

EXPOSITION MULTIGÉNÉRATIONNELLE DE LA DAPHNIA MAGNA AU DIAZINON : RÉPONSES MOLÉCULAIRES ET ADAPTATION PHÉNOTYPIQUE.

Floriane Tisserand

PhD Student, Groupe Ecotox – IDYST, Faculté des Géosciences et de l'Environnement, UNIL, Lausanne

Supervision : N.Chèvre (UNIL)

Co-supervision : A.Thomas (CHUV)

Collaboratrice : F.Gilardi (CHUV)

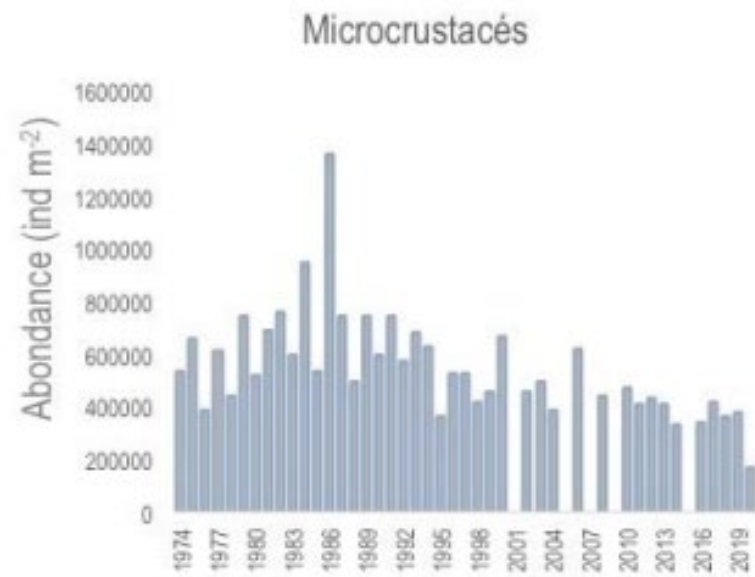
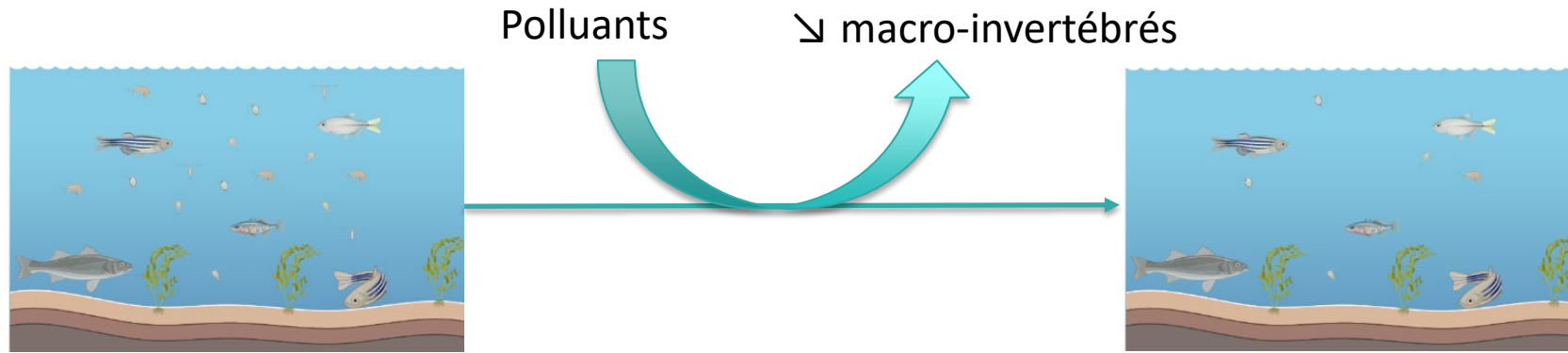
BIOMARQUEURS ORGANOPHOSPHATE
DIAZINON TOXICITE EPIGENETIQUE
POLLUANT **DAPHNIA MAGNA**
MACRO-INVERTEBRE REPONSE PHENOTYPIQUE
REPONSE MOLECULAIRE
MULTIGENERATIONNELLE



