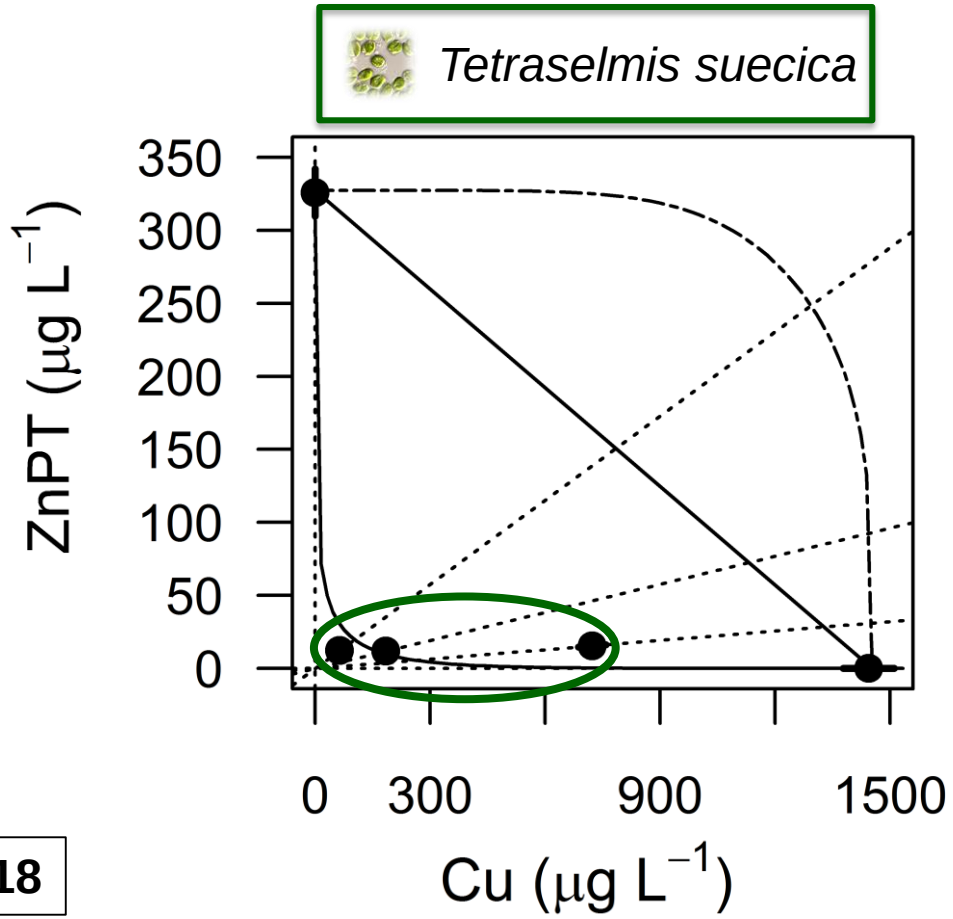
Analyses chimiques (LABOCEA)

Confirmation de la transchélation en condition biotique

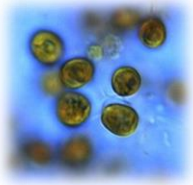
CuPT : **18 fois plus toxique** que **ZnPT** pour *T. suecica*

Explication de la **synergie** observée

Dupraz *et al*. 2018

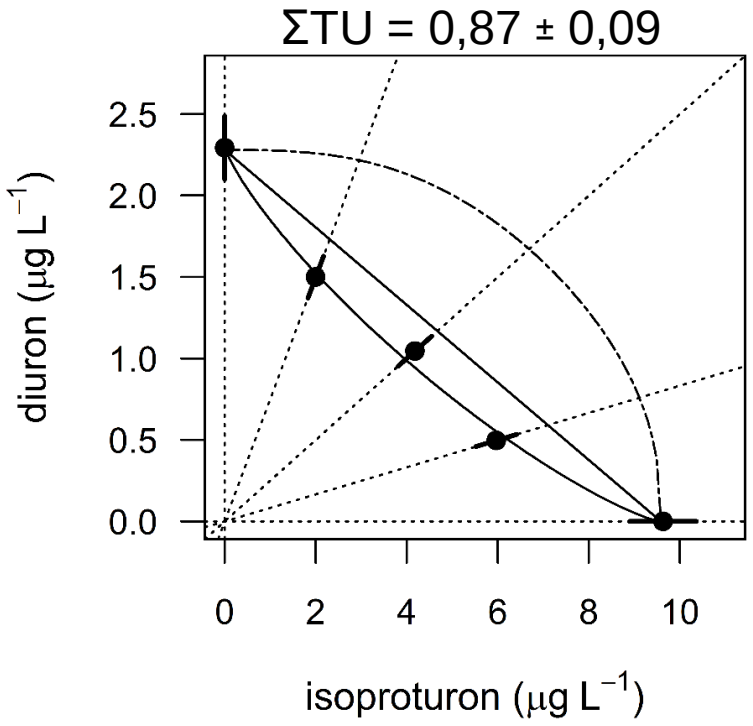


Résultats : mélanges binaires de pesticides

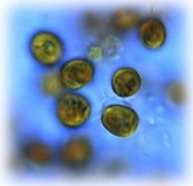


- isoproturon + diuron : même mode d'action = **additivité**

Tisochrysis lutea

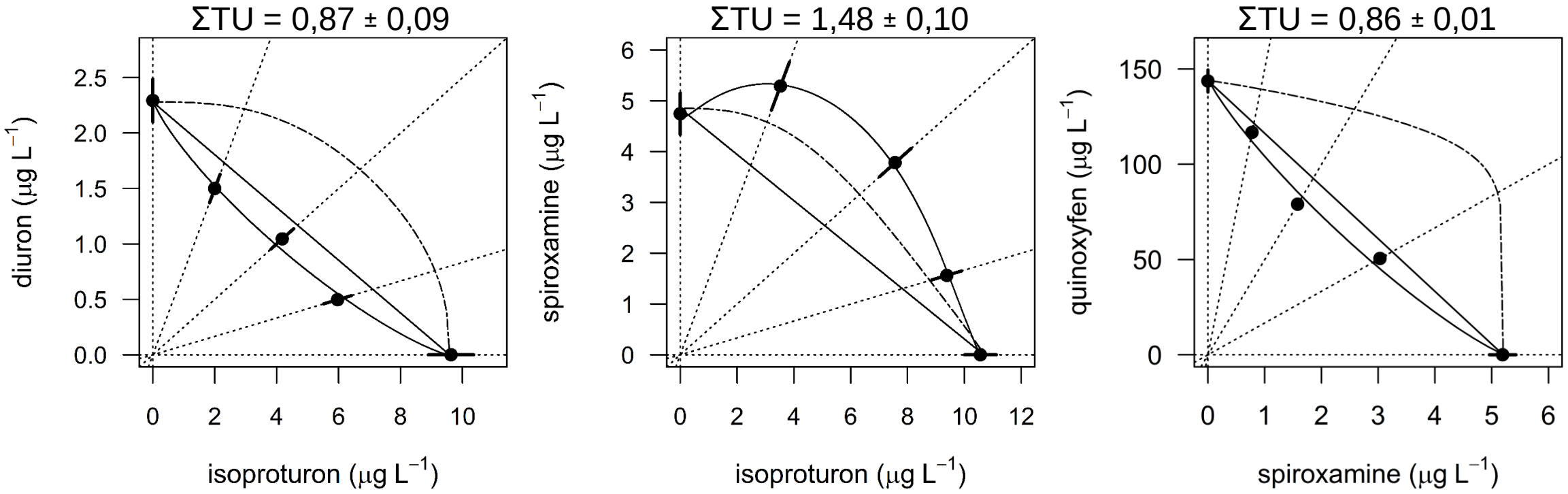


Résultats : mélanges binaires de pesticides

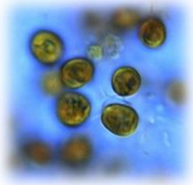


Tisochrysis lutea

- isoproturon + diuron : même mode d'action = **additivité**
- La plupart des interactions sont proches de **l'additivité**

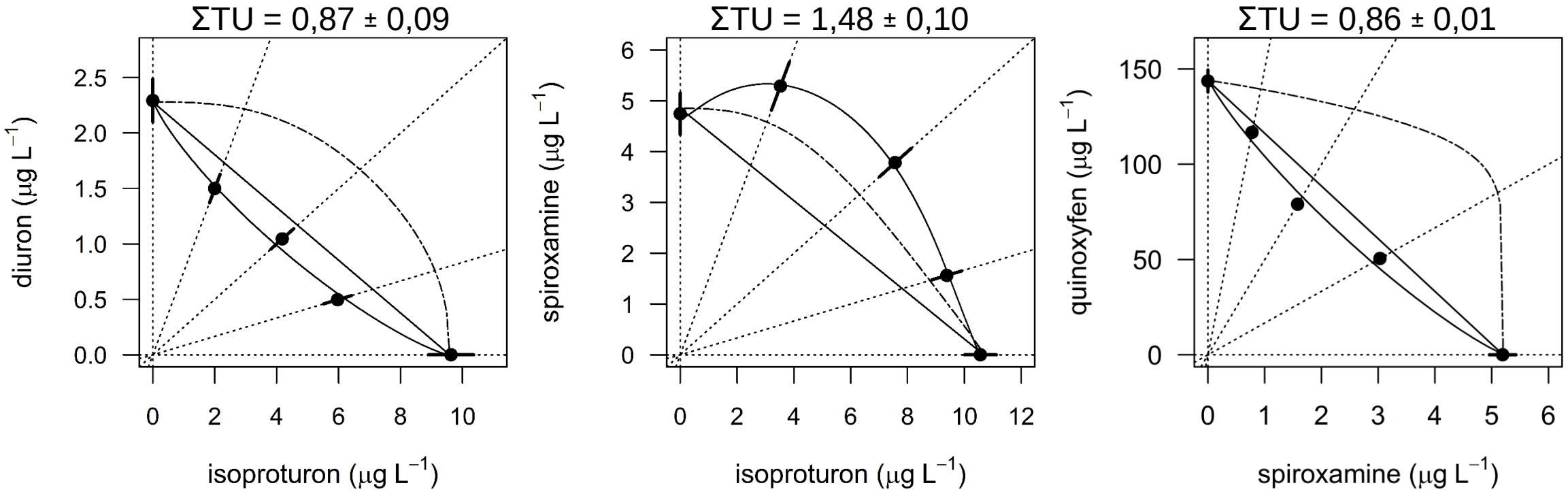


Résultats : mélanges binaires de pesticides

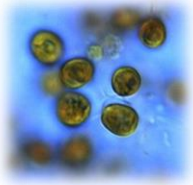


Tisochrysis lutea

- isoproturon + diuron : même mode d'action = **additivité**
- La plupart des interactions sont proches de **l'additivité**
- Aucune interaction avec ΣTU < 0,5 ou > 2 (significativité biologique selon Belden, 2007)

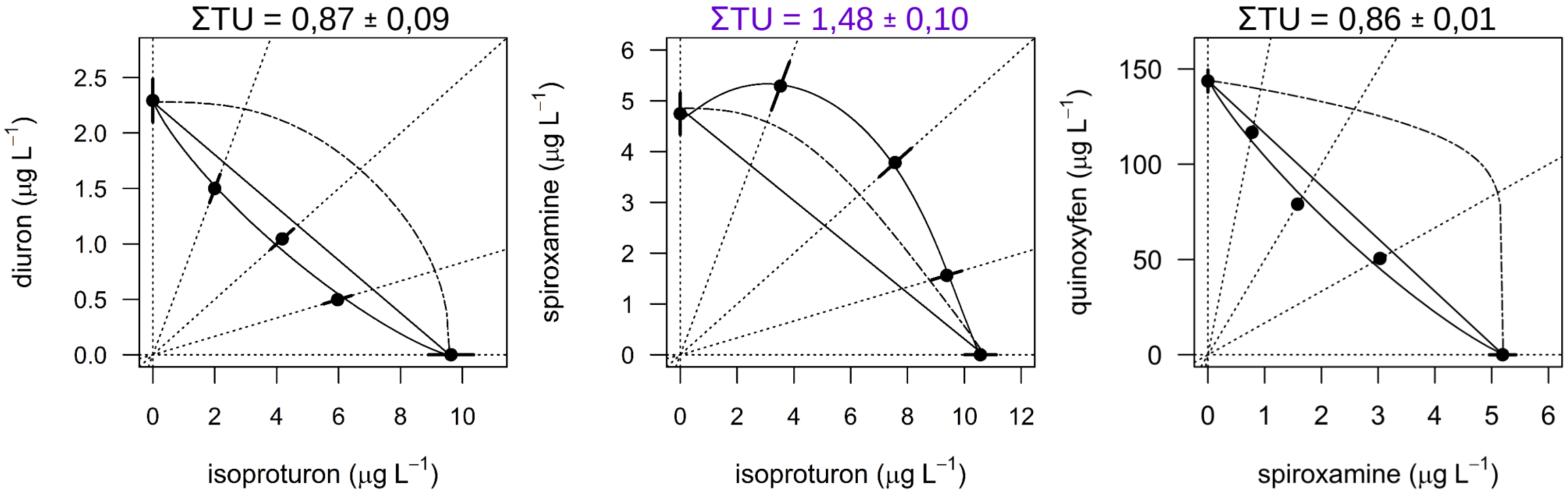


Résultats : mélanges binaires de pesticides

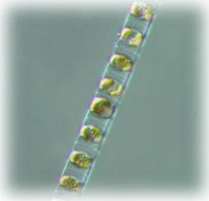


Tisochrysis lutea

- isoproturon + diuron : même mode d'action = **additivité**
- La plupart des interactions sont proches de **l'additivité**
- Aucune interaction avec ΣTU < 0,5 ou > 2 (significativité biologique selon Belden, 2007)

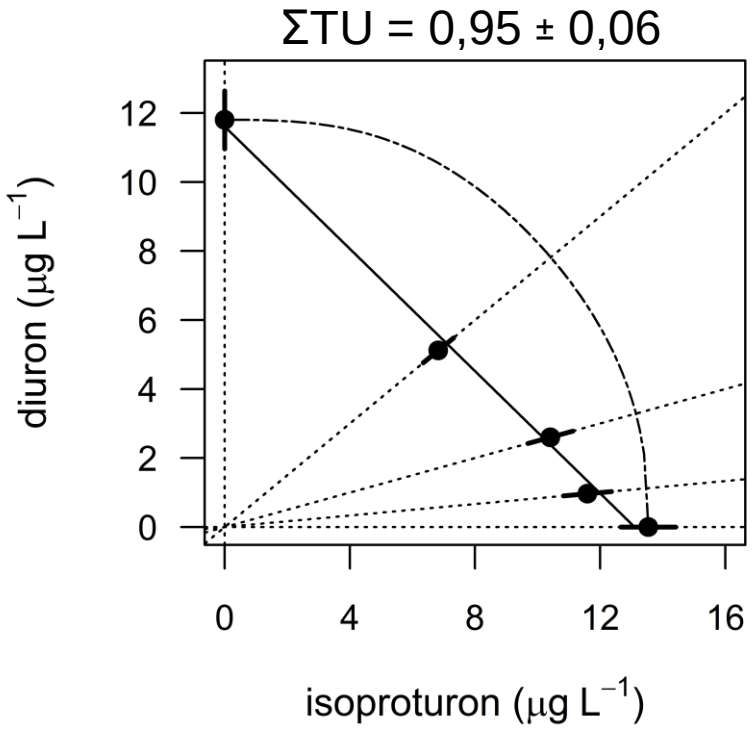


Résultats : mélanges binaires de pesticides

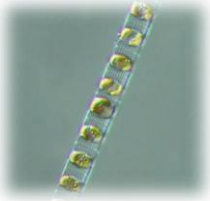


- isoproturon + diuron : même mode d'action = **additivité**

Skeletonema marinoi

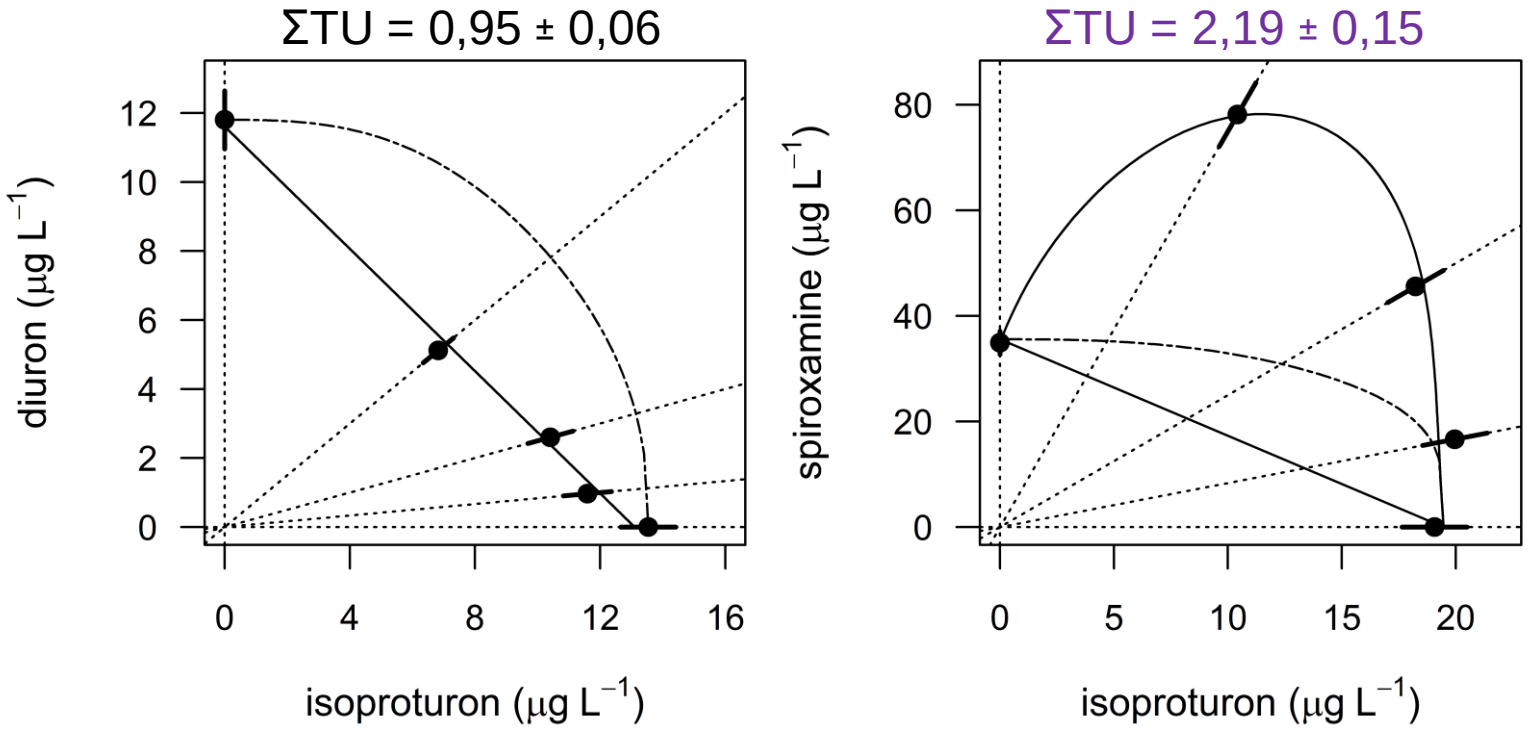


Résultats : mélanges binaires de pesticides

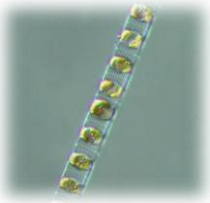


- isoproturon + diuron : même mode d'action = **additivité**
- 2 cas d'**antagonisme** significatif (ΣTU > 2) : isoproturon + spiroxamine/azoxystrobine

Skeletonema marinoi

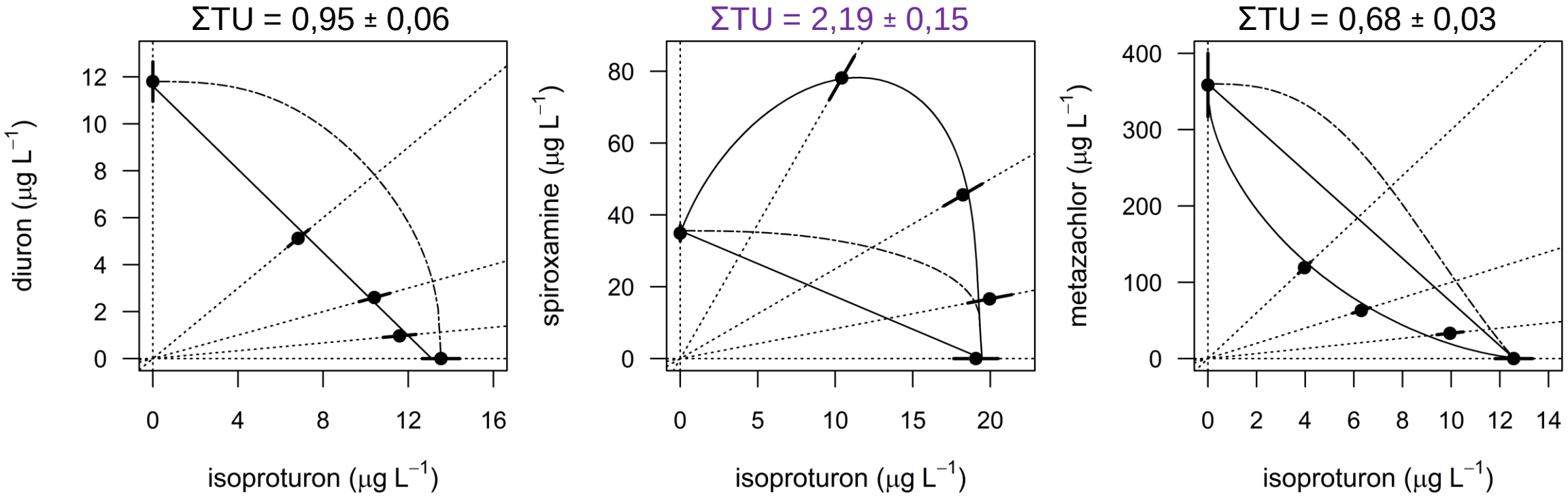


Résultats : mélanges binaires de pesticides

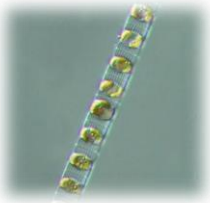


Skeletonema marinoi

- isoproturon + diuron : même mode d'action = **additivité**
- 2 cas d'**antagonisme** significatif (ΣTU > 2) : isoproturon + spiroxamine/azoxystrobine
- 1 cas de **synergie** remarquable : isoproturon + métazachlore

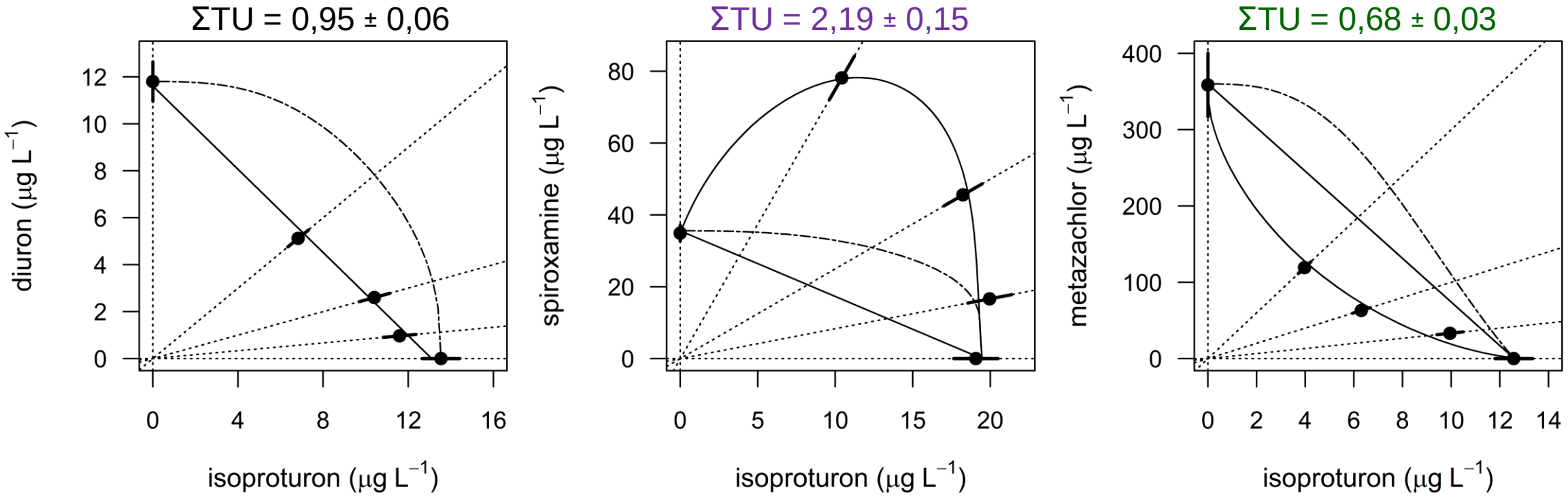


Résultats : mélanges binaires de pesticides

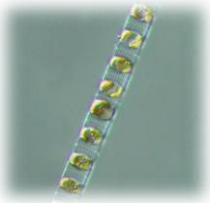


Skeletonema marinoi

- isoproturon + diuron : même mode d'action = **additivité**
- 2 cas d'**antagonisme** significatif (ΣTU > 2) : isoproturon + spiroxamine/azoxystrobine
- 1 cas de **synergie** remarquable : isoproturon + métazachlore

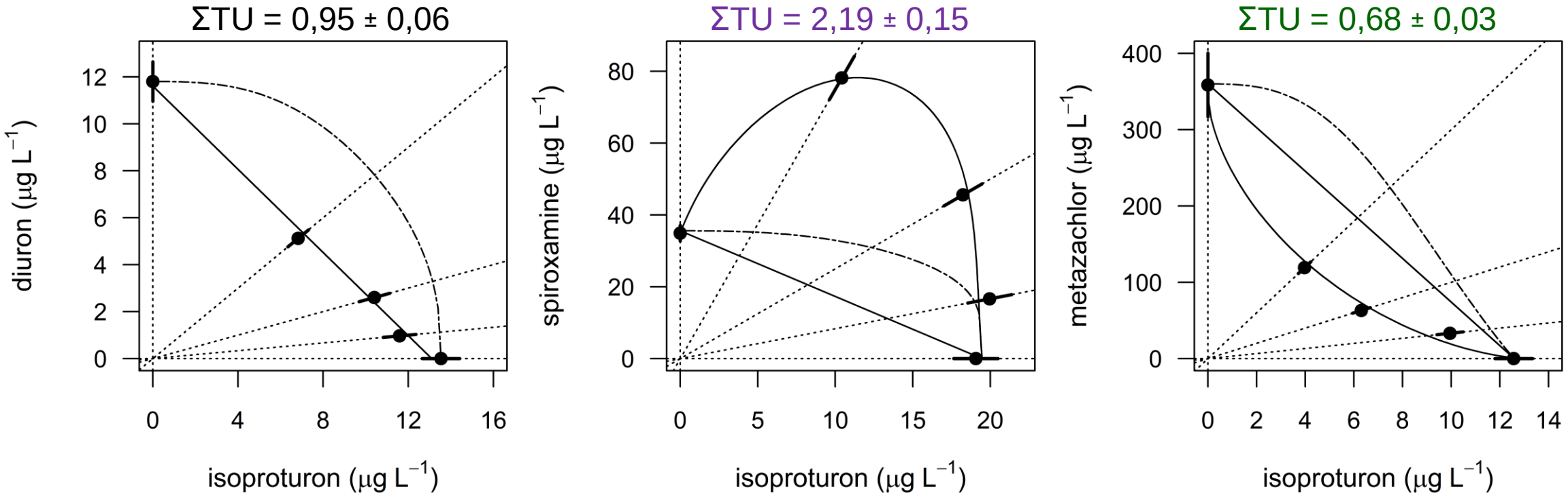


Résultats : mélanges binaires de pesticides



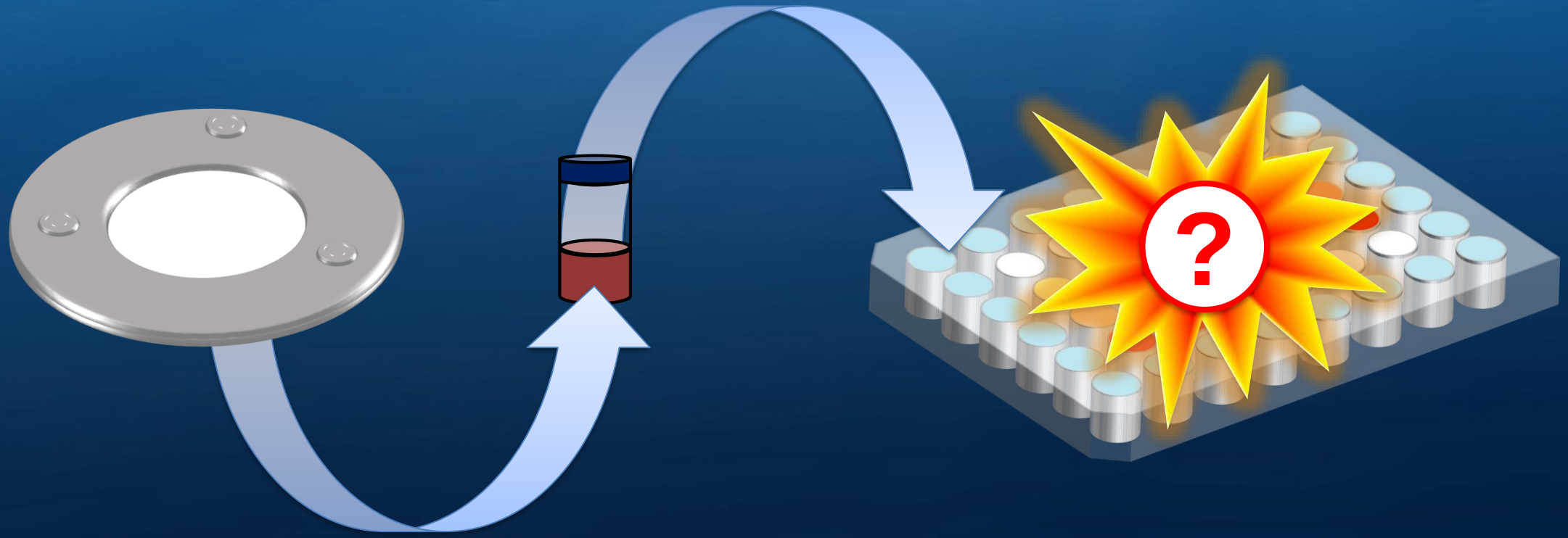
Skeletonema marinoi

- isoproturon + diuron : même mode d'action = **additivité**
- 2 cas d'**antagonisme** significatif (ΣTU > 2) : isoproturon + spiroxamine/azoxystrobine
- 1 cas de **synergie** remarquable : isoproturon + métazachlore



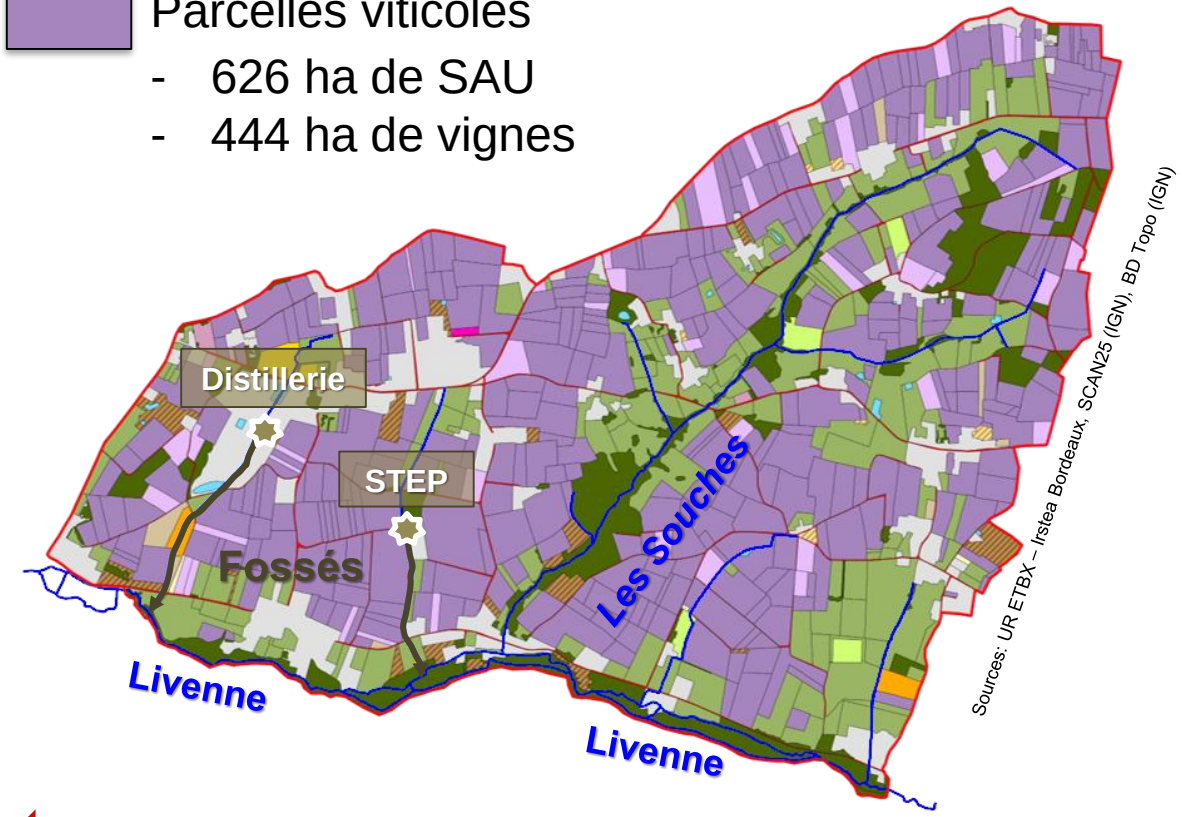
Dupraz *et al*. 2019b

III. Toxicité de mélanges complexes sur la croissance



Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

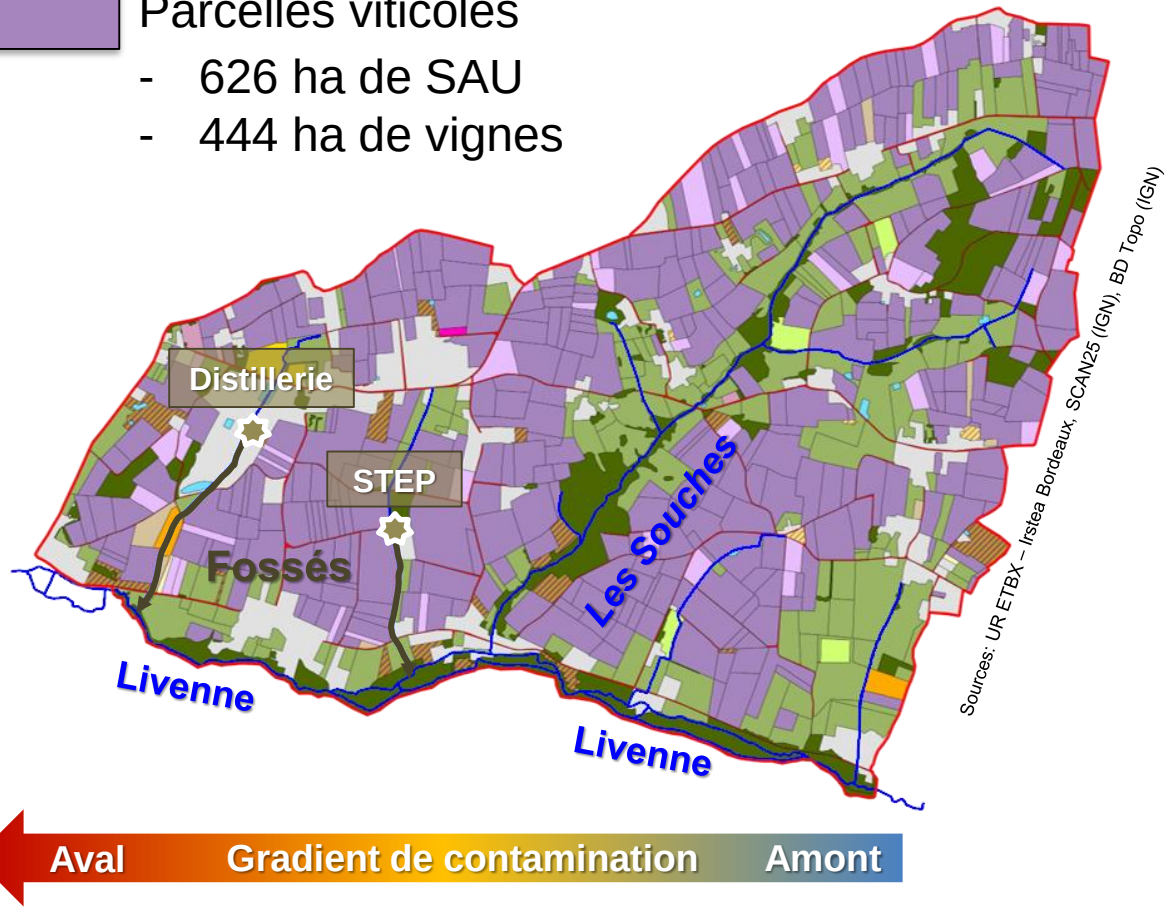
Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



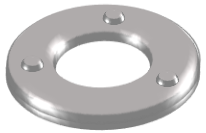
Aval — Gradient de contamination — Amont

Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



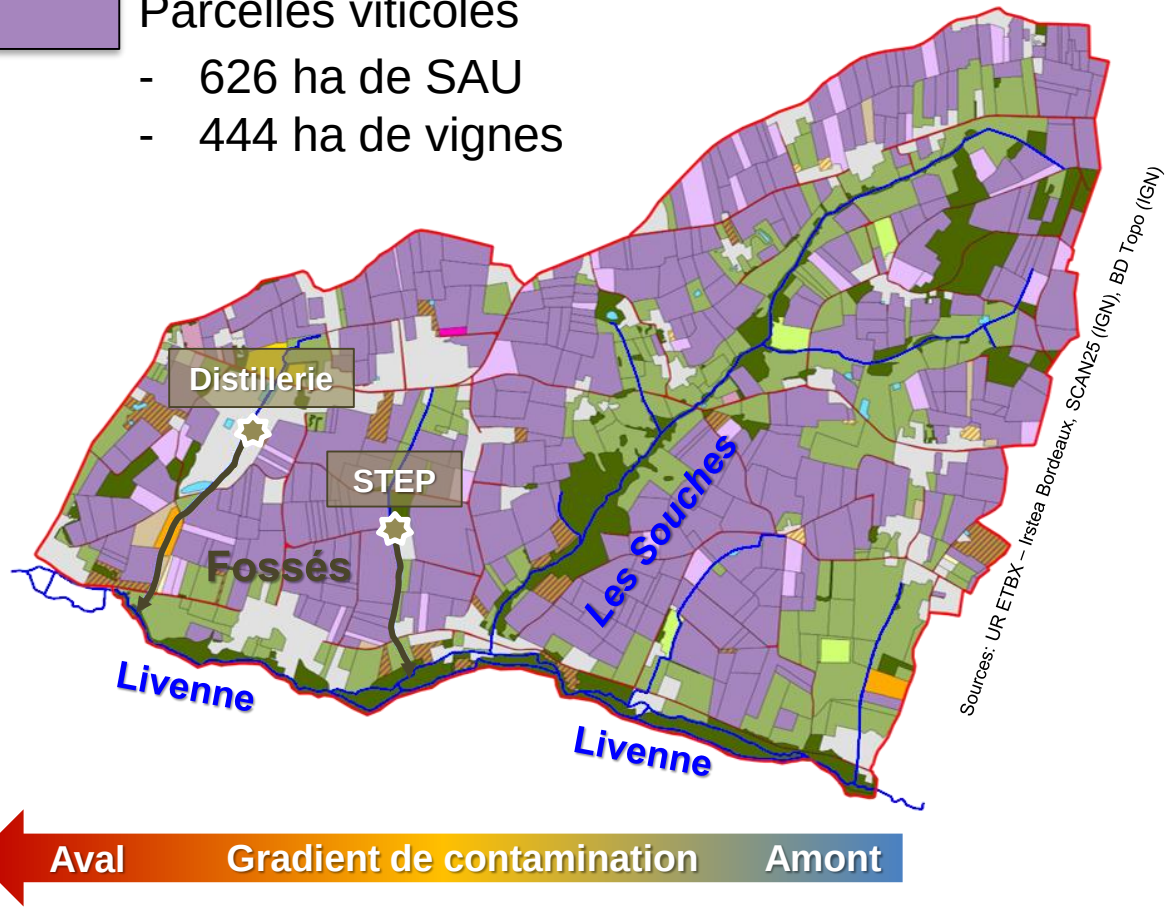
Suivi : 4 périodes d'un mois



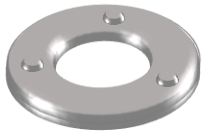
POCIS BIO

Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



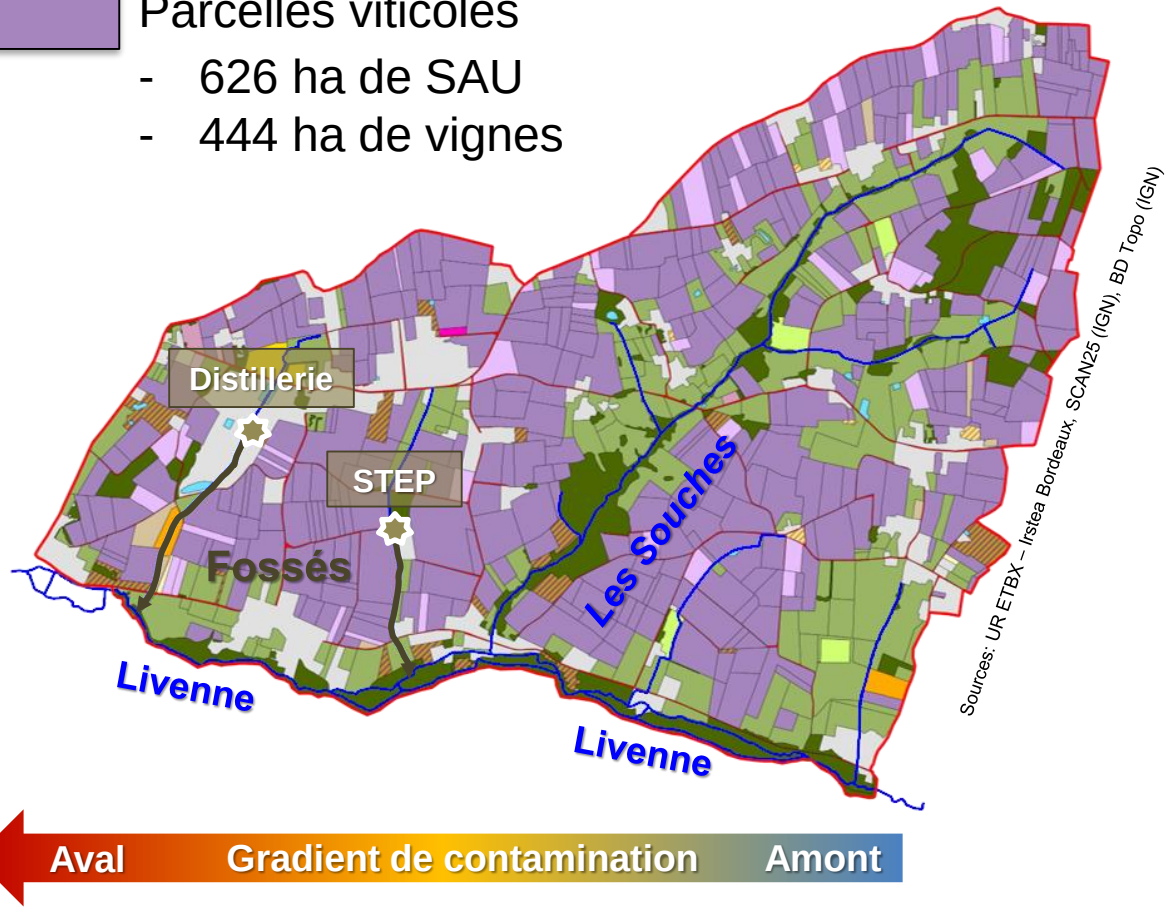
Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)



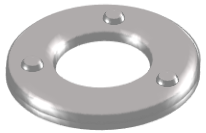
POCIS BIO

Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



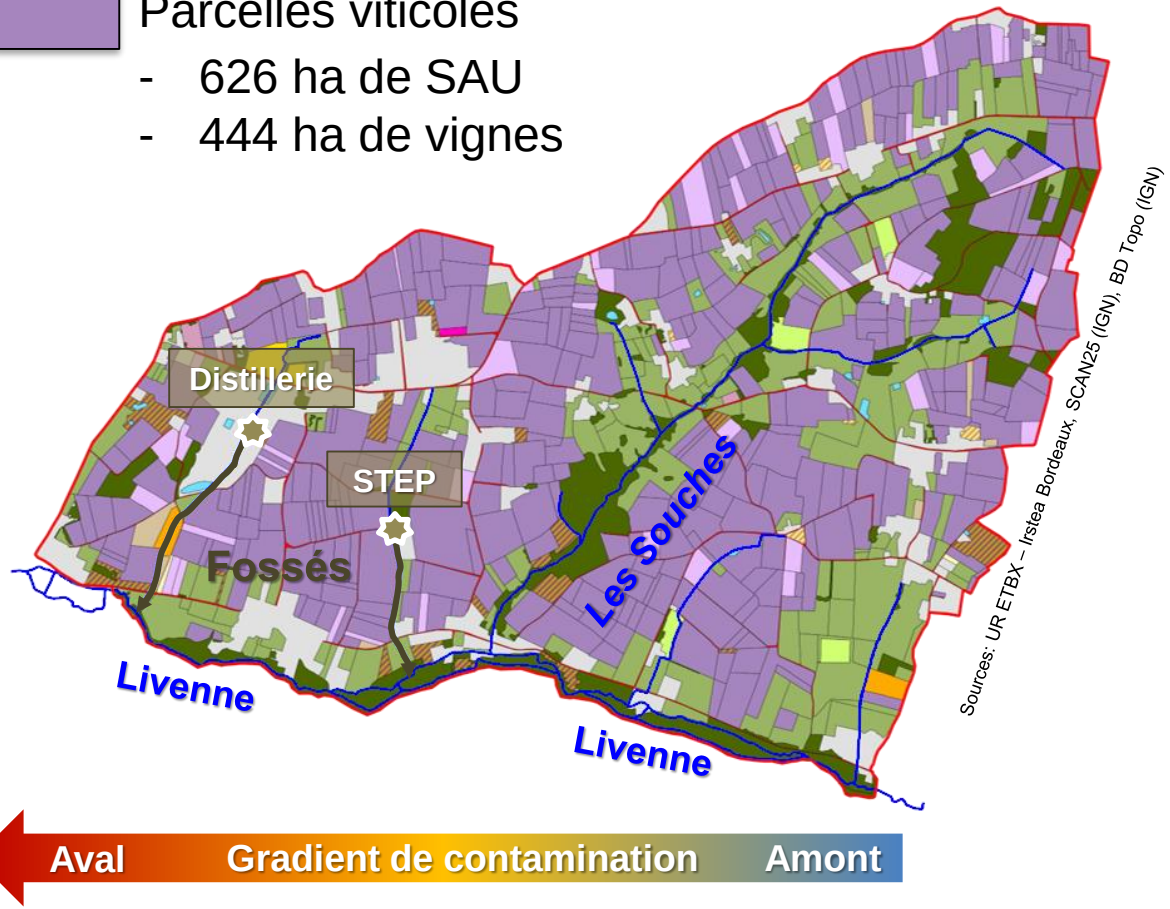
Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.