floriane.tisserand@unil.ch



CONTEXTE SCIENTIFIQUE

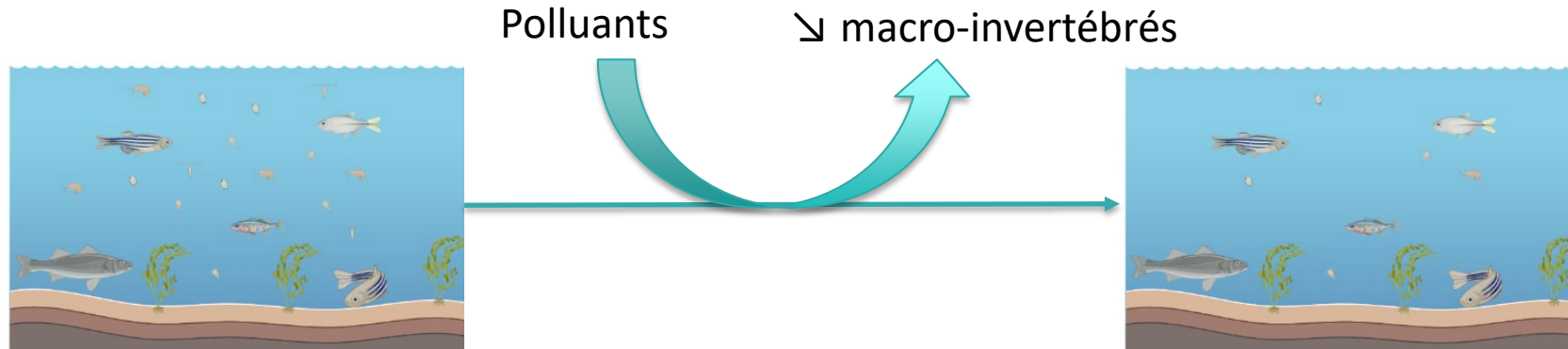


Conséquence direct
sur les populations
de poissons

(CIPEL, 2021)



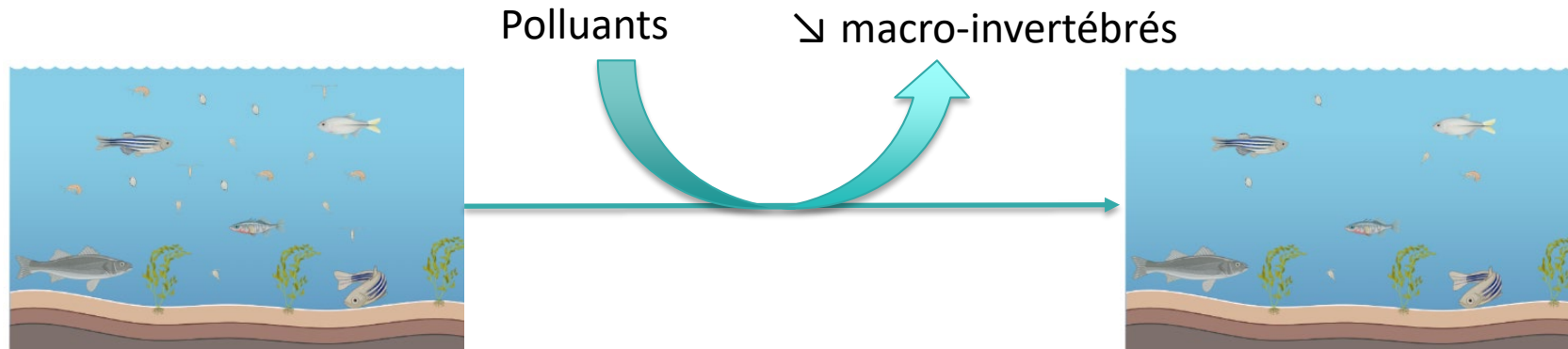
CONTEXTE SCIENTIFIQUE



Hors seulement 26% des études sont portés sur les arthropodes contre 44% sur les poissons (Greenhalgh et al. 2020)

Conséquence direct sur les populations de poissons

CONTEXTE SCIENTIFIQUE



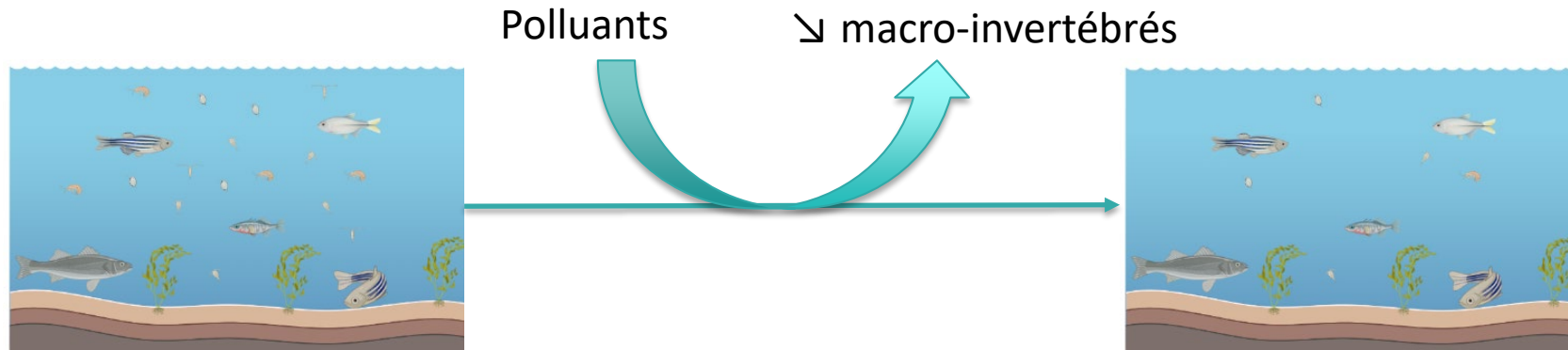
Hors seulement 26% des études sont portés sur les arthropodes contre 44% sur les poissons (Greenhalgh et al. 2020)

↳ Parmi ces 26%

Une grande partie repose sur des tests de toxicité aiguë (48h).