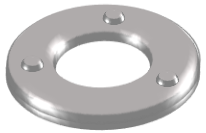
POCIS BIO

Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



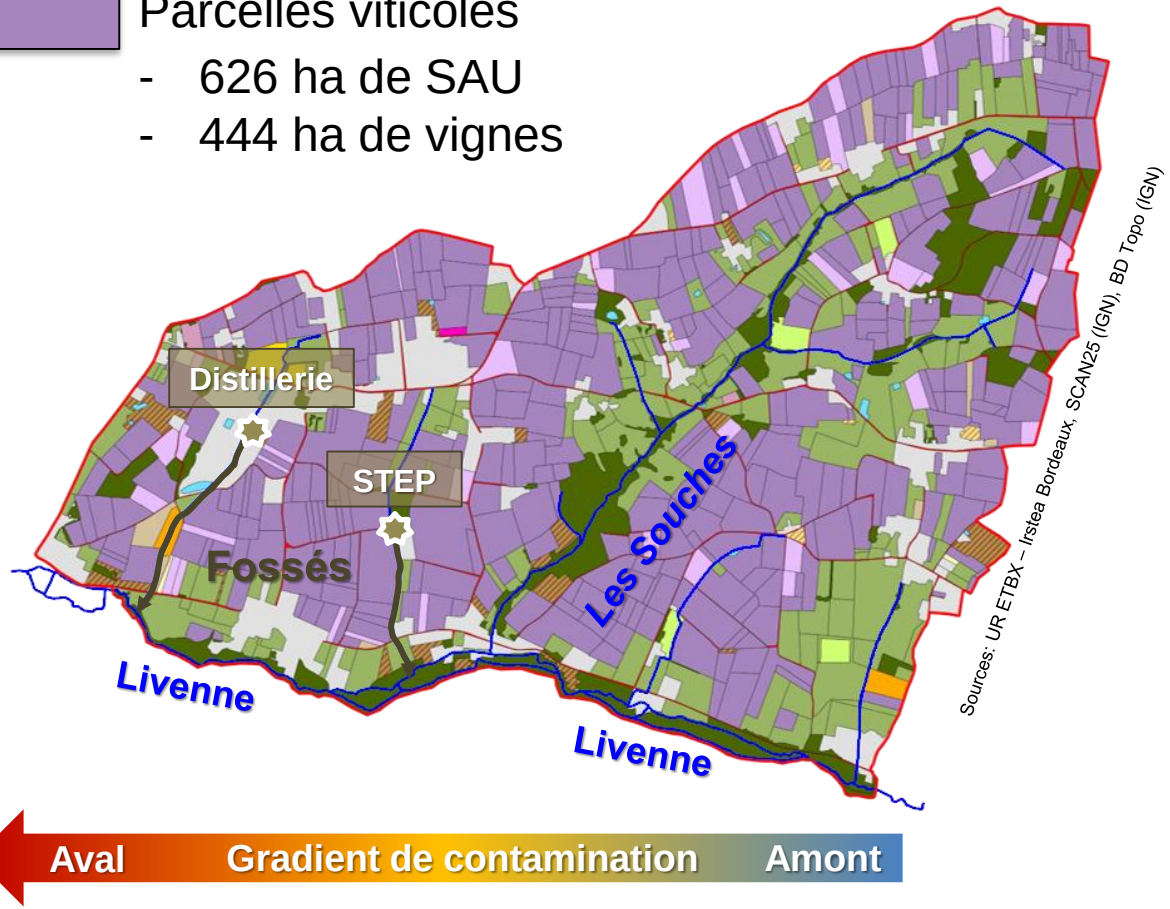
Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.
- Avr.-Mai



POCIS BIO

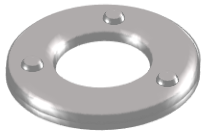
Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.
- Avr.-Mai
- Mai-Juin

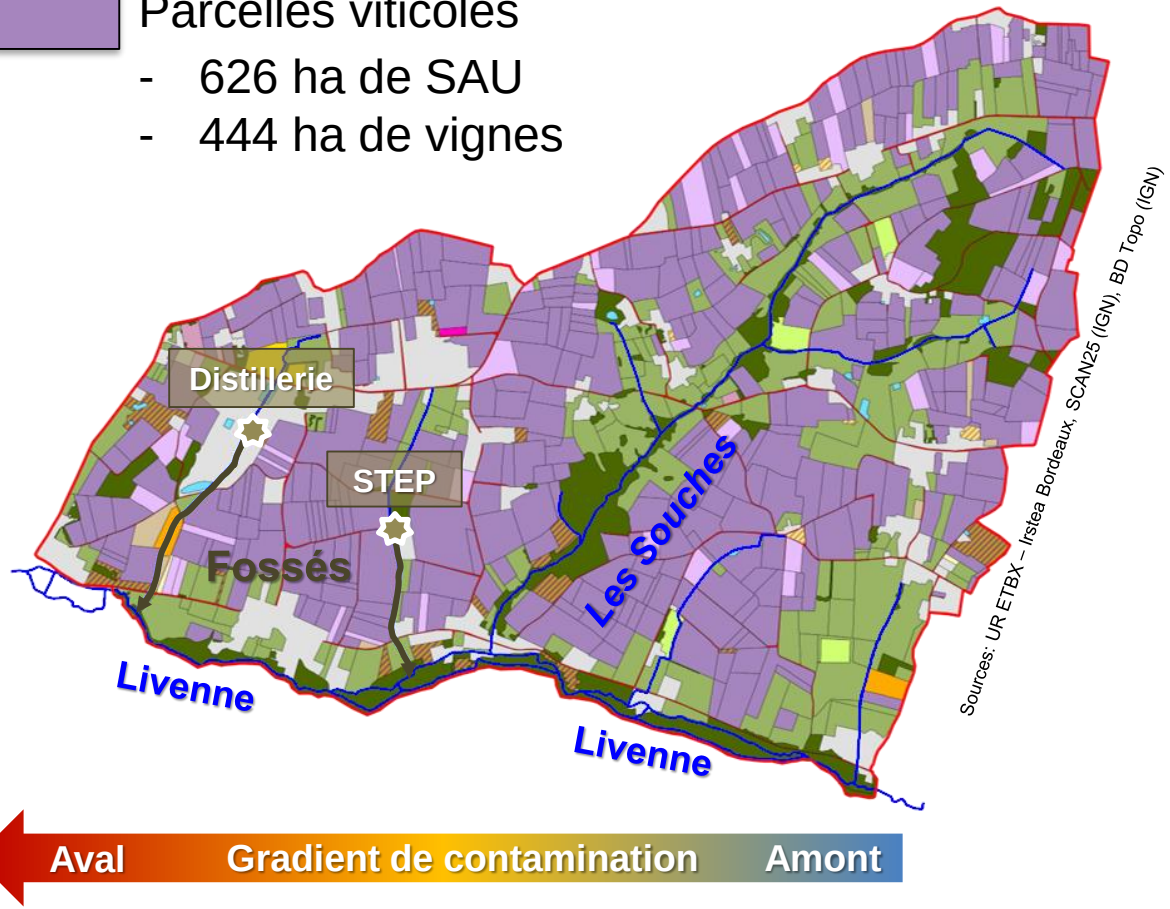
} Traitements phytosanitaires



POCIS BIO

Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

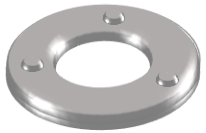
Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.
- Avr.-Mai
- Mai-Juin

} Traitements phytosanitaires

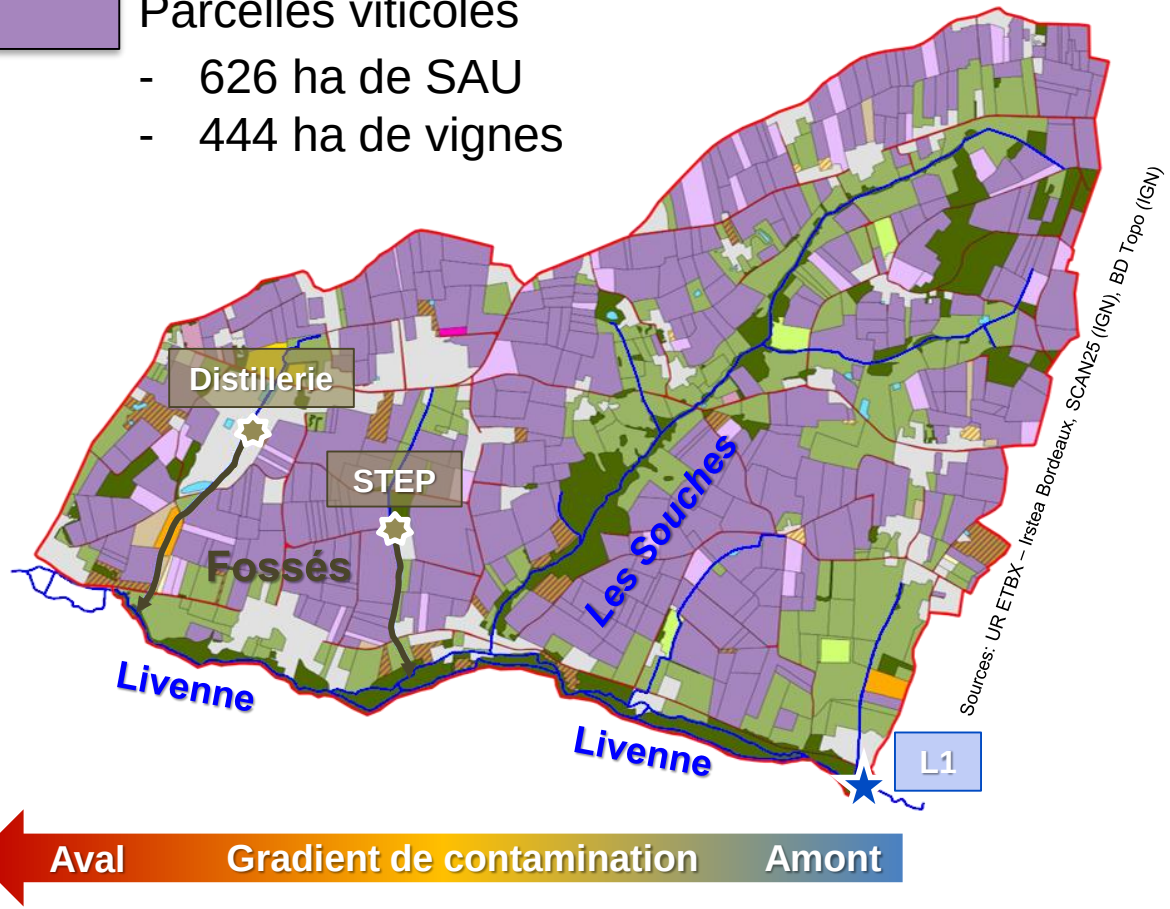
3 stations suivies



POCIS BIO

Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

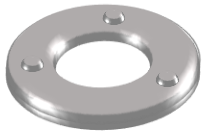
Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.
- Avr.-Mai
- Mai-Juin

} Traitements phytosanitaires

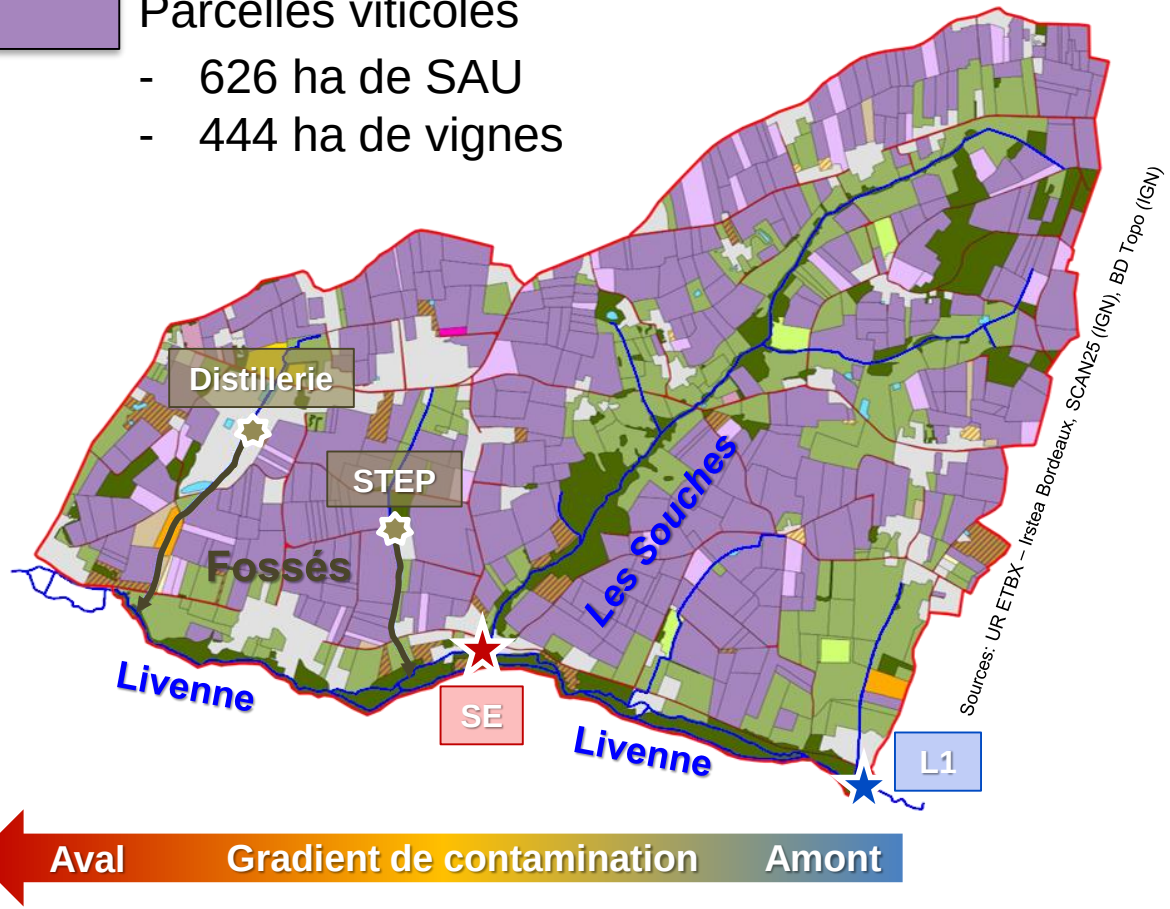
3 stations suivies
- L1 : « bruit de fond »



POCIS BIO

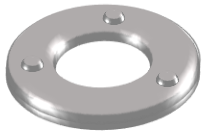
Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.
- Avr.-Mai
- Mai-Juin

} Traitements phytosanitaires

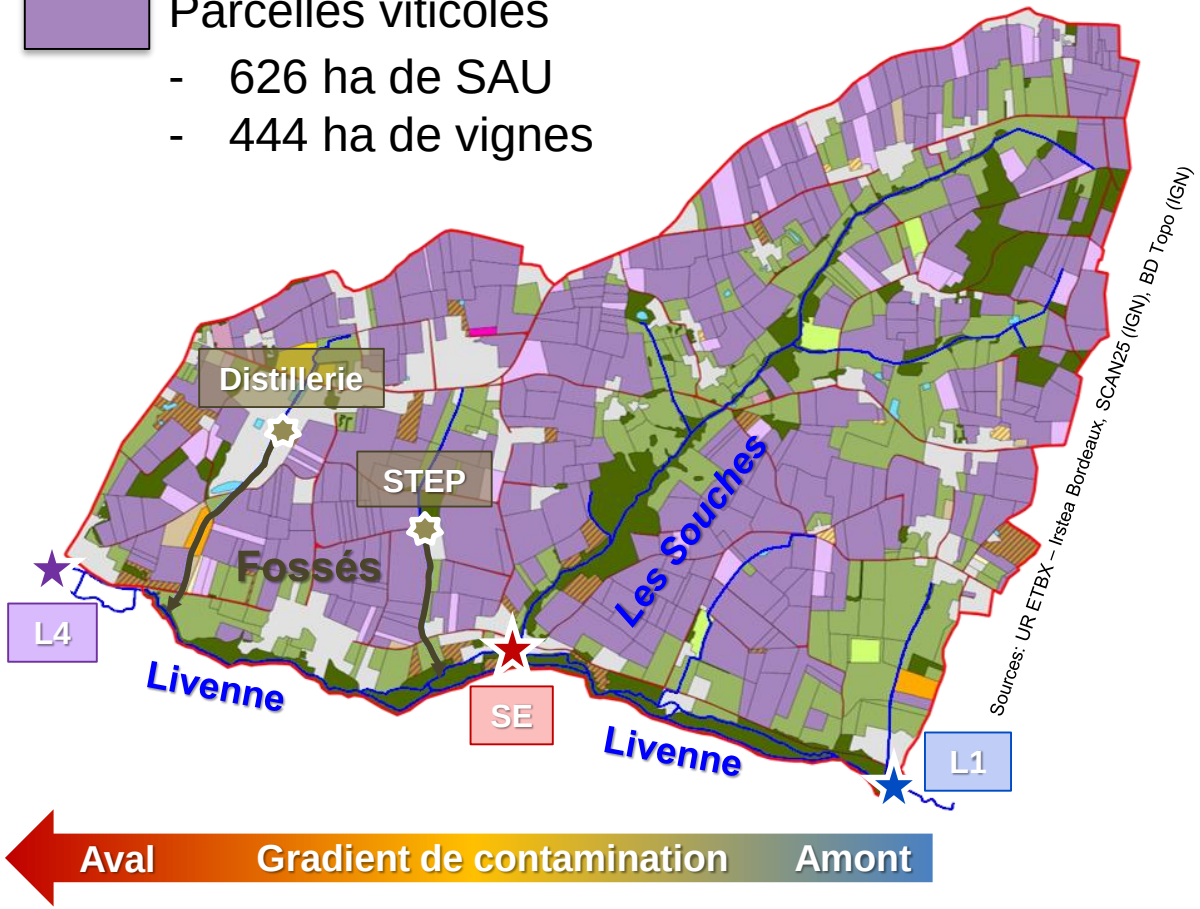


POCIS BIO

3 stations suivies
- L1 : « bruit de fond »
- SE : contamination d'origine viticole

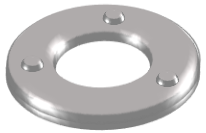
Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.
- Avr.-Mai
- Mai-Juin

} Traitements phytosanitaires

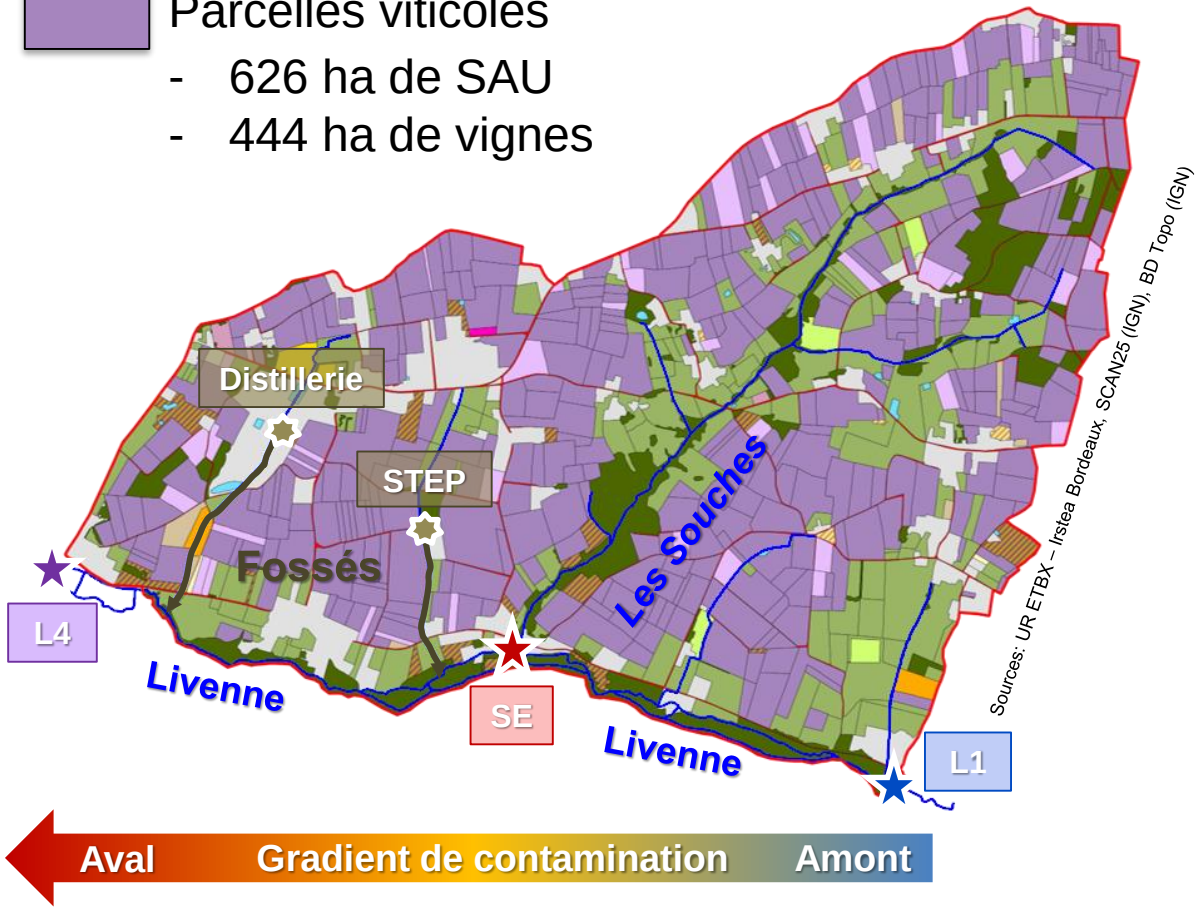


POCIS BIO

3 stations suivies
- L1 : « bruit de fond »
- SE : contamination d'origine viticole
- L4 : contamination viticole + STEP + distillerie

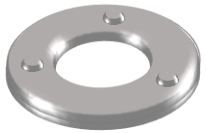
Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes



Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.
- Avr.-Mai
- Mai-Juin

} Traitements phytosanitaires



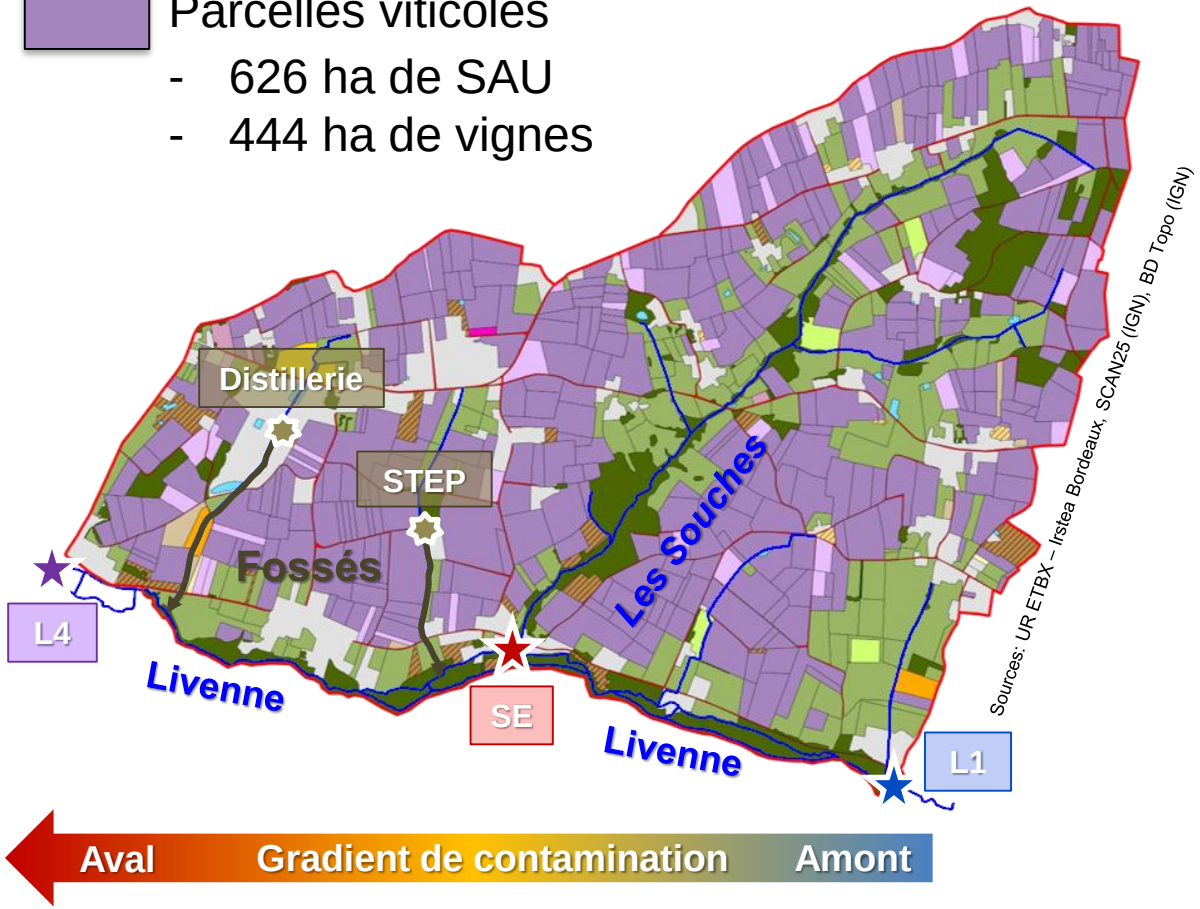
POCIS BIO

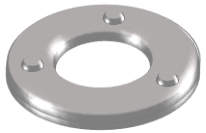
3 stations suivies
- L1 : « bruit de fond »
- SE : contamination d'origine viticole
- L4 : contamination viticole + STEP + distillerie

Déploiement (pour chaque période)

Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes





POCIS BIO

Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.
- Avr.-Mai
- Mai-Juin

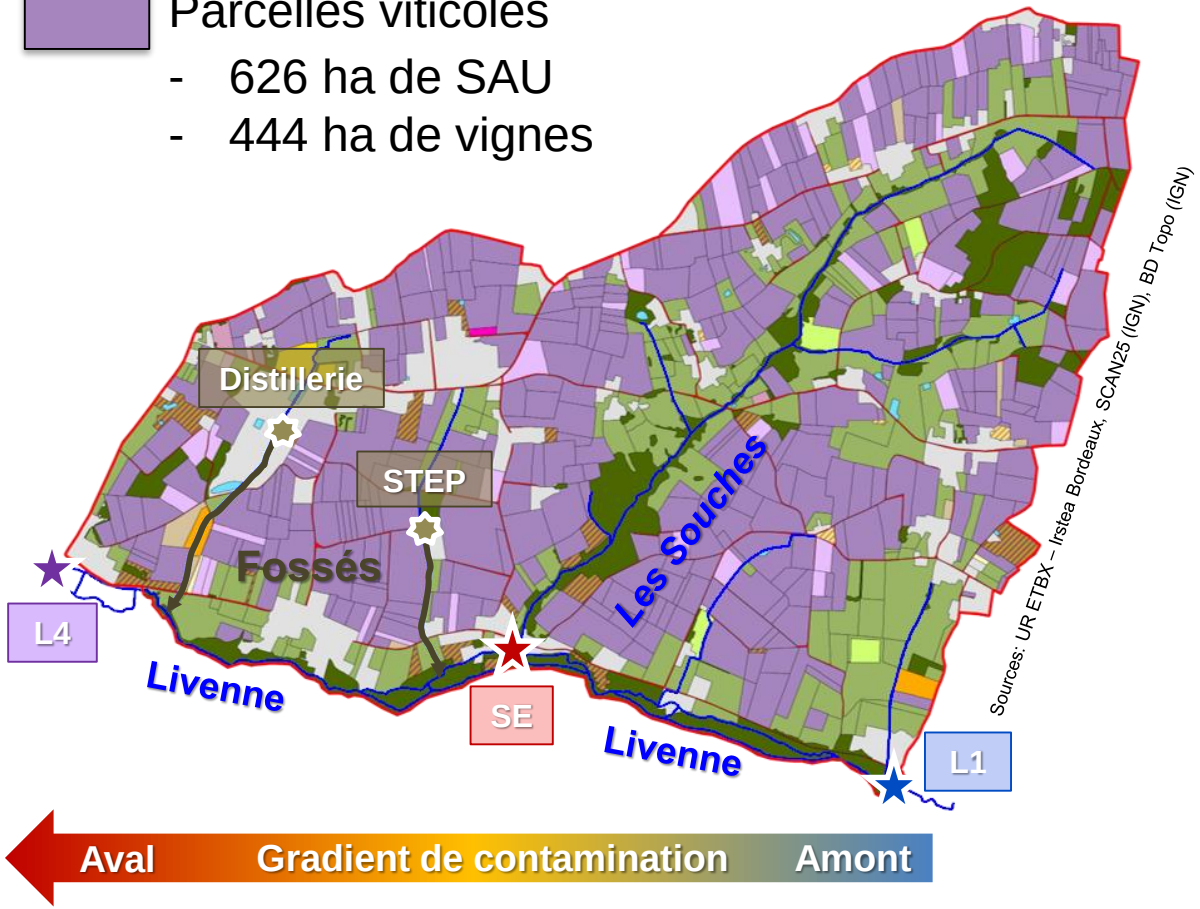
} Traitements phytosanitaires

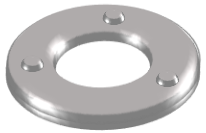
3 stations suivies
- L1 : « bruit de fond »
- SE : contamination d'origine viticole
- L4 : contamination viticole + STEP + distillerie

Déploiement (pour chaque période)
- 12 POCIS/station

Stratégie d'échantillonnage sur le site atelier

Parcelles viticoles
- 626 ha de SAU
- 444 ha de vignes





POCIS BIO

Suivi : 4 périodes d'un mois
- Jan.-Fév. : pas de traitements (témoin)
- Mars-Avr.
- Avr.-Mai
- Mai-Juin

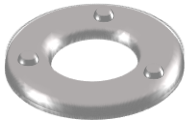
} Traitements phytosanitaires

3 stations suivies
- L1 : « bruit de fond »
- SE : contamination d'origine viticole
- L4 : contamination viticole + STEP + distillerie

Déploiement (pour chaque période)
- 12 POCIS/station
- 12 POCIS témoins (non-exposés)

Extraction et test des extraits de POCIS

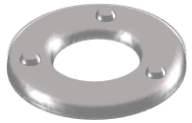
POCIS BIO



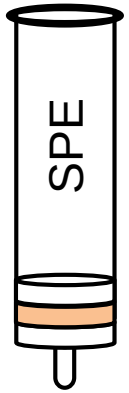
X 12

Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO

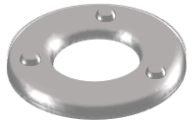


X 12

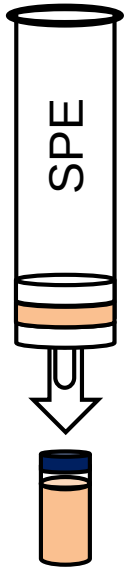


Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO

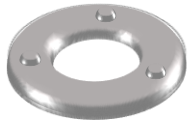


X 12

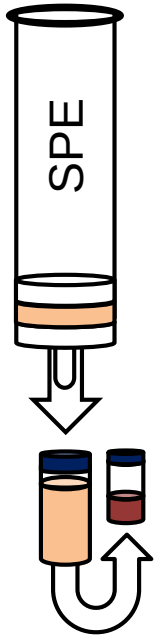


Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO



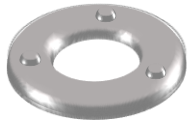
X 12



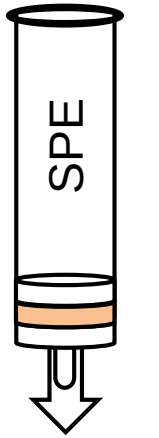
évaporation
& concentration

Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO

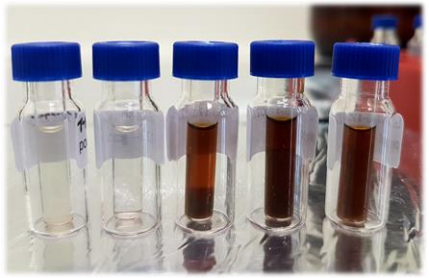


X 12



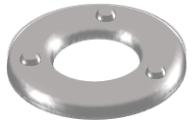
Extrait final
(100% MeOH)

évaporation
& concentration

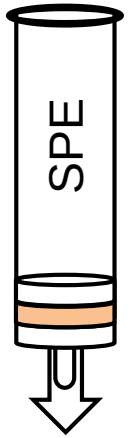


Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO



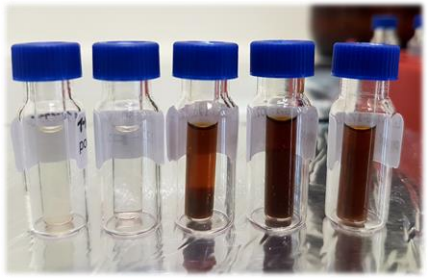
X 12



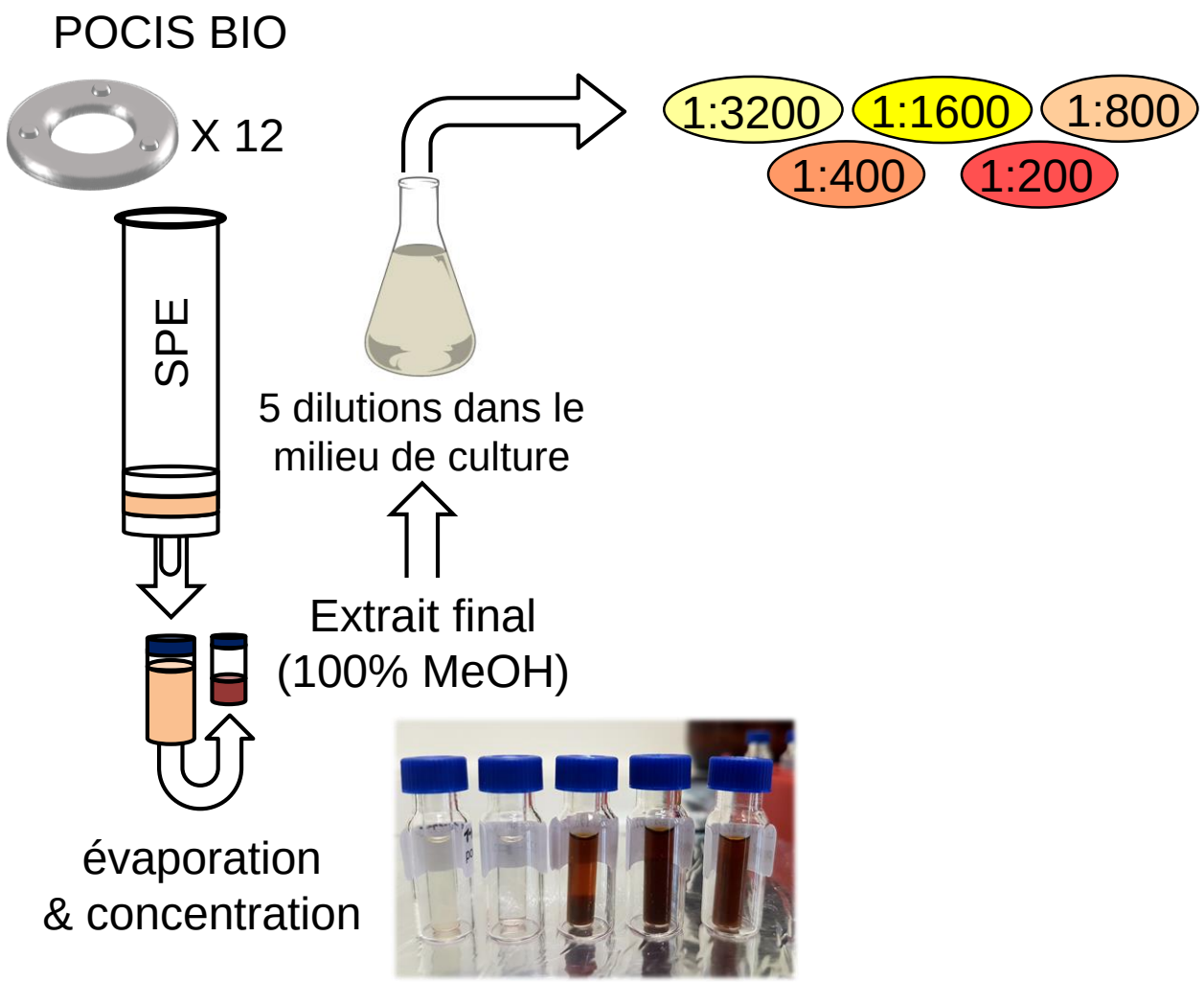
5 dilutions dans le milieu de culture

Extrait final (100% MeOH)

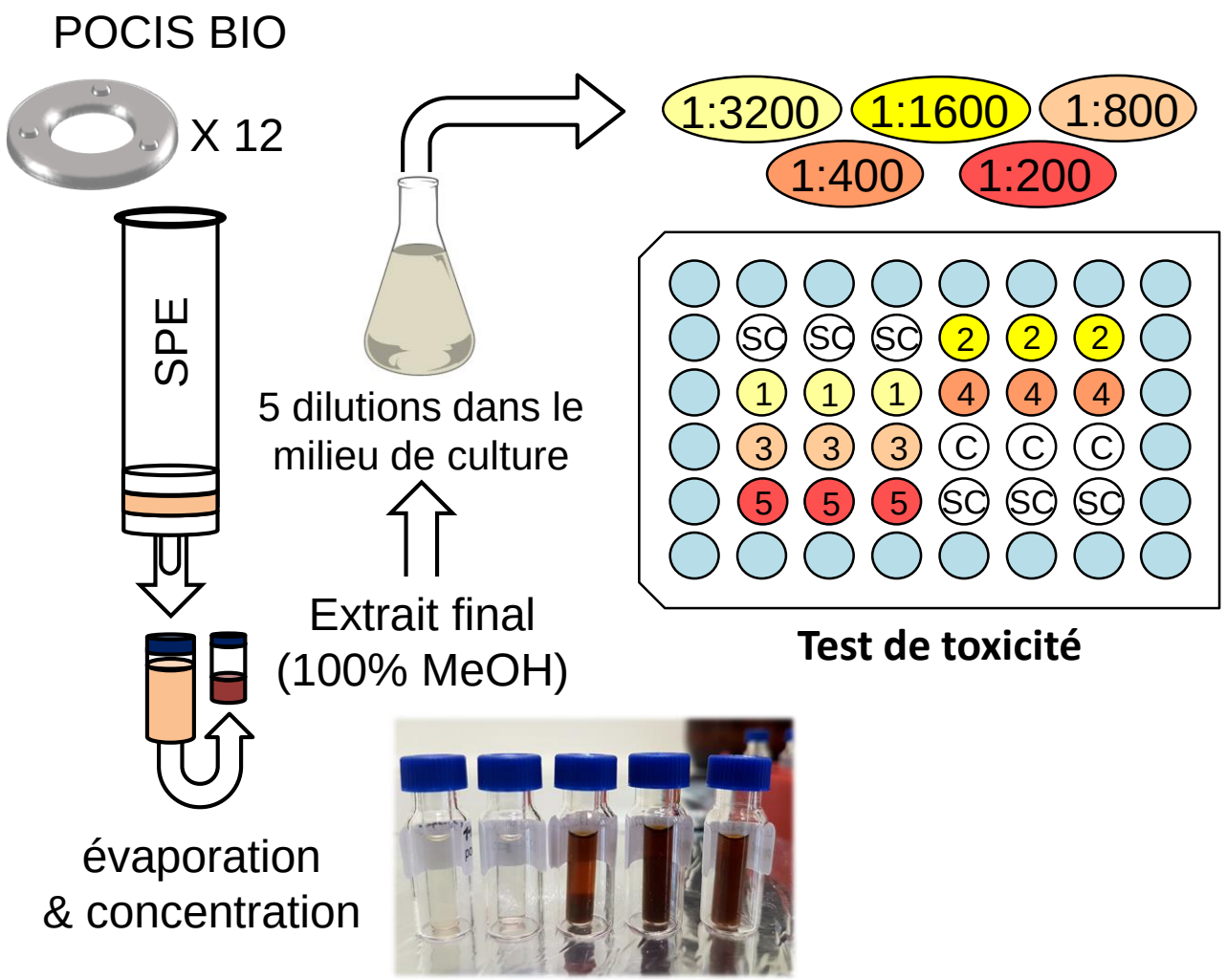
évaporation & concentration



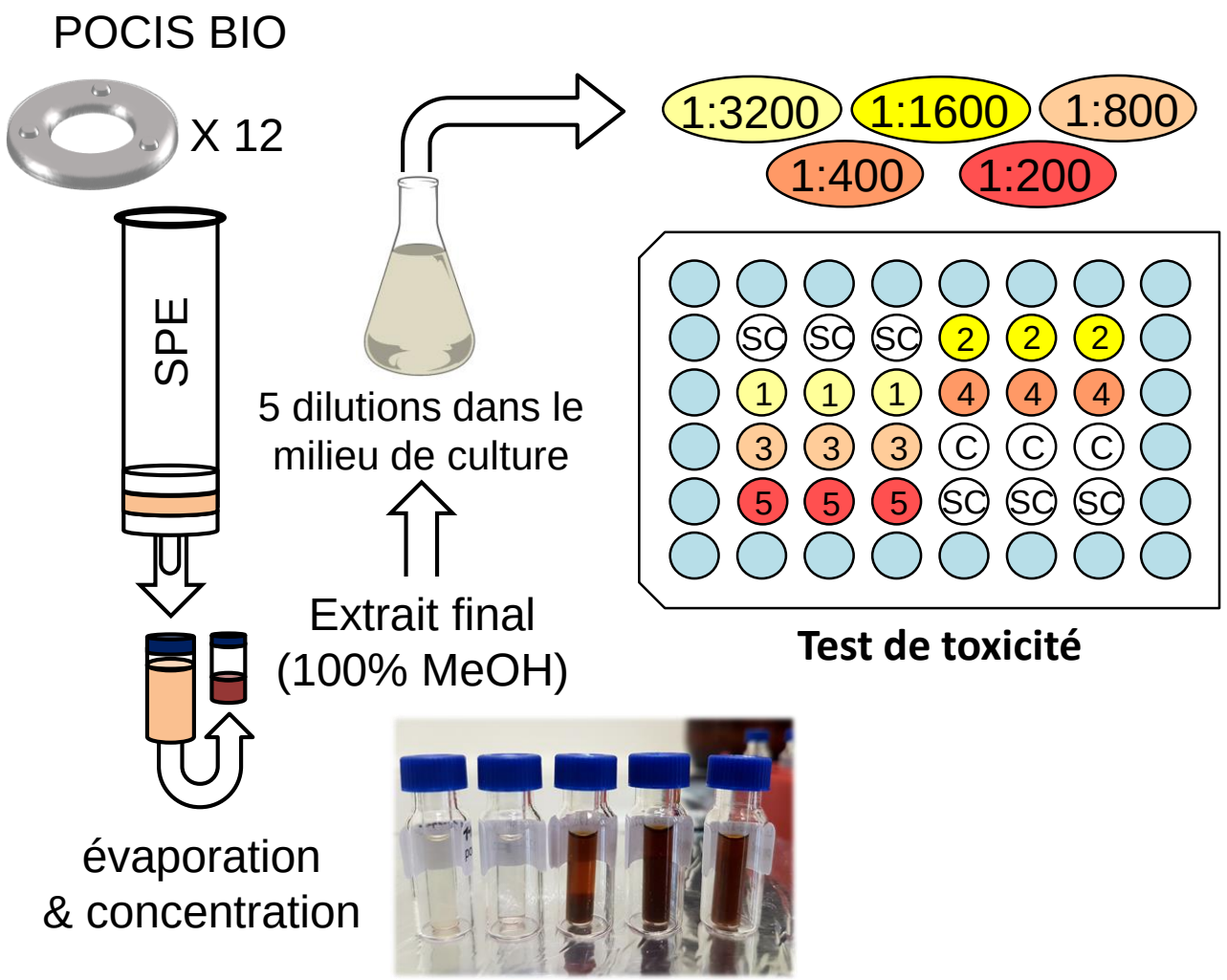
Extraction et test des extraits de POCIS