↳ Conséquence direct sur les populations de poissons

CONTEXTE SCIENTIFIQUE



Hors seulement 26% des études sont portés sur les arthropodes contre 44% sur les poissons (Greenhalgh et al. 2020)

↓ Parmi ces 26%

Une grande partie repose sur des tests de toxicité aiguë (48h).



Quels sont les impacts sur une population de macro-invertébrés ?

↓
Conséquence direct sur les populations de poissons



QUELLES SONT LES IMPACTS SUR UNE POPULATION DE MACRO-INVERTÉBRÉS ?

1. Organisme modèle : *Daphnia magna*
2. Pesticides connus : Organophosphorés



QUELLES SONT LES IMPACTS SUR UNE POPULATION DE MACRO-INVERTÉBRÉS ?

1. Organisme modèle : *Daphnia magna*
2. Pesticides connus : Organophosphorés

QUELLES SONT LES IMPACTS SUR UNE POPULATION DE MACRO-INVERTÉBRÉS ?

1. Organisme modèle : *Daphnia magna*

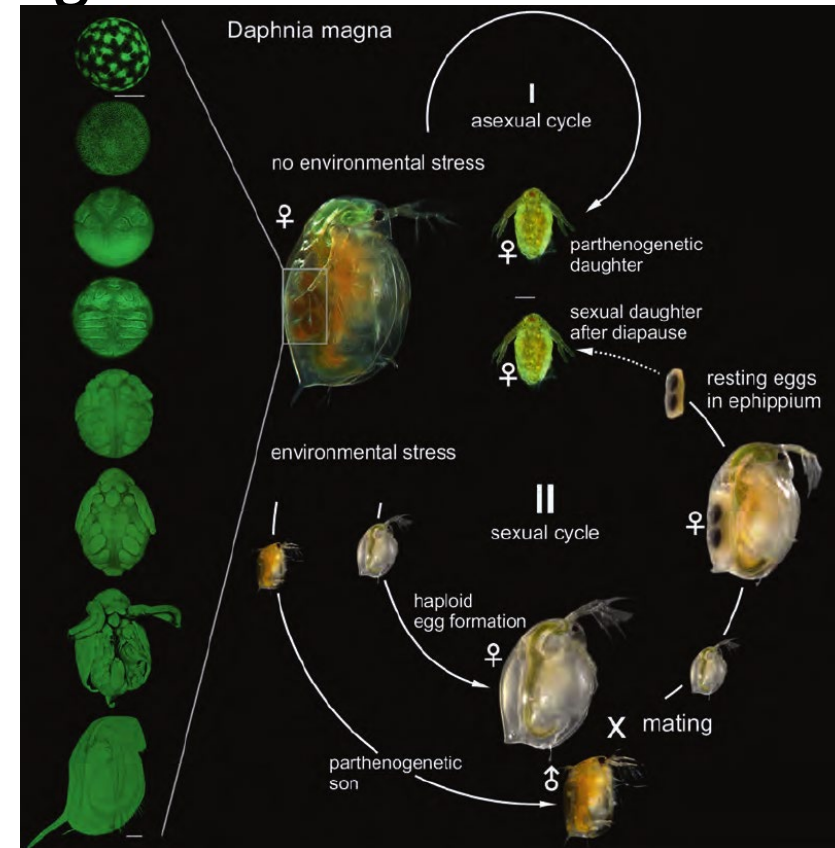
- ❑ Court cycle de vie
- ❑ Grand nombre de petits
- ❑ Elevage facile au laboratoire
- ❑ Sensibles aux polluants
- ❑ 2 modes de reproductions (sexué et asexué)



QUELLES SONT LES IMPACTS SUR UNE POPULATION DE MACRO-INVERTÉBRÉS ?

1. Organisme modèle : *Daphnia magna*

- Court cycle de vie
- Grand nombre de petits
- Elevage facile au laboratoire
- Sensibles aux polluants
- 2 modes de reproductions (sexué et asexué)

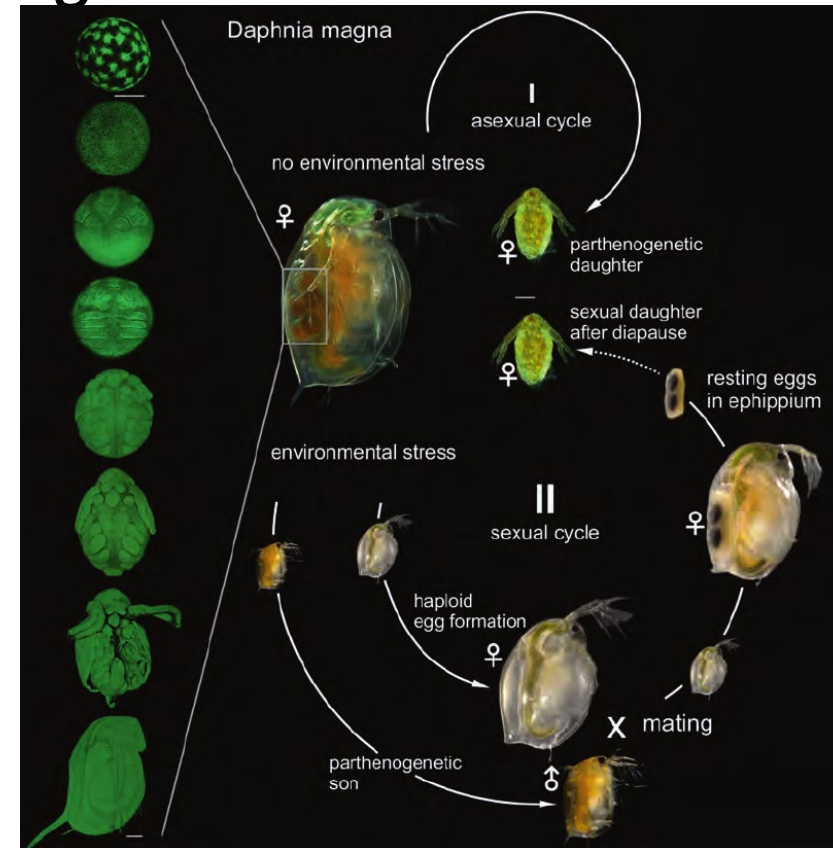


QUELLES SONT LES IMPACTS SUR UNE POPULATION DE MACRO-INVERTÉBRÉS ?

1. Organisme modèle : *Daphnia magna*

- ❑ Court cycle de vie
- ❑ Grand nombre de petits
- ❑ Elevage facile au laboratoire
- ❑ Sensibles aux polluants
- ❑ 2 modes de reproductions (sexué et asexué)

Mature en 7jours.
1^{er} ponte vers le 10^e jours.
Nouvelle ponte +/- tous les 2jours.
En 2mois, on a 3 générations.