Extraction et test des extraits de POCIS

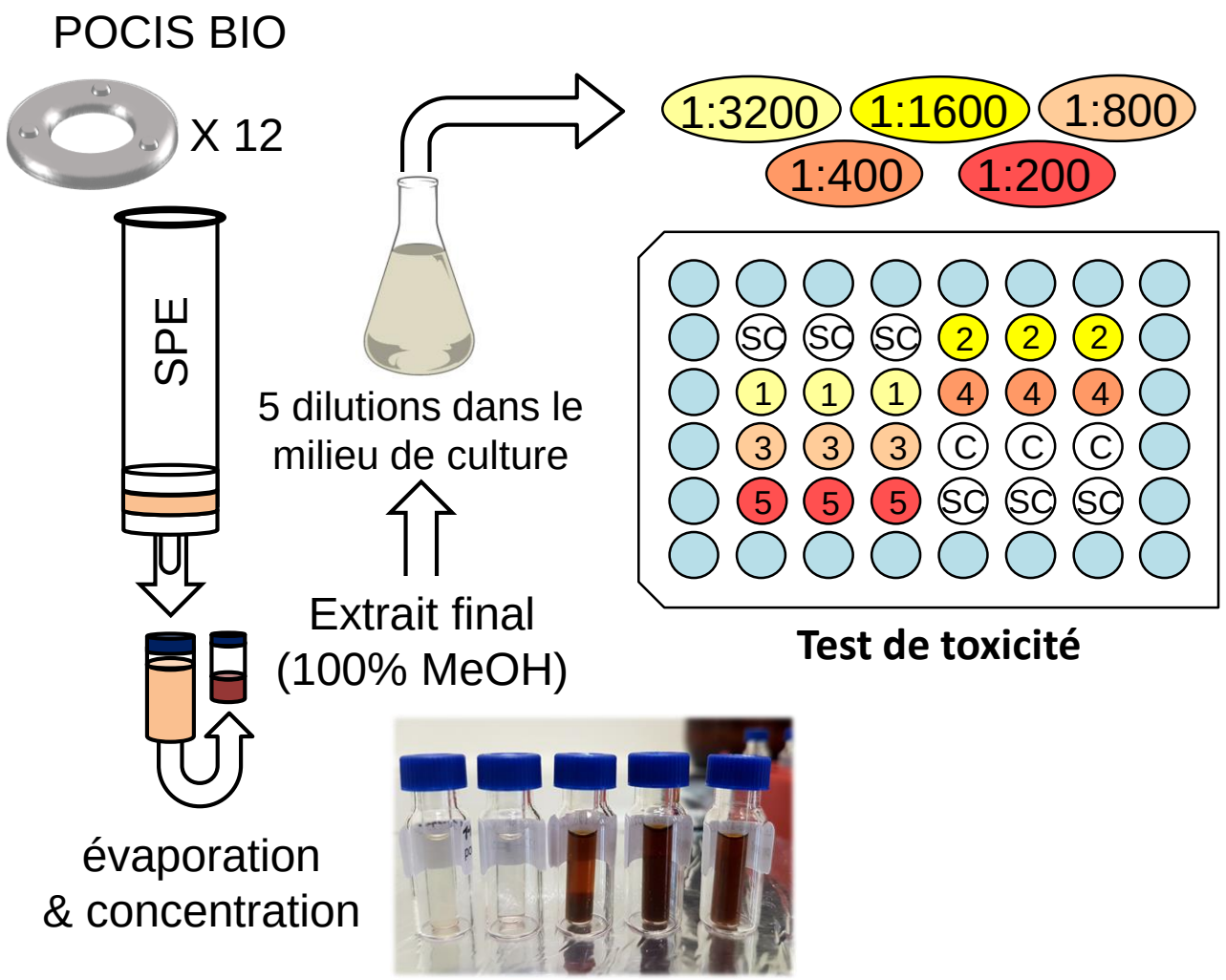


Extraction et test des extraits de POCIS



Expression de la concentration des extraits

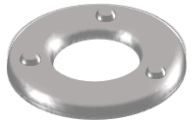
Extraction et test des extraits de POCIS



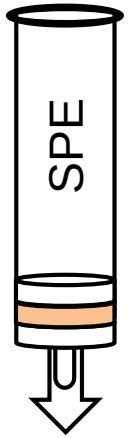
Expression de la concentration des extraits
REF (*Relative Enrichment Factor*)
Facteur de concentration du milieu échantillonné

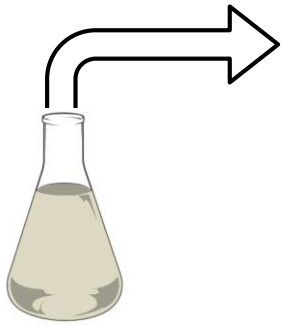
Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO



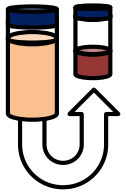
X 12



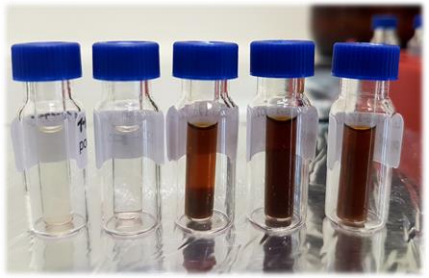


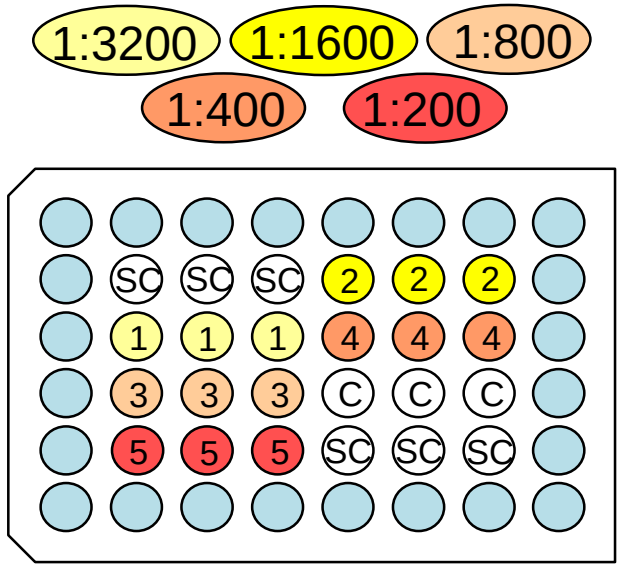
5 dilutions dans le milieu de culture

Extrait final (100% MeOH)



évaporation & concentration





Test de toxicité

Expression de la concentration des extraits

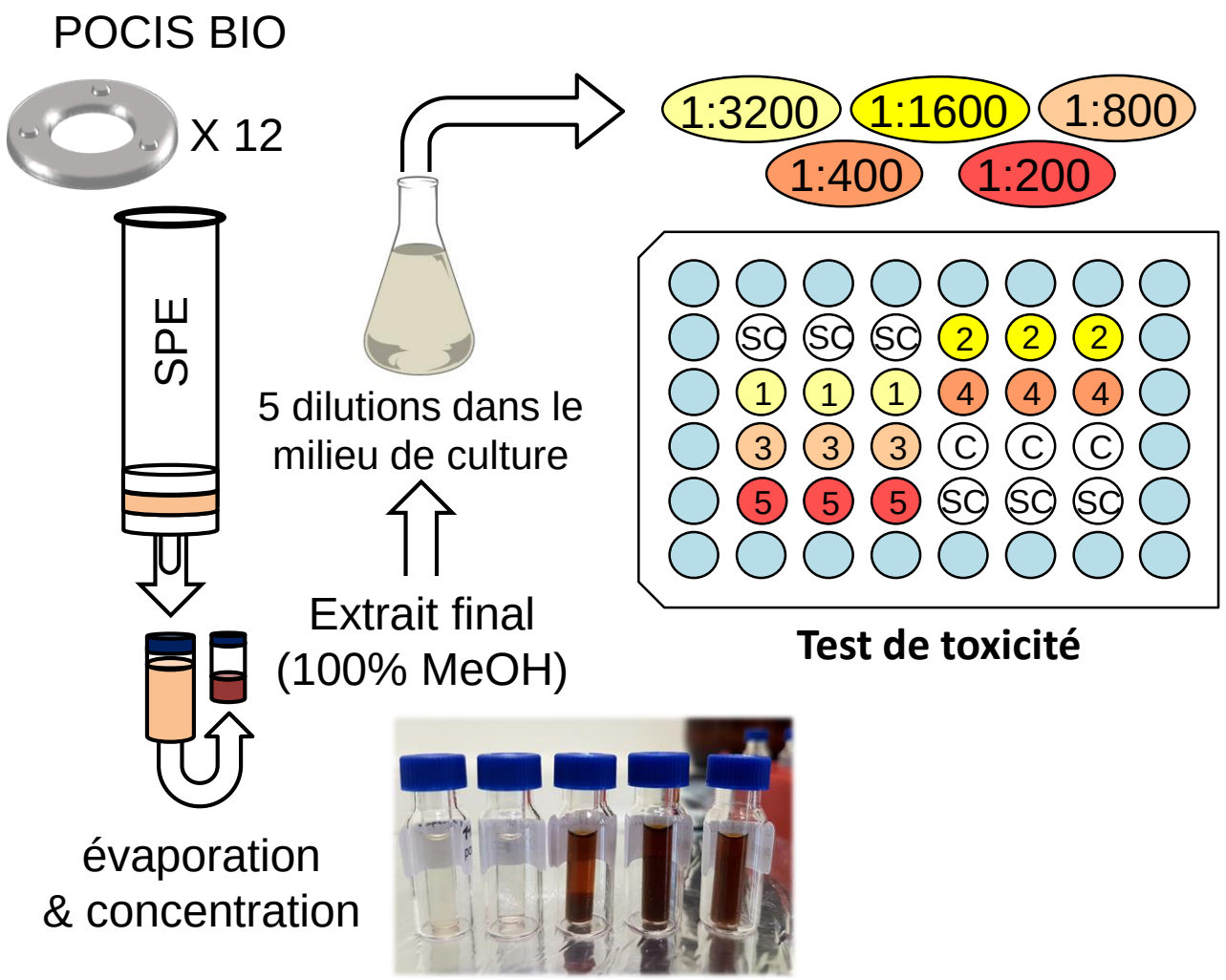
REF (*Relative Enrichment Factor*)

Facteur de concentration du milieu échantillonné

$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA} + V_A}{V_{EA}}\right)}$$

avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

Extraction et test des extraits de POCIS



Expression de la concentration des extraits

REF (*Relative Enrichment Factor*)

Facteur de concentration du milieu échantillonné

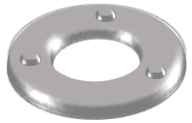
$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA} + V_A}{V_{EA}}\right)}$$

avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

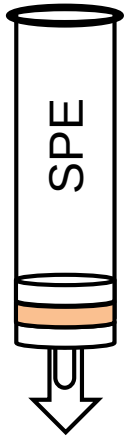
V_W Volume d'eau échantillonné (pour N_{POCIS} = 12)

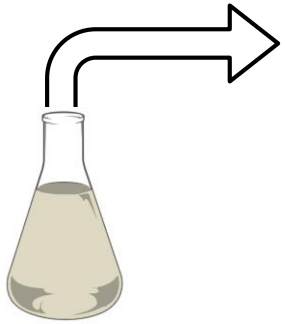
Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO



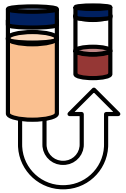
X 12



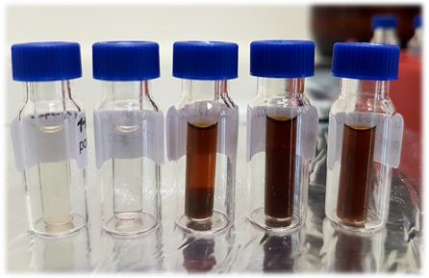


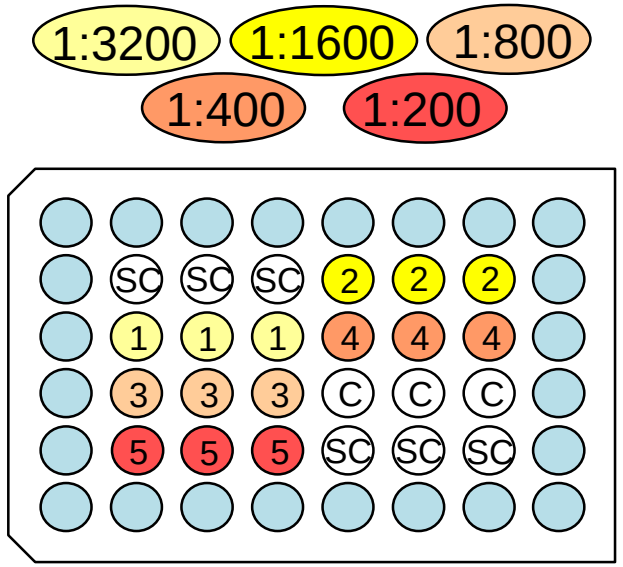
5 dilutions dans le milieu de culture

Extrait final (100% MeOH)



évaporation & concentration





Test de toxicité

Expression de la concentration des extraits

REF (*Relative Enrichment Factor*)

Facteur de concentration du milieu échantillonné

$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA} + V_A}{V_{EA}}\right)}$$

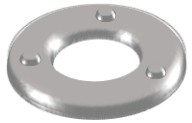
avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

V_W Volume d'eau échantillonné (pour N_{POCIS} = 12)

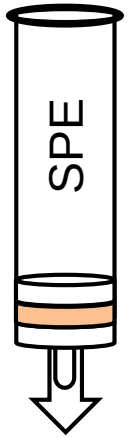
V_E Volume d'extrait final (MeOH)

Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO

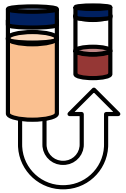


X 12

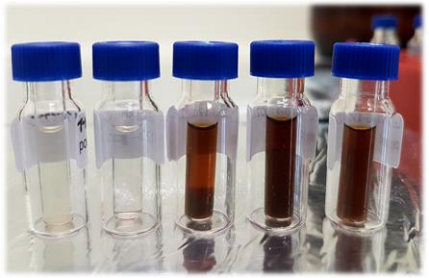


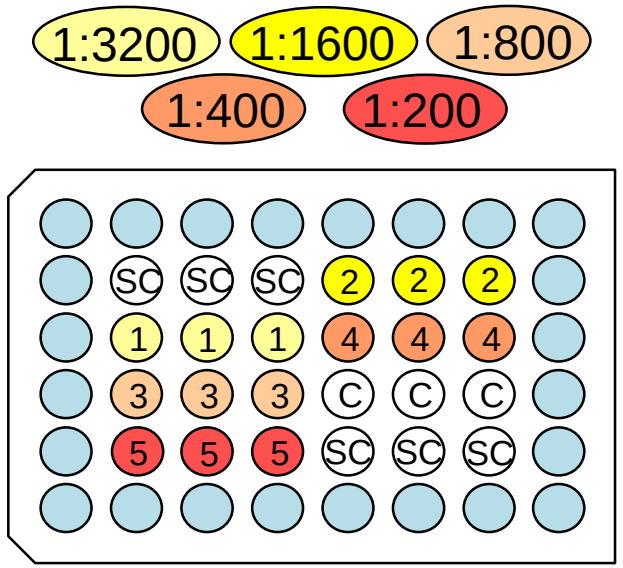
5 dilutions dans le milieu de culture

Extrait final (100% MeOH)



évaporation & concentration





Test de toxicité

Expression de la concentration des extraits

REF (*Relative Enrichment Factor*)

Facteur de concentration du milieu échantillonné

$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA} + V_A}{V_{EA}}\right)}$$

avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

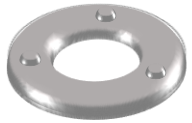
V_W Volume d'eau échantillonné (pour N_{POCIS} = 12)

V_E Volume d'extrait final (MeOH)

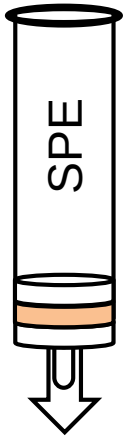
V_{EA} Volume d'extrait ajouté au bioessai

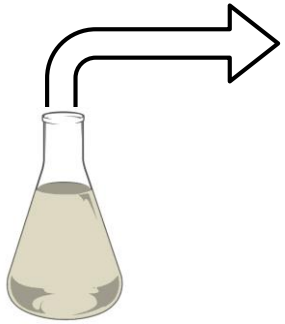
Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO



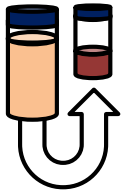
X 12



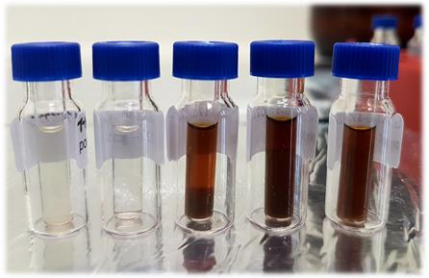


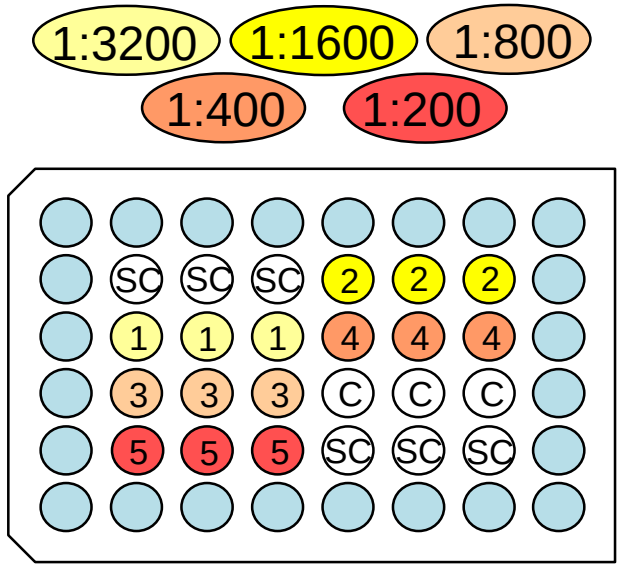
5 dilutions dans le milieu de culture

Extrait final (100% MeOH)



évaporation & concentration





Test de toxicité

Expression de la concentration des extraits

REF (*Relative Enrichment Factor*)

Facteur de concentration du milieu échantillonné

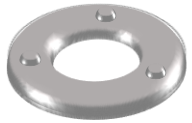
$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA}+V_A}{V_{EA}}\right)}$$

avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

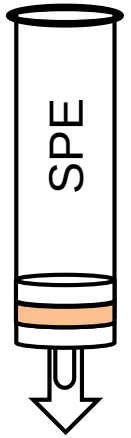
V_W	Volume d'eau échantillonné (pour N_{POCIS} = 12)
V_E	Volume d'extrait final (MeOH)
V_{EA}	Volume d'extrait ajouté au bioessai
V_A	Volume de test du bioessai

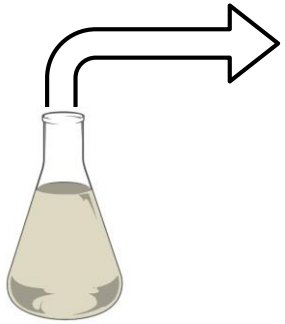
Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO



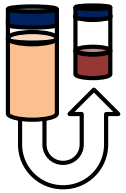
X 12



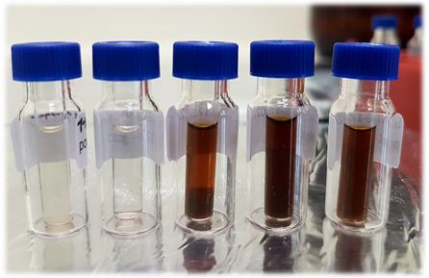


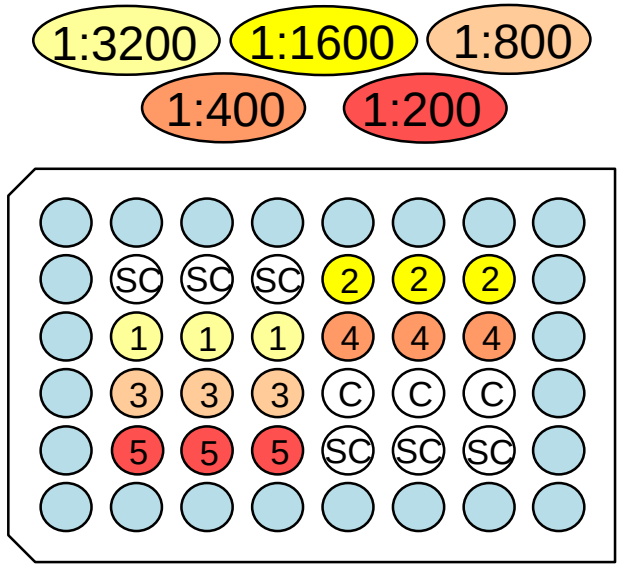
5 dilutions dans le milieu de culture

Extrait final (100% MeOH)



évaporation & concentration





Test de toxicité

Expression de la concentration des extraits

REF (*Relative Enrichment Factor*)

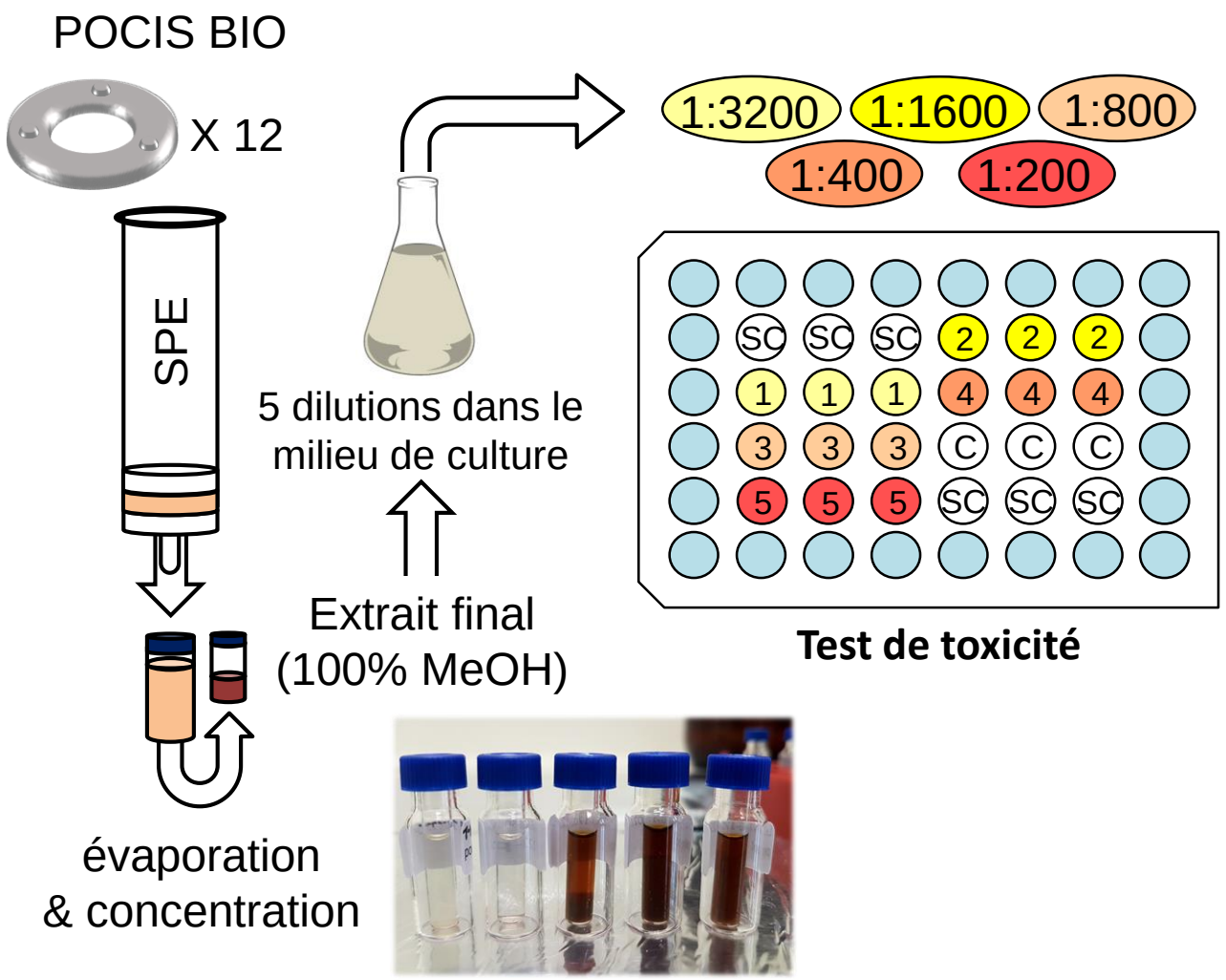
Facteur de concentration du milieu échantillonné

$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA}+V_A}{V_{EA}}\right)}$$

avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

V_W	Volume d'eau échantillonné (pour N_{POCIS} = 12)
V_E	Volume d'extrait final (MeOH)
V_{EA}	Volume d'extrait ajouté au bioessai
V_A	Volume de test du bioessai
N_{POCIS}	Nombre de POCIS / condition

Extraction et test des extraits de POCIS



Expression de la concentration des extraits

REF (*Relative Enrichment Factor*)

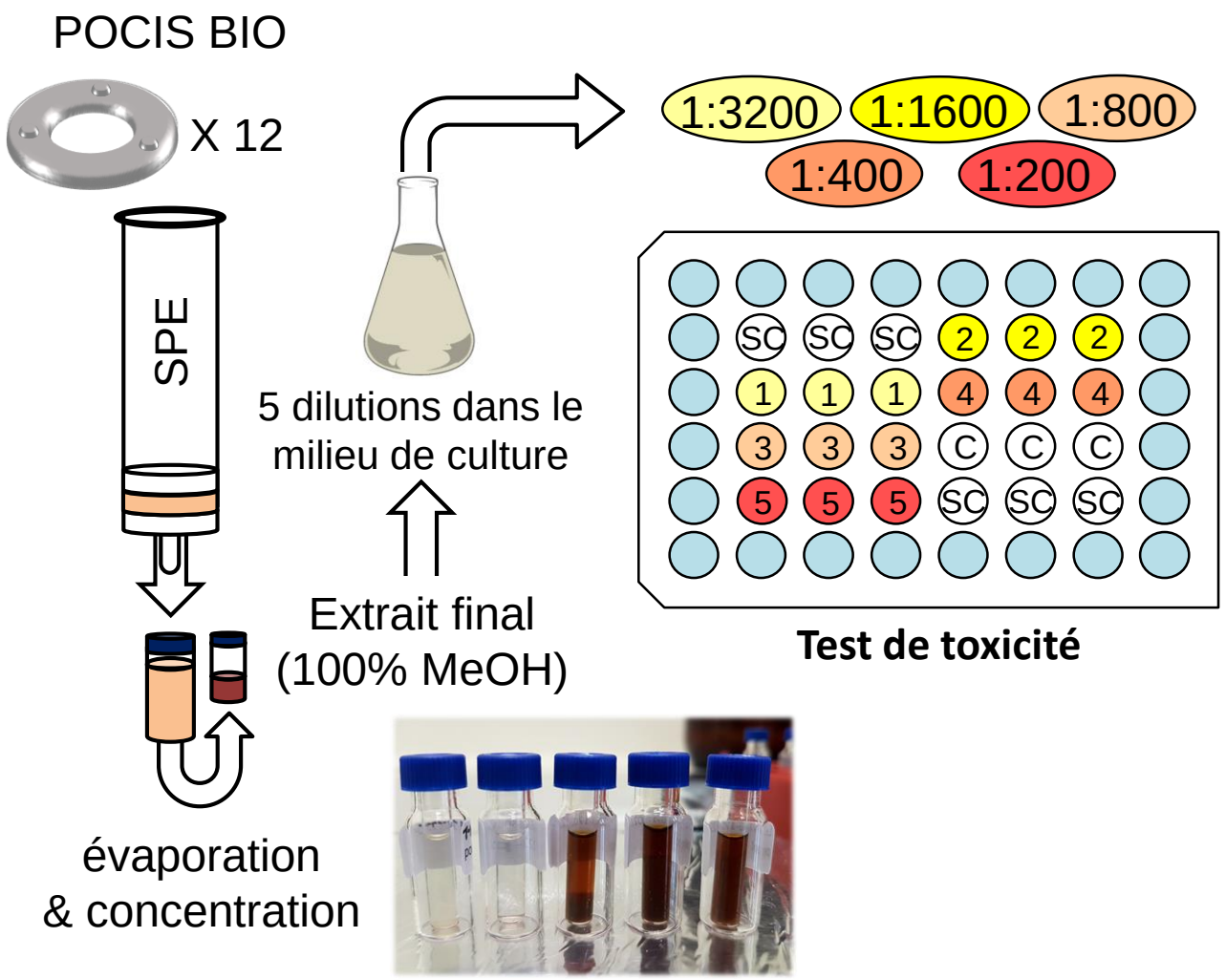
Facteur de concentration du milieu échantillonné

$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA}+V_A}{V_{EA}}\right)}$$

avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

V_W	Volume d'eau échantillonné (pour N_{POCIS} = 12)
V_E	Volume d'extrait final (MeOH)
V_{EA}	Volume d'extrait ajouté au bioessai
V_A	Volume de test du bioessai
N_{POCIS}	Nombre de POCIS / condition
$R_{S,POL}$	Taux d'échantillonnage

Extraction et test des extraits de POCIS



Expression de la concentration des extraits

REF (*Relative Enrichment Factor*)

Facteur de concentration du milieu échantillonné

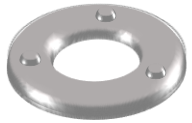
$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA}+V_A}{V_{EA}}\right)}$$

avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

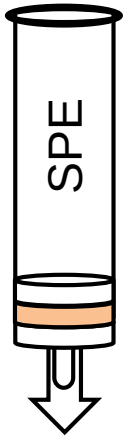
V_W	Volume d'eau échantillonné (pour N_{POCIS} = 12)
V_E	Volume d'extrait final (MeOH)
V_{EA}	Volume d'extrait ajouté au bioessai
V_A	Volume de test du bioessai
N_{POCIS}	Nombre de POCIS / condition
$R_{S,POL}$	Taux d'échantillonnage
t	Temps d'immersion (en j)

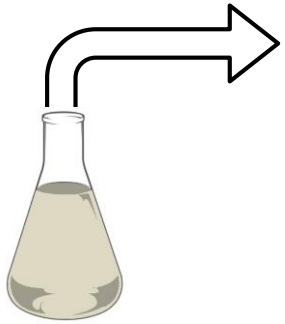
Extraction et test des extraits de POCIS

POCIS BIO



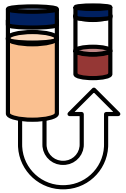
X 12



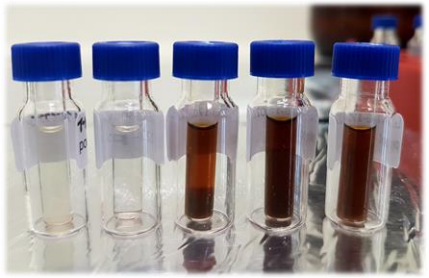


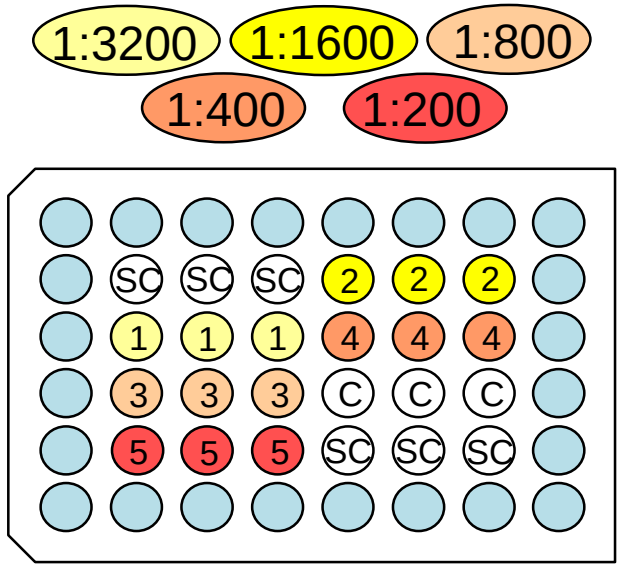
5 dilutions dans le milieu de culture

Extrait final (100% MeOH)



évaporation & concentration





Test de toxicité

Expression de la concentration des extraits

REF (*Relative Enrichment Factor*)

Facteur de concentration du milieu échantillonné

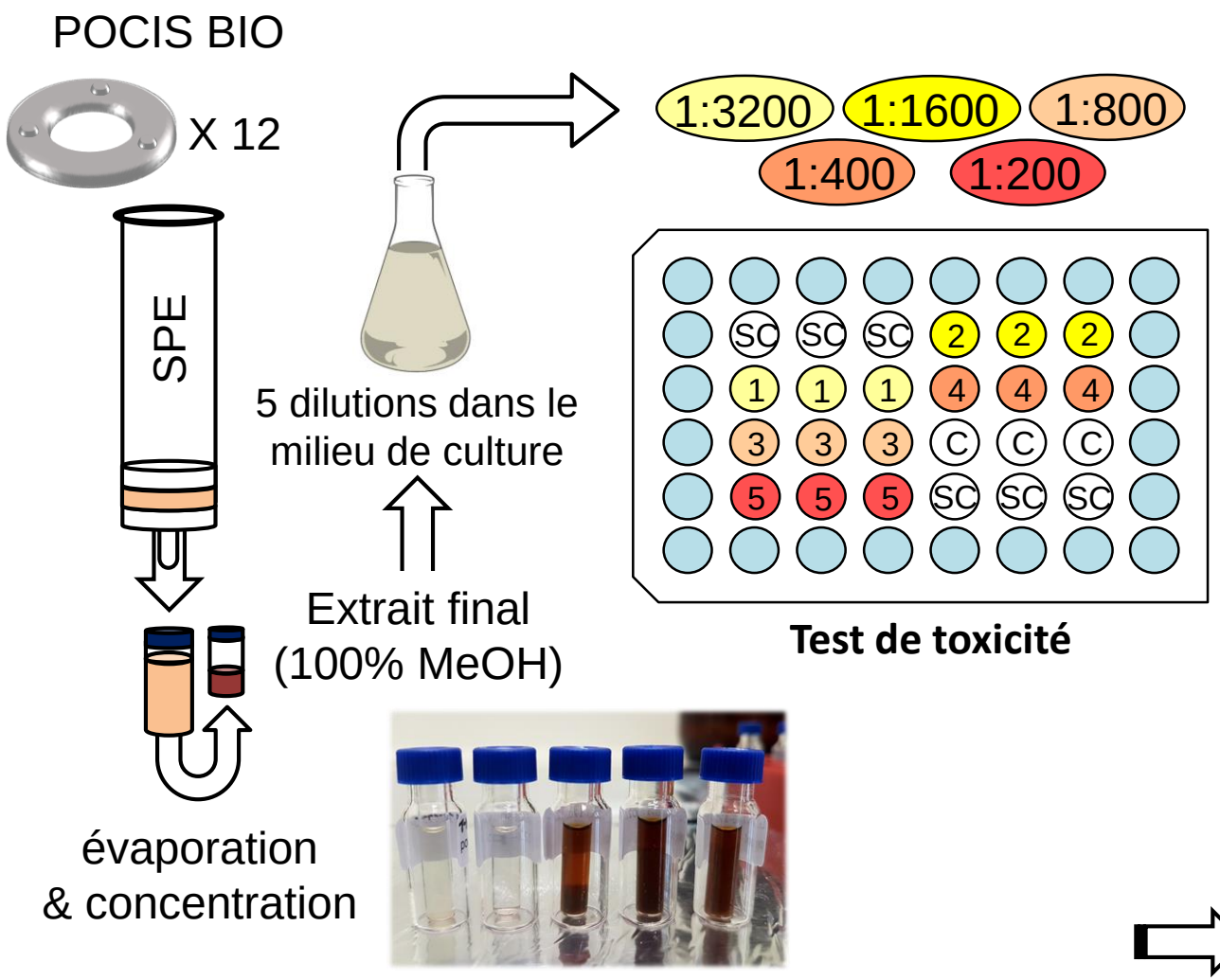
$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA}+V_A}{V_{EA}}\right)}$$

avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

V_W	Volume d'eau échantillonné (pour N_{POCIS} = 12)
V_E	Volume d'extrait final (MeOH)
V_{EA}	Volume d'extrait ajouté au bioessai
V_A	Volume de test du bioessai
N_{POCIS}	Nombre de POCIS / condition
$R_{S,POL}$	Taux d'échantillonnage
t	Temps d'immersion (en j)

Calcul des CE_{50} en REF pour chaque station et période

Extraction et test des extraits de POCIS



Expression de la concentration des extraits

REF (*Relative Enrichment Factor*)

Facteur de concentration du milieu échantillonné

$$REF_{POL} = \frac{\left(\frac{V_W}{V_E}\right)}{\left(\frac{V_{EA}+V_A}{V_{EA}}\right)}$$

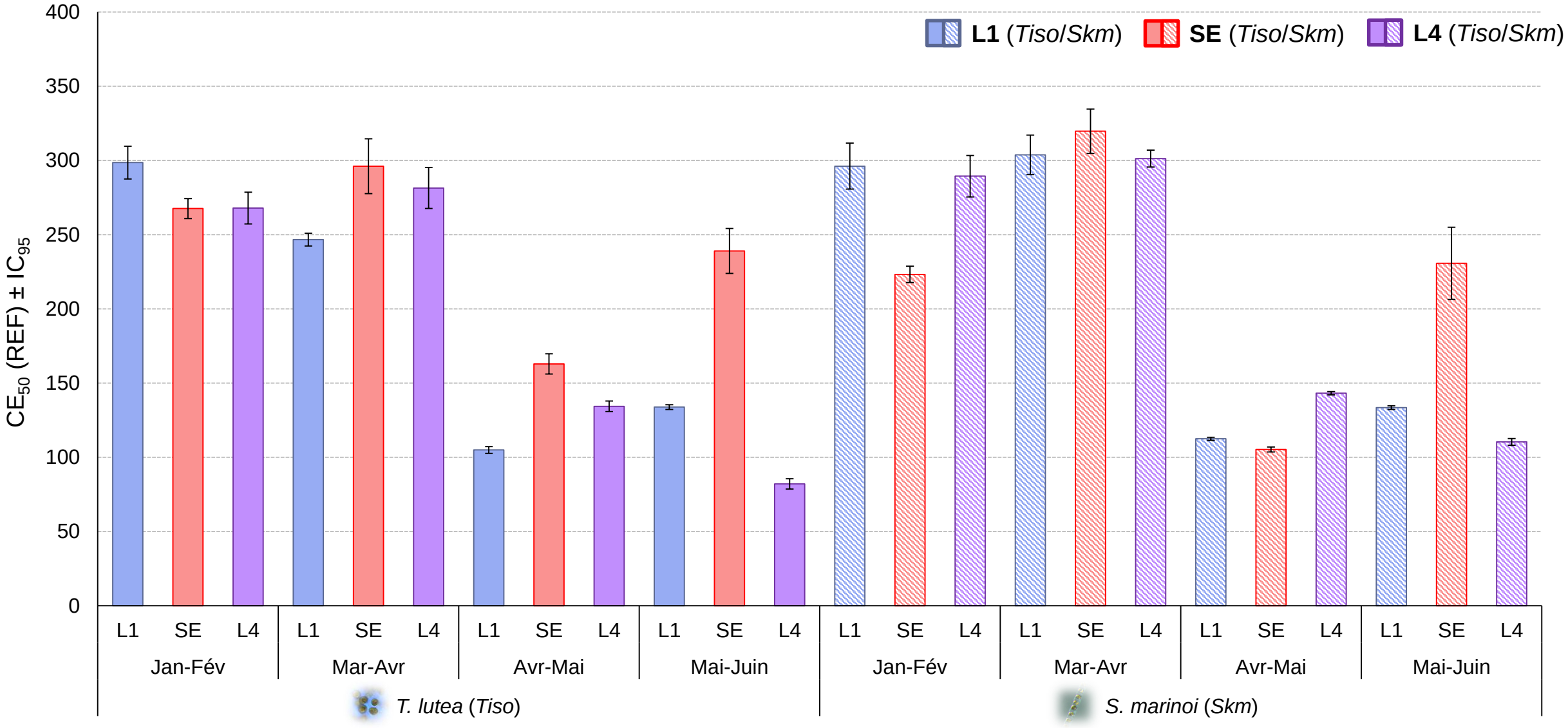
avec $V_W = N_{POCIS} \times R_{S,POL} \times t$

V_W	Volume d'eau échantillonné (pour N_{POCIS} = 12)
V_E	Volume d'extrait final (MeOH)
V_{EA}	Volume d'extrait ajouté au bioessai
V_A	Volume de test du bioessai
N_{POCIS}	Nombre de POCIS / condition
$R_{S,POL}$	Taux d'échantillonnage
t	Temps d'immersion (en j)

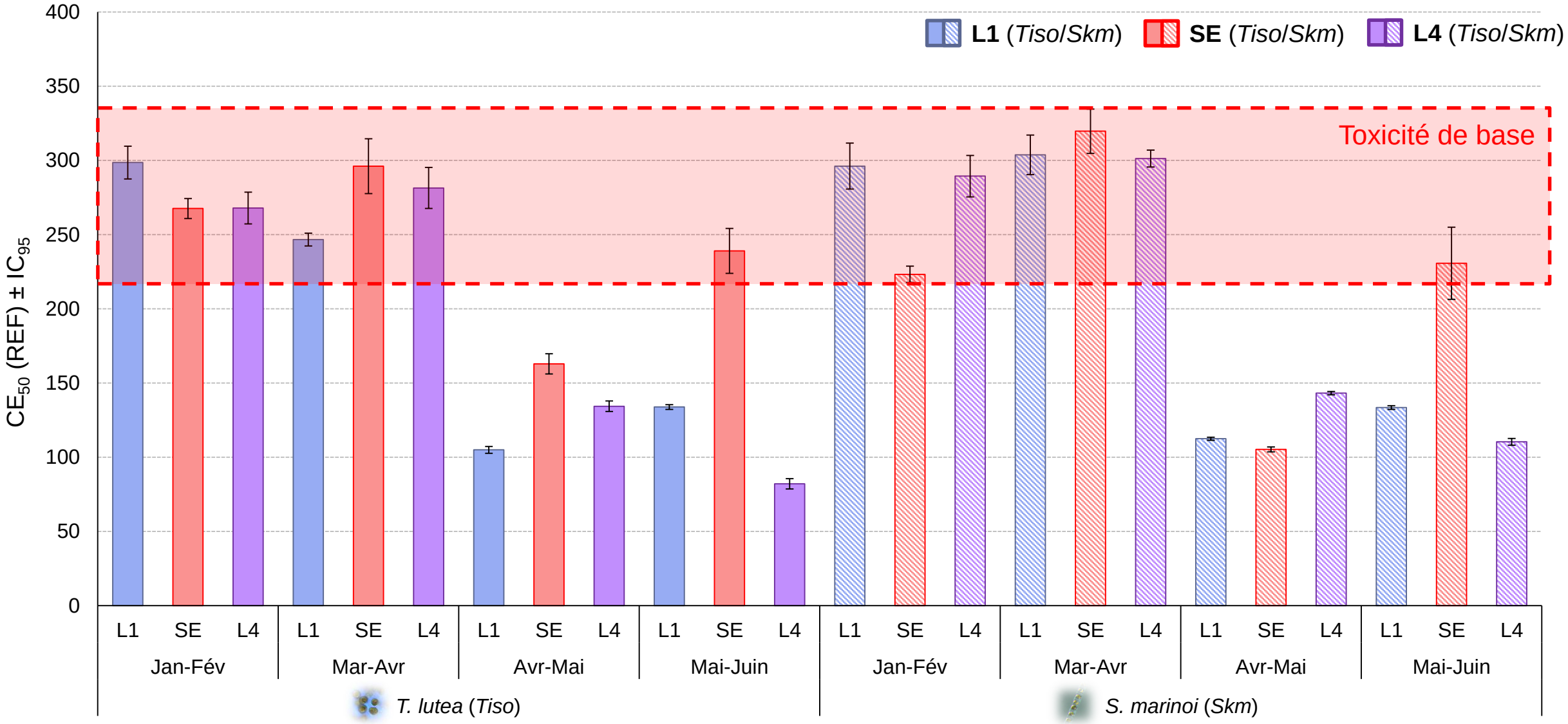
Calcul des CE_{50} en REF pour chaque station et période