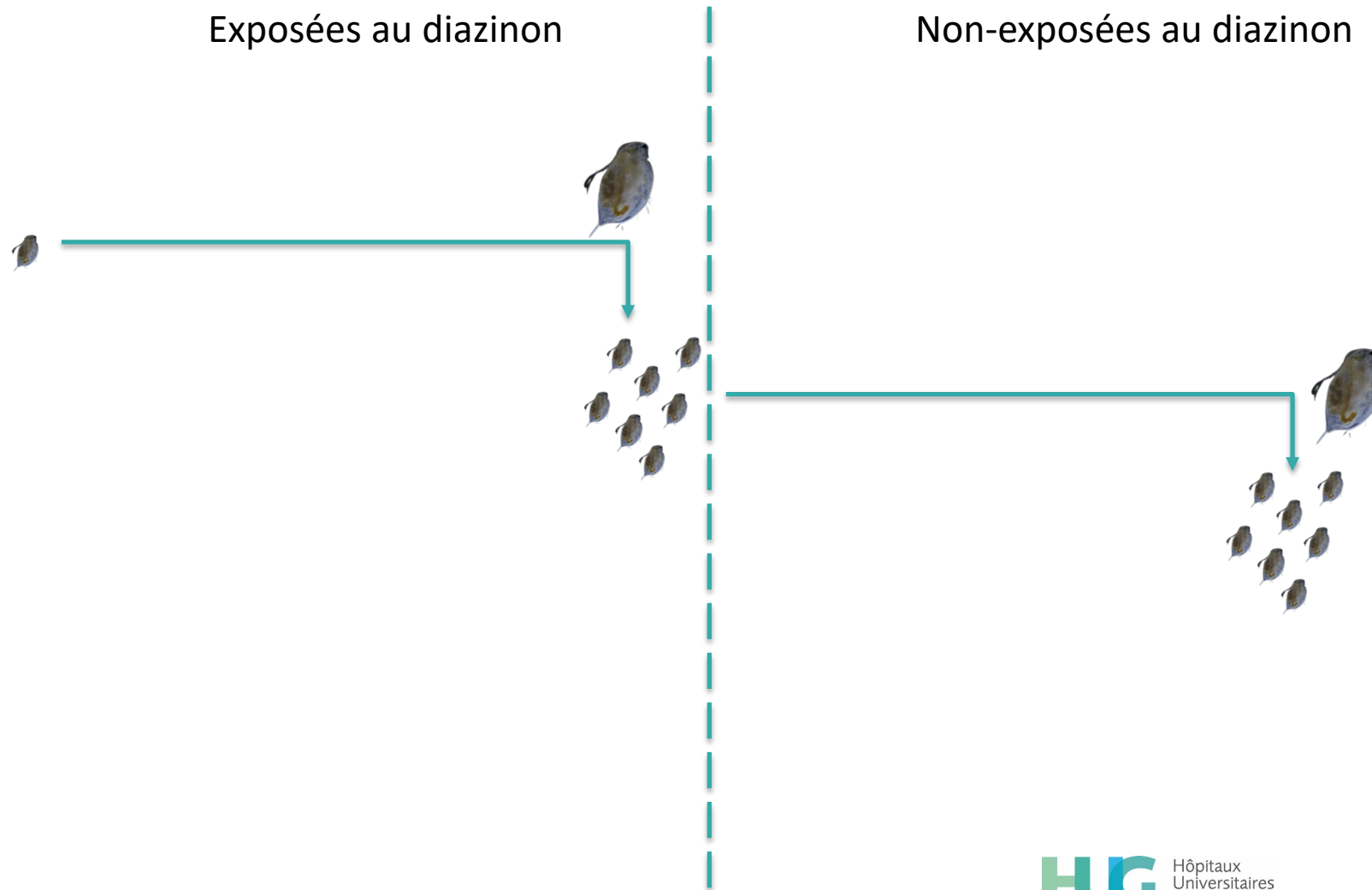


QUELLES SONT LES IMPACTS SUR UNE POPULATION DE MACRO-INVERTÉBRÉS ?

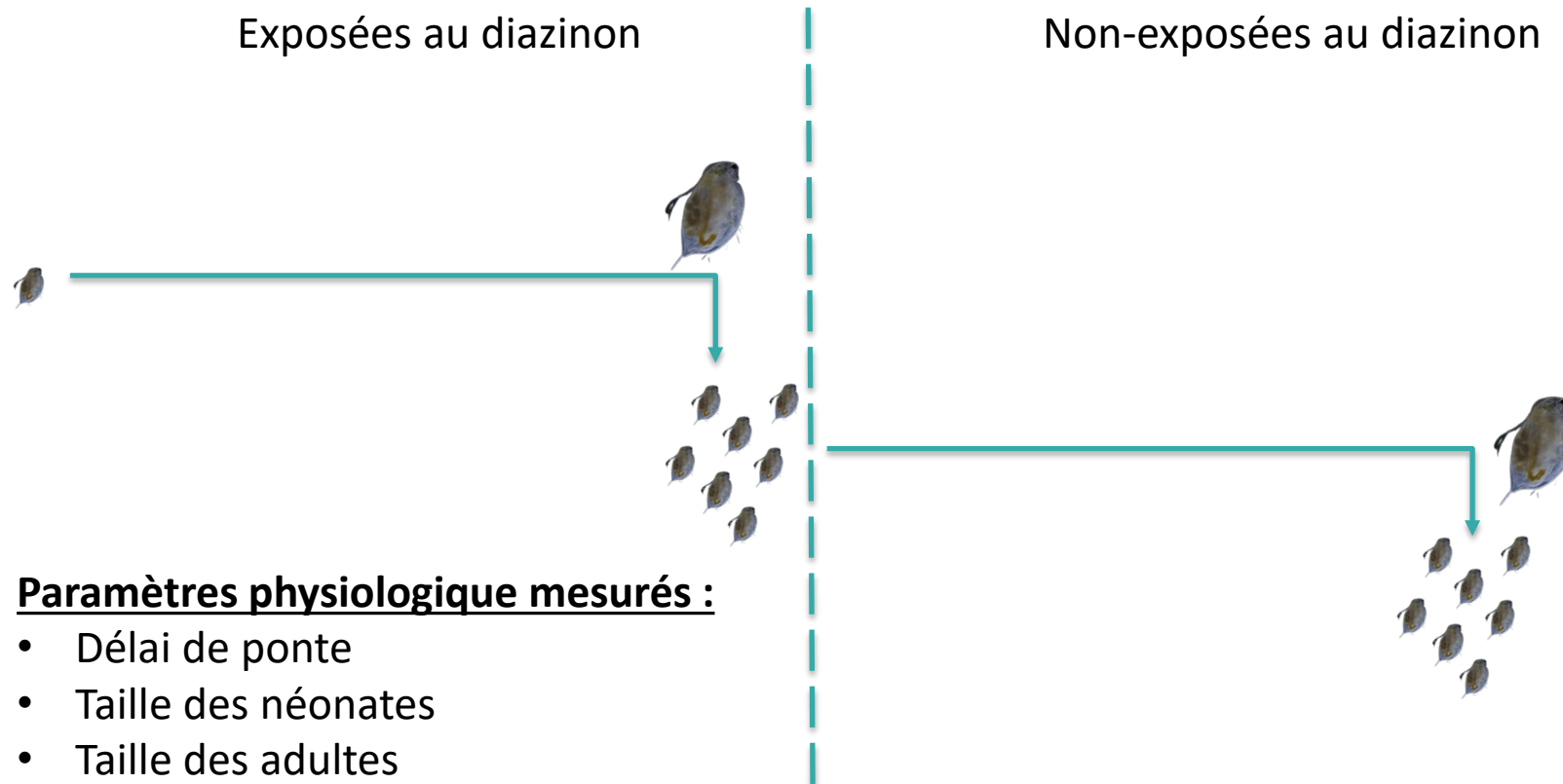
1. Organisme modèle : *Daphnia magna*
2. Pesticide connu : Organophosphoré
 - ❑ Neurotoxique à large spectre
 - ❑ Inhibe l'acétylcholine estérase
 - ❑ Mécanisme d'action connu



L'EFFET DU DIAZINON SUR LA 1^{ÈRE} GÉNÉRATION DE NÉONATES.

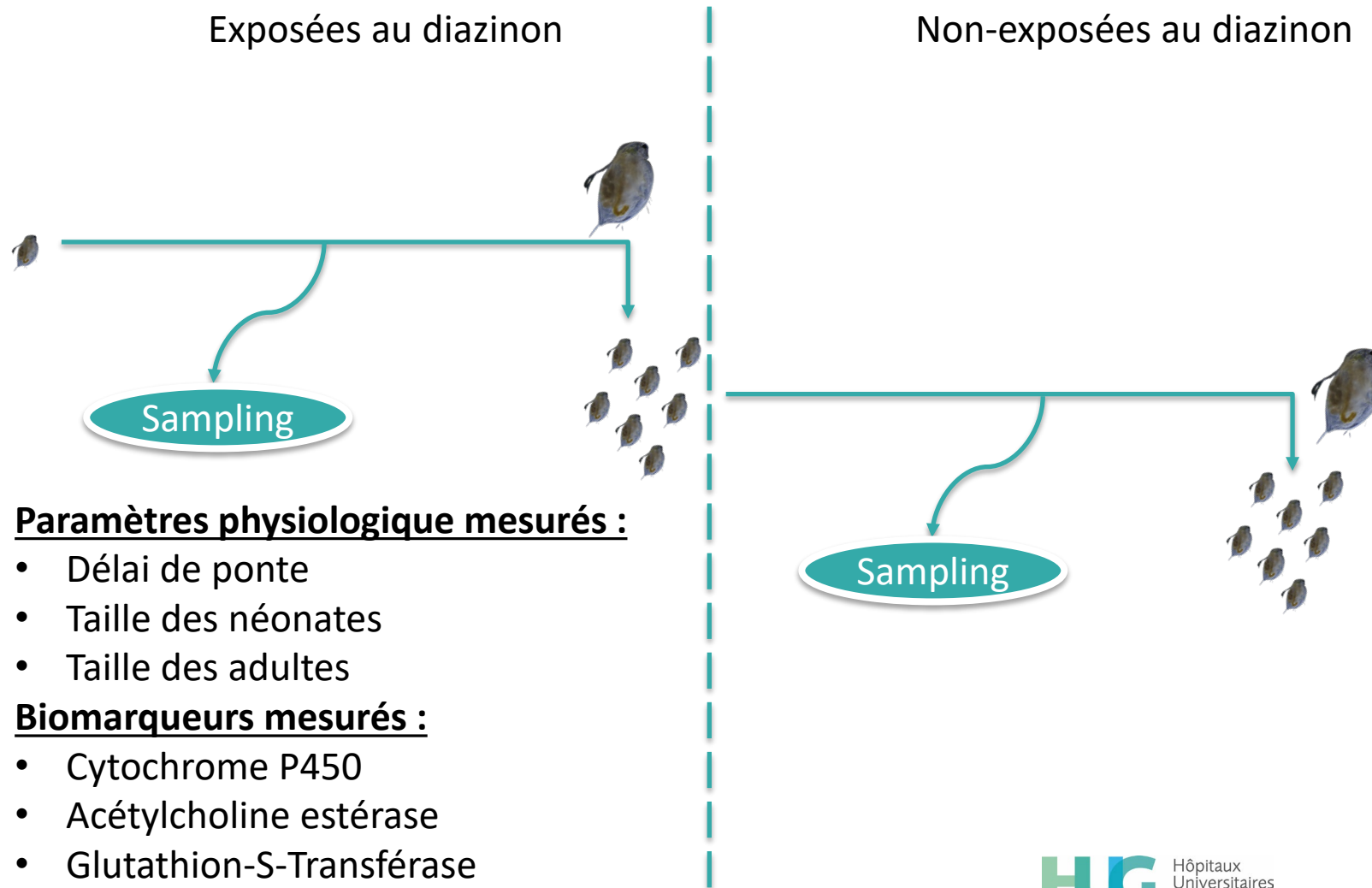


L'EFFET DU DIAZINON SUR LA 1^{ÈRE} GÉNÉRATION DE NÉONATES.