Variation spatio-temporelle de la toxicité

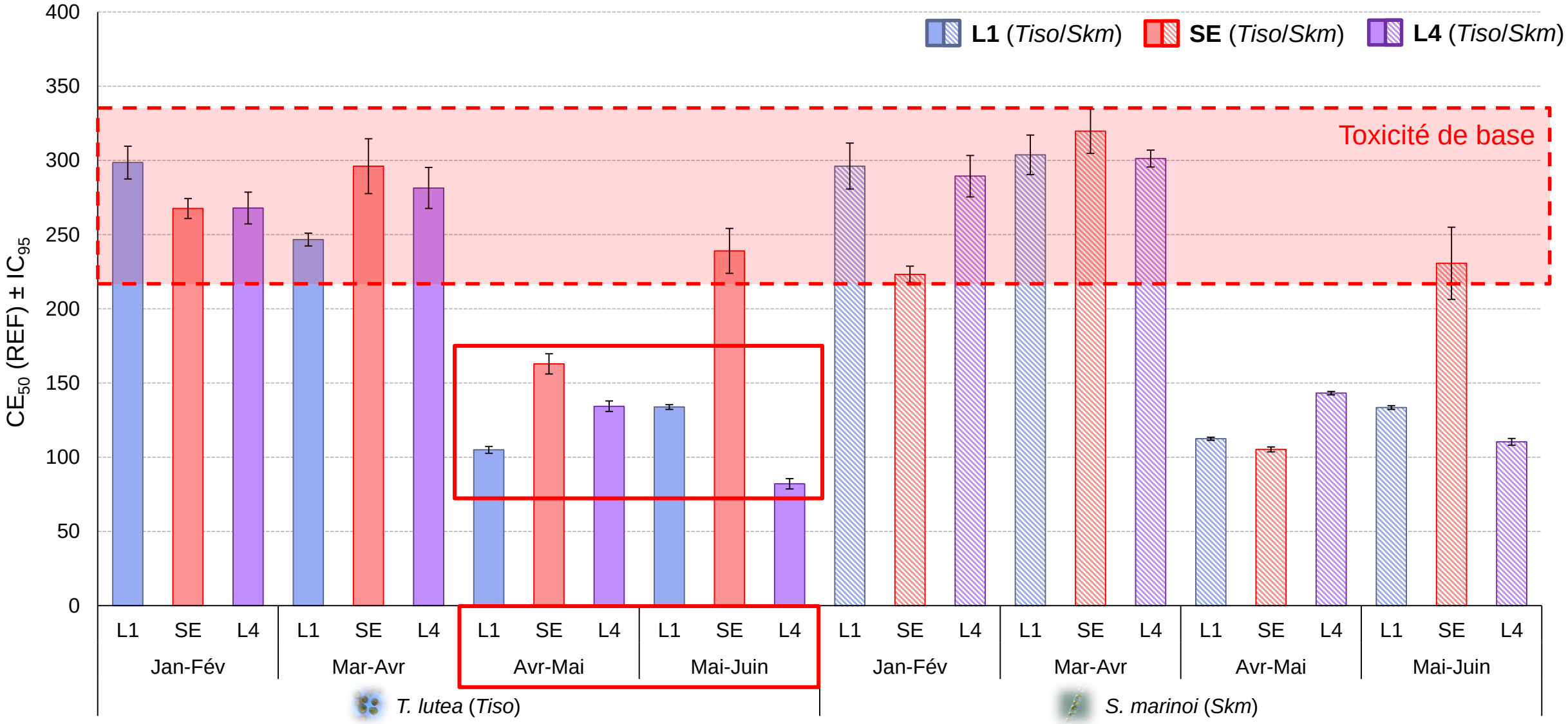
Potentiel toxique des extraits de POCIS



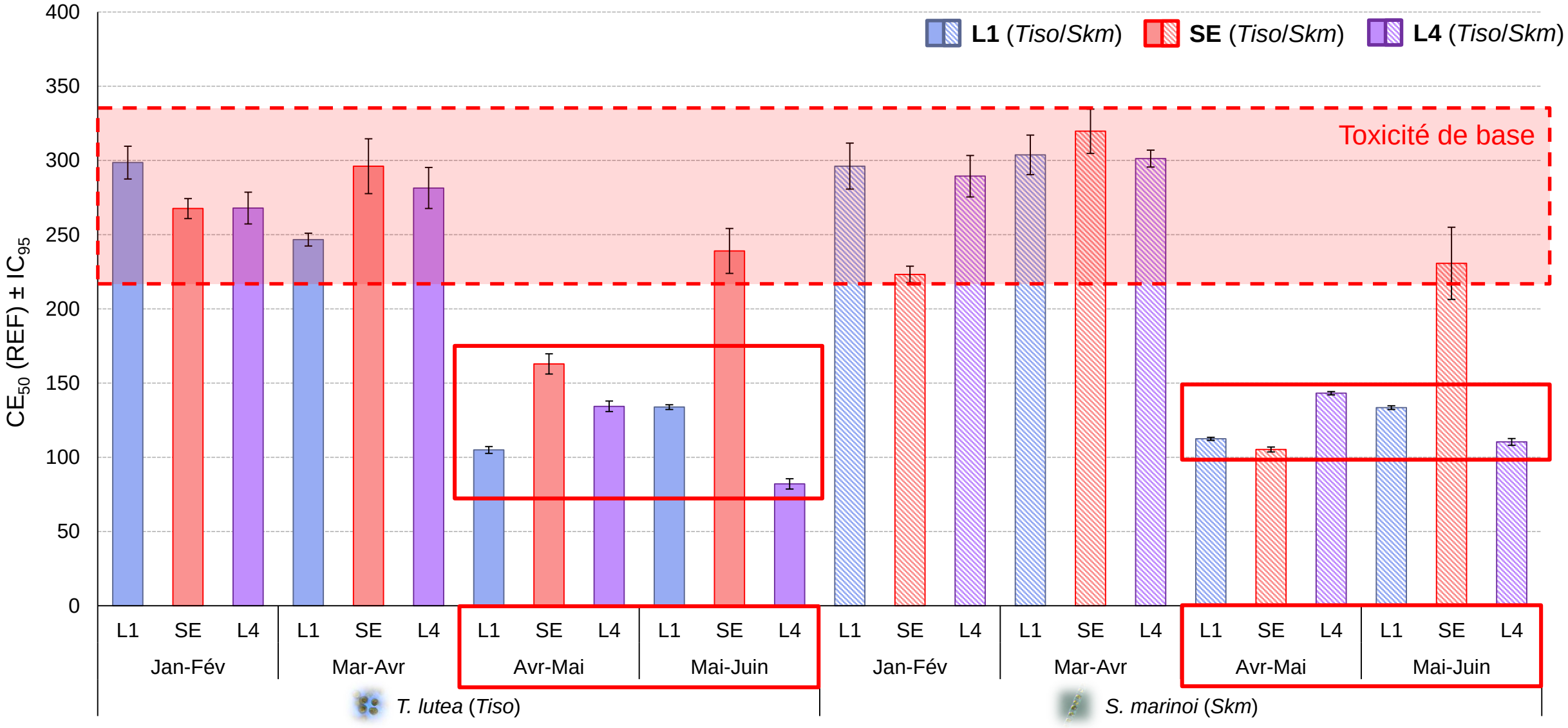
Potentiel toxique des extraits de POCIS



Potentiel toxique des extraits de POCIS



Potentiel toxique des extraits de POCIS



Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV

Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV
- ✓ **Concentrations de ces 8 substances dans le milieu de culture (LPTC-EPOC)**

Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV
- ✓ **Concentrations de ces 8 substances dans le milieu de culture (LPTC-EPOC)**

POCIS BIO

Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV
- ✓ **Concentrations de ces 8 substances dans le milieu de culture (LPTC-EPOC)**

POCIS BIO

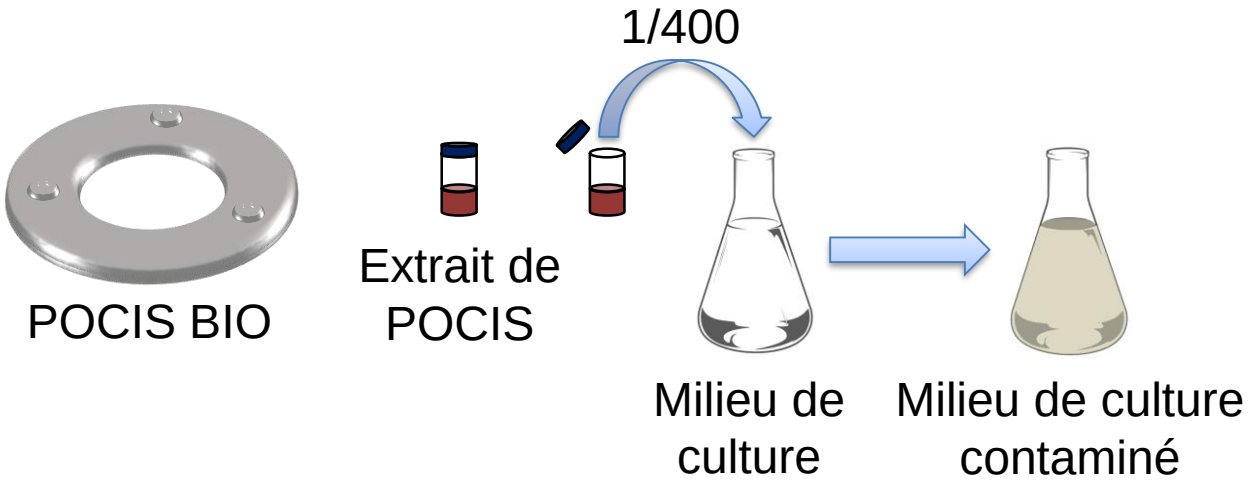
Extrait de POCIS

Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV
- ✓ **Concentrations de ces 8 substances dans le milieu de culture (LPTC-EPOC)**

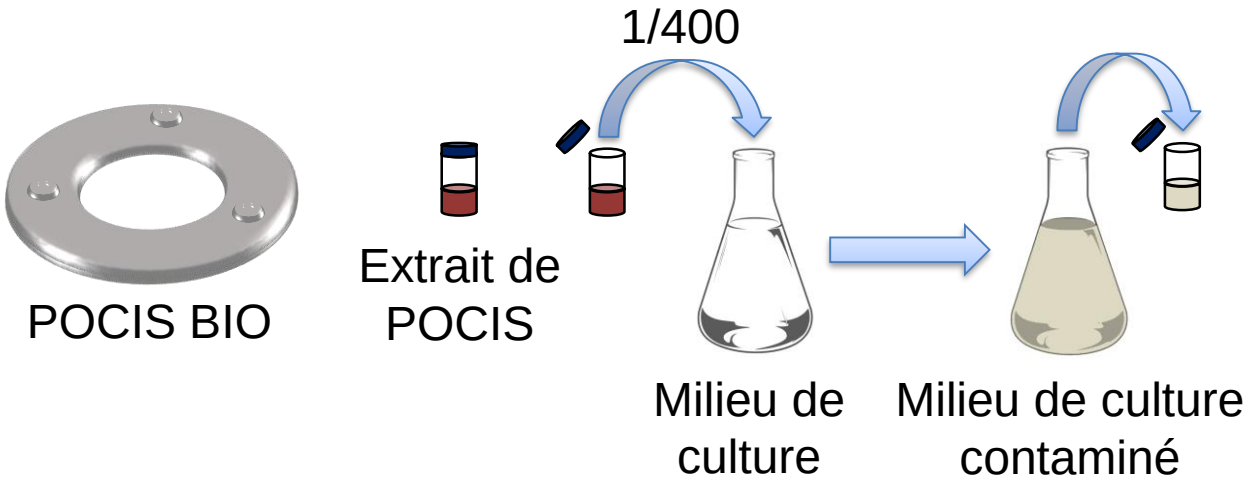


Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV
- ✓ **Concentrations de ces 8 substances dans le milieu de culture (LPTC-EPOC)**

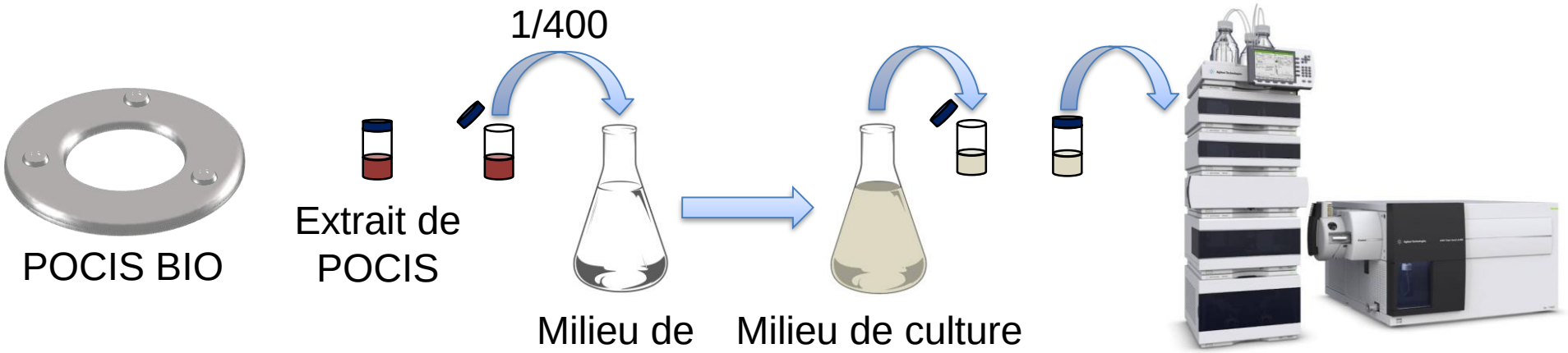


Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV
- ✓ **Concentrations de ces 8 substances dans le milieu de culture (LPTC-EPOC)**



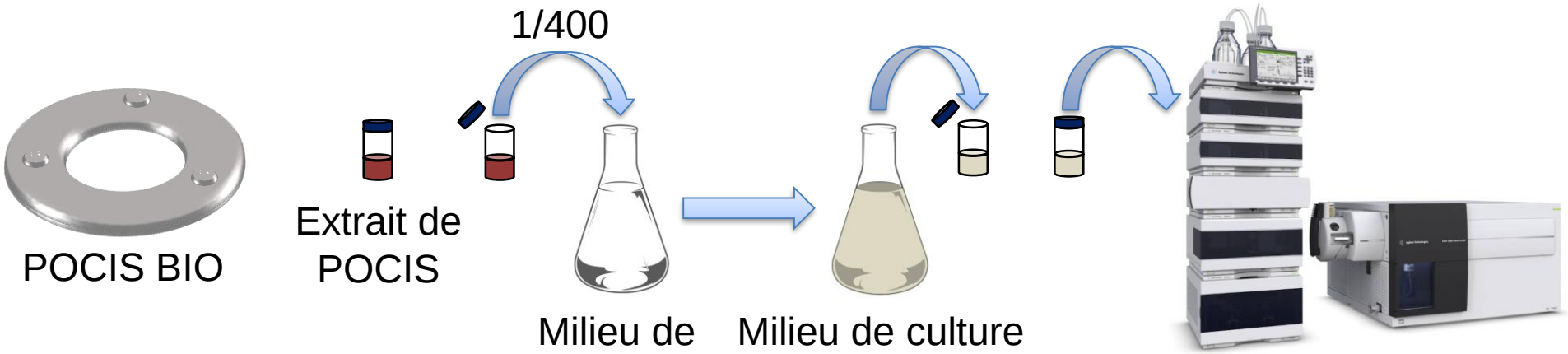
Quantification de ces **8 substances**

Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV
- ✓ **Concentrations de ces 8 substances dans le milieu de culture (LPTC-EPOC)**



Quantification de ces **8 substances**

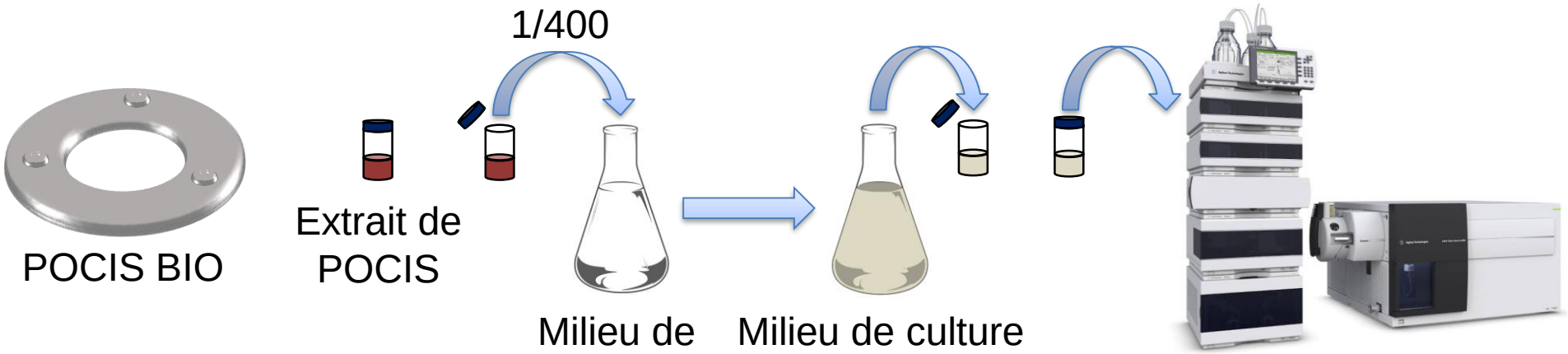
Utilisation du **modèle CA**

Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV
- ✓ **Concentrations de ces 8 substances dans le milieu de culture (LPTC-EPOC)**



Quantification de ces **8 substances**

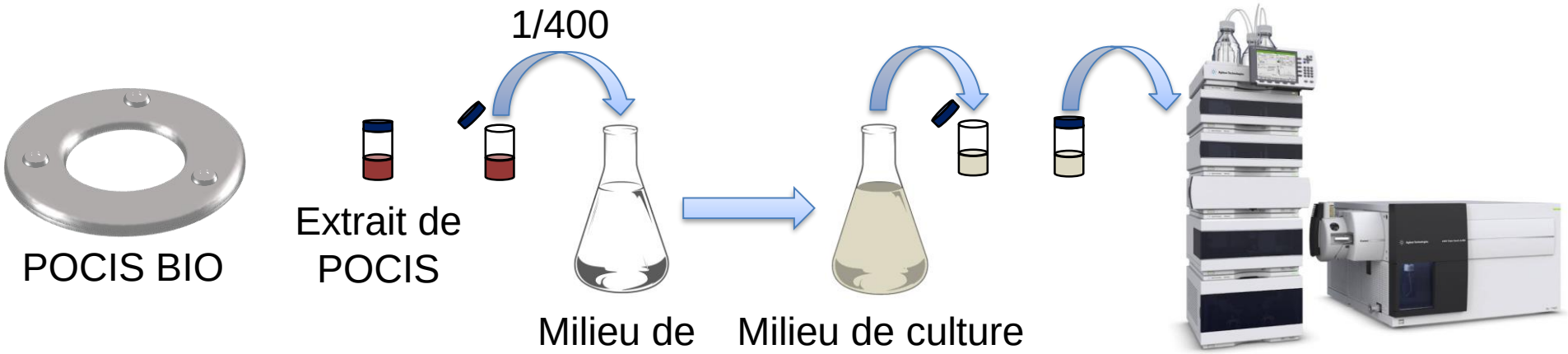
Utilisation du **modèle CA** → **Approche des unités toxiques (TU)**

Démarche expérimentale d'identification

Comment identifier la/les substance(s) responsable(s) de la toxicité des extraits ?