Hypothèse : Le diazinon agit sur le système nerveux → moins de déplacement donc moins accès à la nourriture → Taille variable ?

L'EFFET DU DIAZINON SUR LA 1^{ÈRE} GÉNÉRATION DE NÉONATES.



Paramètres physiologique mesurés :

- Délai de ponte
- Taille des néonates
- Taille des adultes

Biomarqueurs mesurés :

- Cytochrome P450
- Acétylcholine estérase
- Glutathion-S-Transférase



L'EFFET DU DIAZINON SUR LA 1^{ÈRE} GÉNÉRATION DE NÉONATES.

Biomarqueurs



Kretschmann and al., 2011



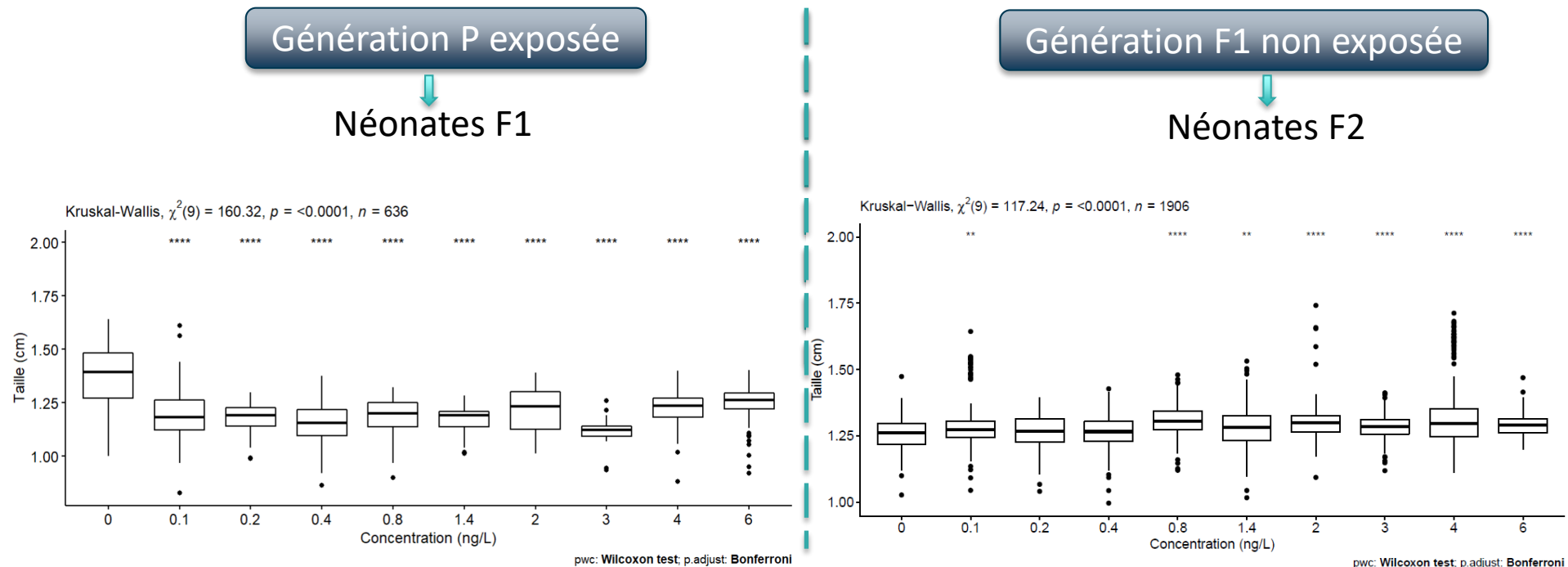
L'EFFET DU DIAZINON SUR LA 1^{ÈRE} GÉNÉRATION DE NÉONATES.

- ✓ L'analyse des biomarqueurs ne montrent aucune différence significative
→ *Est-ce que le diazinon a pu être transformé en diazoxon et inhiber l'AChE ?*
- ✓ Pas de retard de ponte et la taille des adultes reste inchangés
→ *La croissance est normale chez les exposés et ils pondent tous en même temps.*
- ✓ En revanche, un effet sur la taille des néonates est présent dès la plus faible concentration.



L'EFFET DU DIAZINON SUR LA 1^{ÈRE} GÉNÉRATION DE NÉONATES.