Données à disposition :

- ✓ **CE_{50} de 8 substances** (partie I.), dont 6 produits phytosanitaires utilisés sur le BV
- ✓ **Concentrations de ces 8 substances dans le milieu de culture (LPTC-EPOC)**

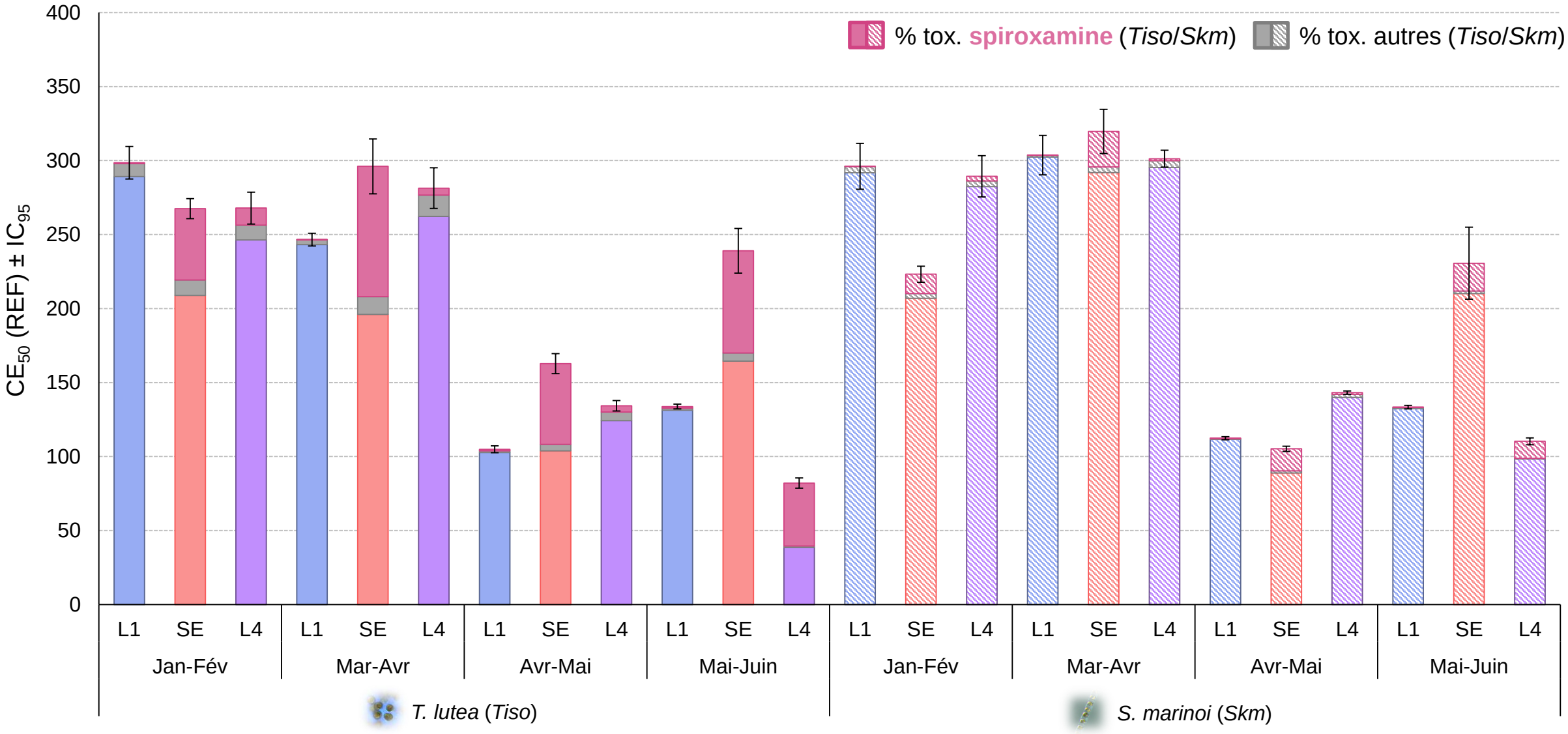


Quantification de ces **8 substances**

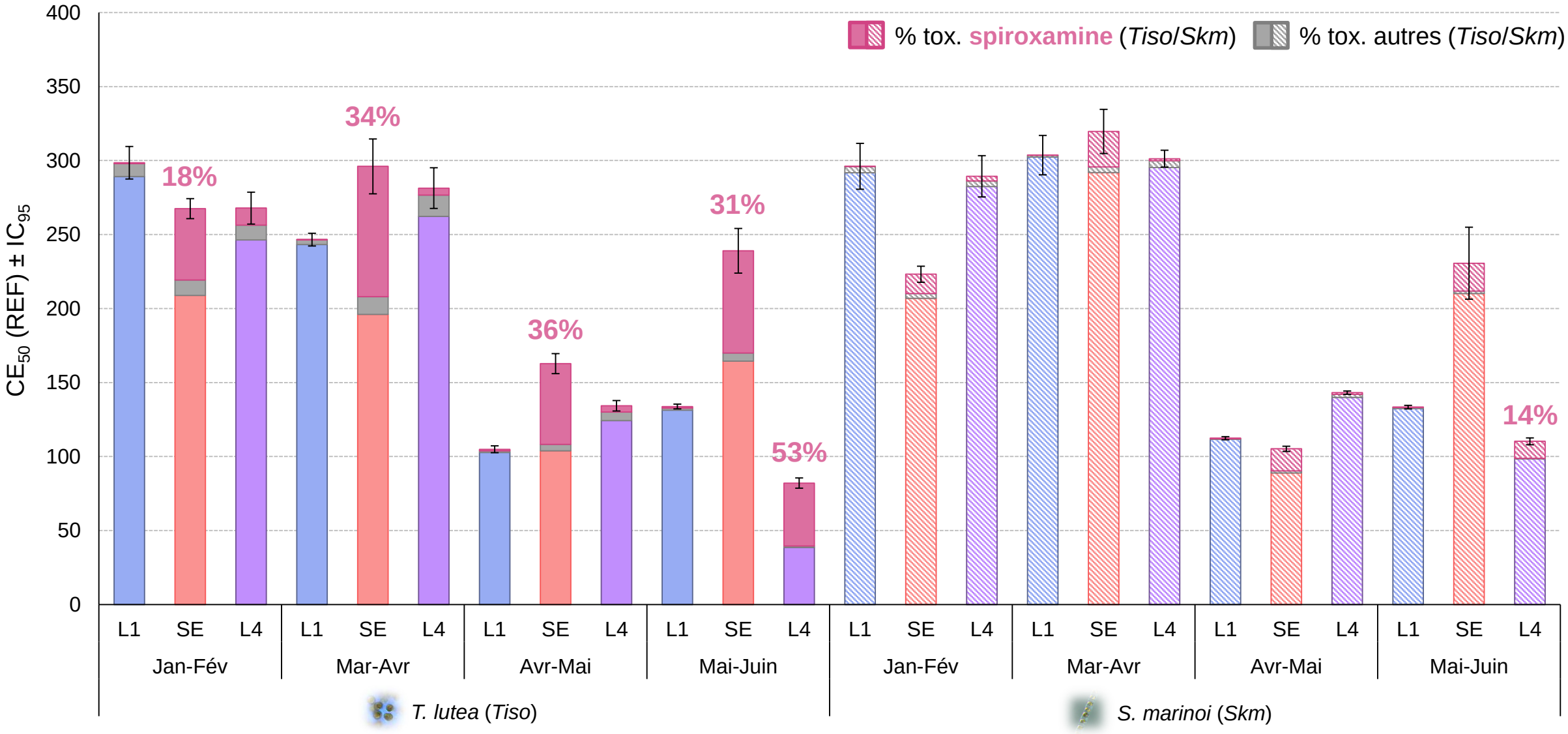
➡ Utilisation du **modèle CA** ➡ **Approche des unités toxiques (TU)**

➡ **Prédiction** de la CE_{50} des extraits de POCIS **en se basant uniquement sur les substances analysées**

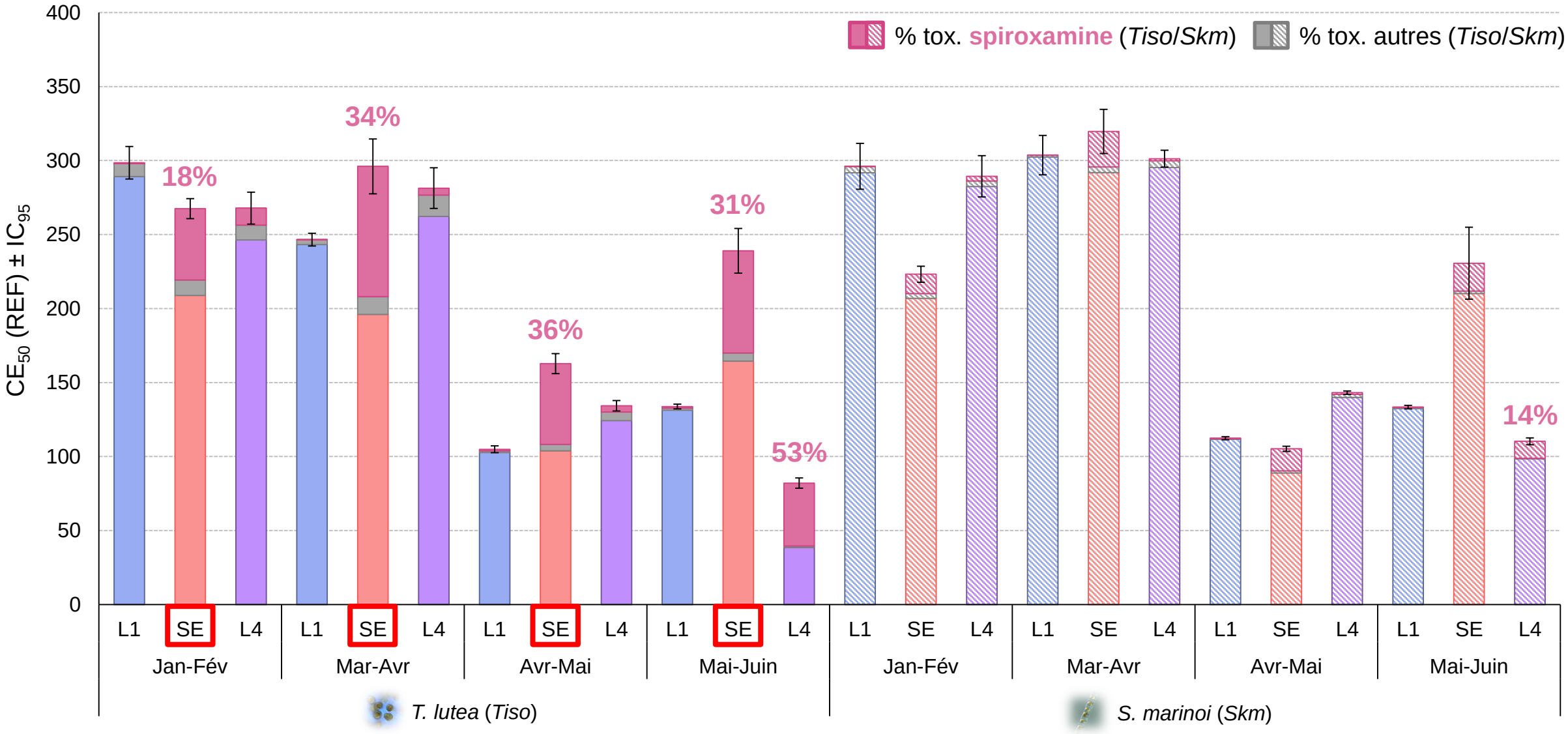
% de toxicité identifié



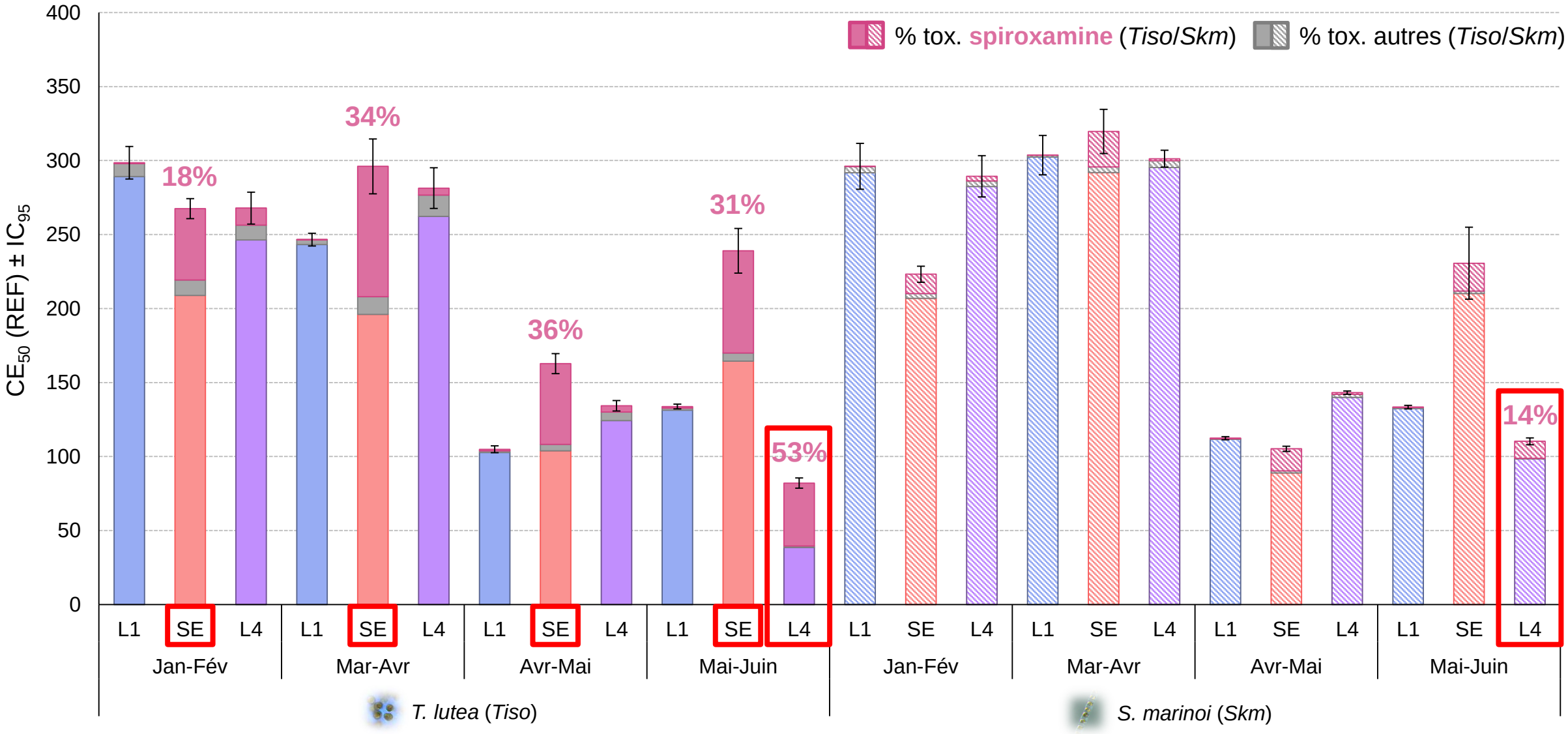
% de toxicité identifié



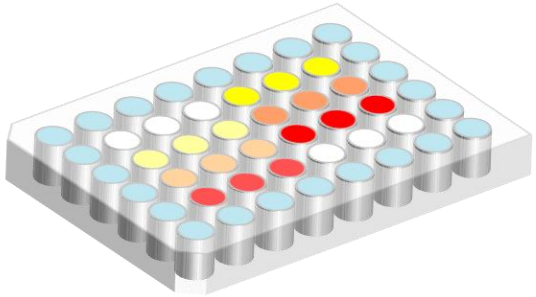
% de toxicité identifié



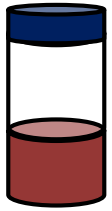
% de toxicité identifié



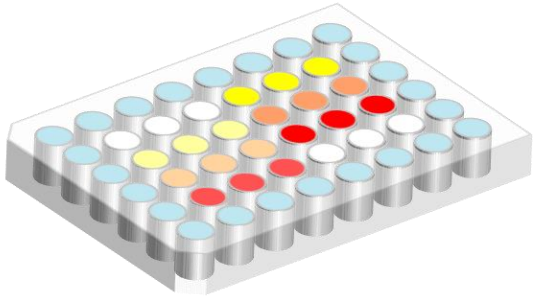
Discussion : toxicité des extraits de POCIS



Test de toxicité



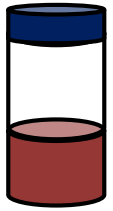
Discussion : toxicité des extraits de POCIS



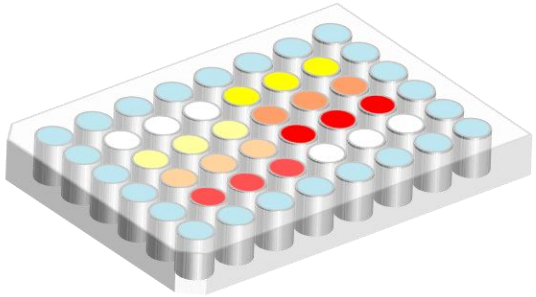
Test de toxicité

+

Analyses chimiques



Discussion : toxicité des extraits de POCIS

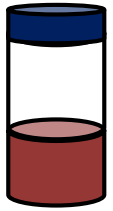


Test de toxicité

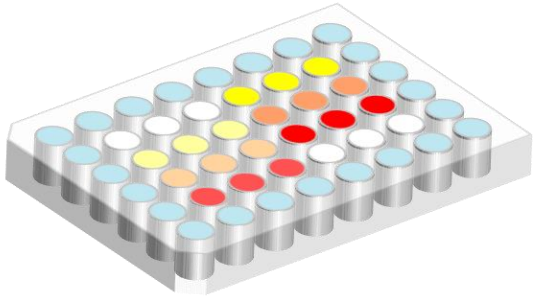
+

Analyses chimiques

+ **Modèle CA**



Discussion : toxicité des extraits de POCIS

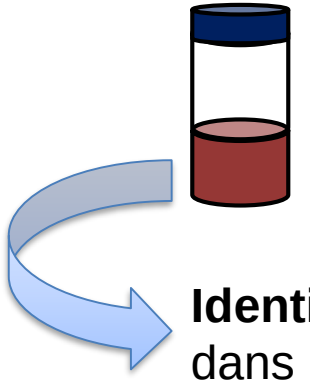


Test de toxicité

+

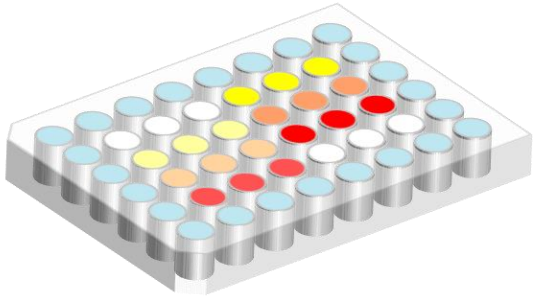
Analyses chimiques

+ **Modèle CA**



Identification d'un fongicide dans les extraits de POCIS

Discussion : toxicité des extraits de POCIS

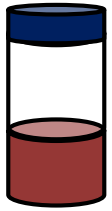


Test de toxicité

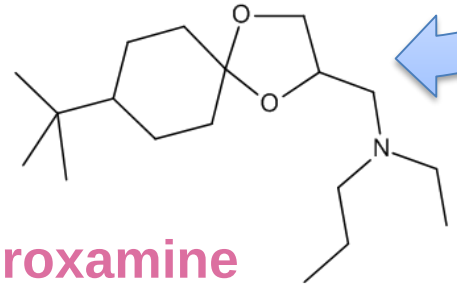
+

Analyses chimiques

+ **Modèle CA**

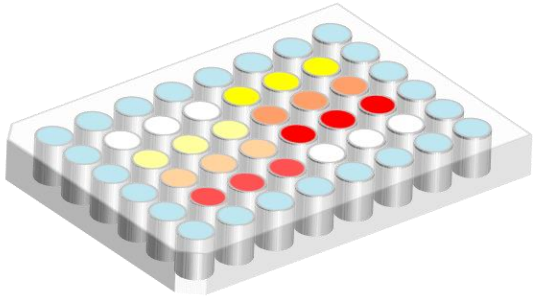


Identification d'un fongicide dans les extraits de POCIS



spiroxamine

Discussion : toxicité des extraits de POCIS

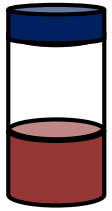


Test de toxicité

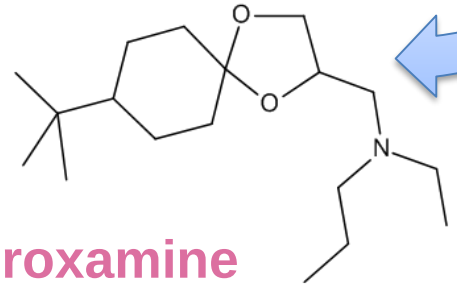
+

Analyses chimiques

+ **Modèle CA**



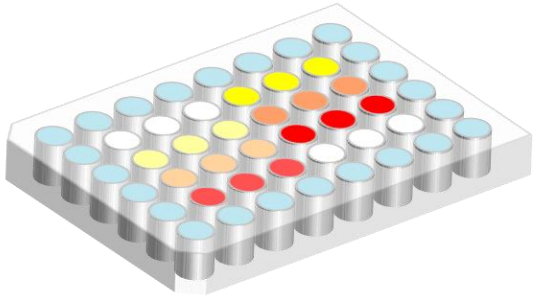
Identification d'un fongicide dans les extraits de POCIS



spiroxamine

Forte présence dans les extraits **SE** ⟷ Source **viticole**

Discussion : toxicité des extraits de POCIS

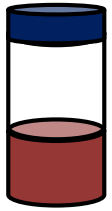


Test de toxicité

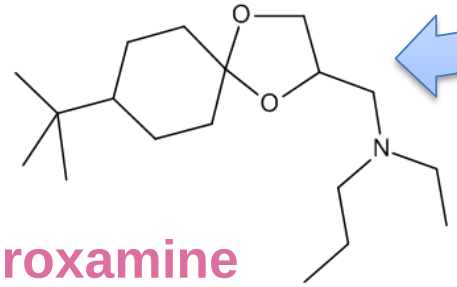
+

Analyses chimiques

+ **Modèle CA**



Identification d'un fongicide dans les extraits de POCIS

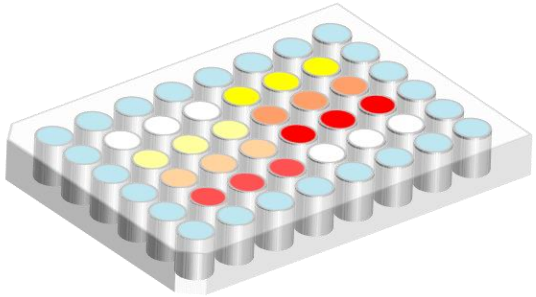


spiroxamine

Forte présence dans les extraits **SE** ⟷ Source **viticole**

→ Explique **18-36%** de la **toxicité** des extraits **SE** pour *T. lutea* ($CE_{50} \approx 3$ µg L^{-1})

Discussion : toxicité des extraits de POCIS

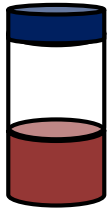


Test de toxicité

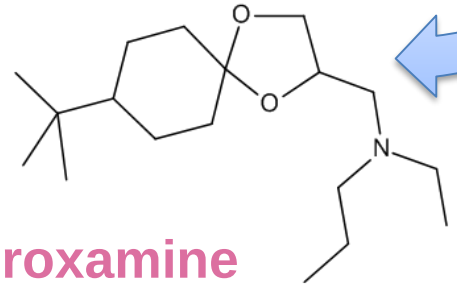
+

Analyses chimiques

+ **Modèle CA**



Identification d'un fongicide dans les extraits de POCIS

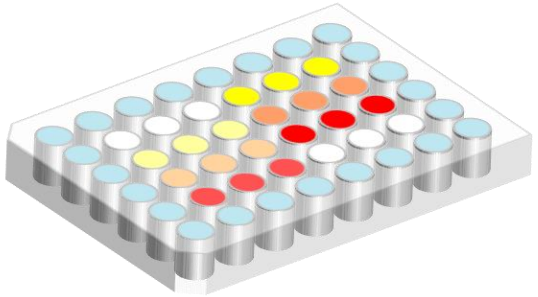


spiroxamine

Forte présence dans les extraits **SE** ⟷ Source **viticole**

- Explique **18-36%** de la **toxicité** des extraits **SE** pour *T. lutea* ($CE_{50} \approx 3$ µg L^{-1})
- Explique **53%** de la **toxicité** de l'extrait **L4** en **mai-juin** pour *T. lutea*

Discussion : toxicité des extraits de POCIS

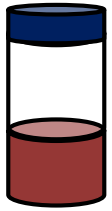


Test de toxicité

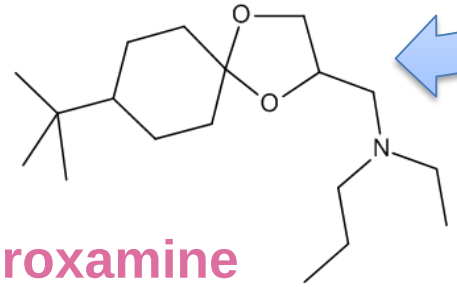
+

Analyses chimiques

+ **Modèle CA**



Identification d'un fongicide dans les extraits de POCIS



spiroxamine

Forte présence dans les extraits SE ⟷ Source **viticole**

- Explique **18-36%** de la **toxicité** des extraits SE pour *T. lutea* ($CE_{50} \approx 3$ µg L^{-1})
- Explique **53%** de la **toxicité** de l'extrait L4 en **mai-juin** pour *T. lutea*
- ***Identification d'autres substances ?***

Merci de votre attention !