- ✓ L'analyse des biomarqueurs ne montrent aucune différence significative
- ✓ Pas de retard de ponte et la taille des adultes reste inchangés
- ✓ En revanche, un effet sur la taille des néonates est présent dès la plus faible concentration.



L'EFFET DU DIAZINON SUR LA 1^{ÈRE} GÉNÉRATION DE NÉONATES.

- ✓ L'analyse des biomarqueurs ne montrent aucune différence significative
→ *Est-ce que le diazinon a pu être transformé en diazoxon et inhiber l'AChE ?*
- ✓ Pas de retard de ponte et la taille des adultes reste inchangés
→ *La croissance est normale chez les exposés et ils pondent tous en même temps.*
- ✓ En revanche, un effet sur la taille des néonates est présent dès la plus faible concentration.
→ *Y aurait-il un impact sur le métabolisme des lipides ?*

L'EFFET DU DIAZINON SUR LA 1^{ÈRE} GÉNÉRATION DE NÉONATES.

- ✓ L'analyse des biomarqueurs ne montrent aucune différence significative
→ *Est-ce que le diazinon a pu être transformé en diazoxon et inhiber l'AChE ?*
- ✓ Pas de retard de ponte et la taille des adultes reste inchangés
→ *La croissance est normale chez les exposés et ils pondent tous en même temps.*
- ✓ En revanche, un effet sur la taille des néonates est présent dès la plus faible concentration.
→ *Y aurait-il un impact sur le métabolisme des lipides ?*



Comment la génération parentale réagit avec de plus fortes concentrations ?

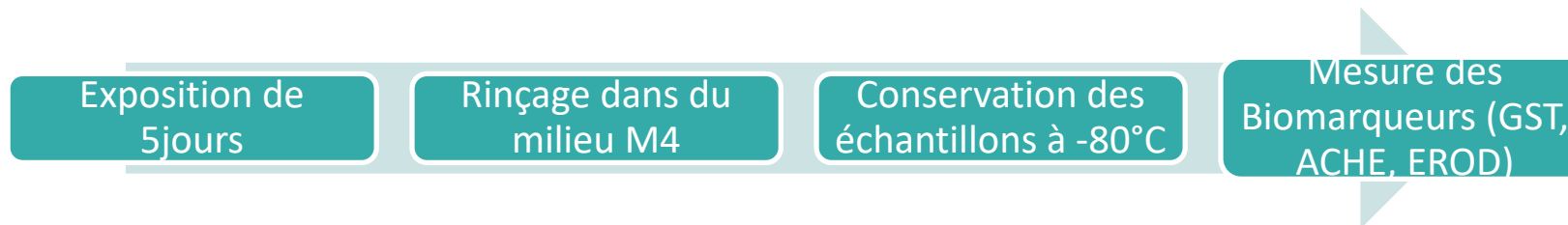


CARACTÉRISATION DE L'EFFET DU DIAZINON SUR LES PARENTS.

- ✓ L'analyse des biomarqueurs ne montrent aucune différence significative
→ *Est-ce que le diazinon a pu être transformé en diazoxon et inhiber l'ACHE ?*



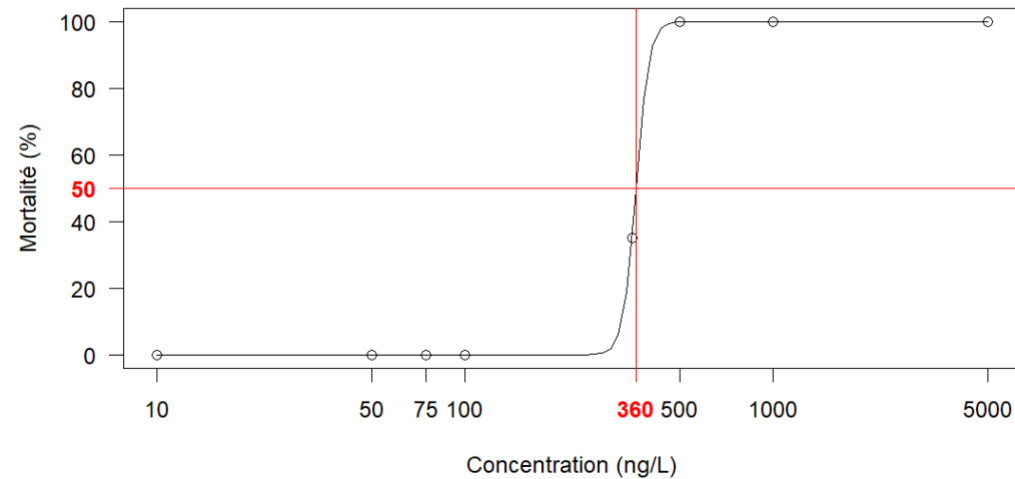
Comment se comporte la réponse moléculaire en augmentant les concentrations



CARACTÉRISATION DE L'EFFET DU DIAZINON SUR LES PARENTS.

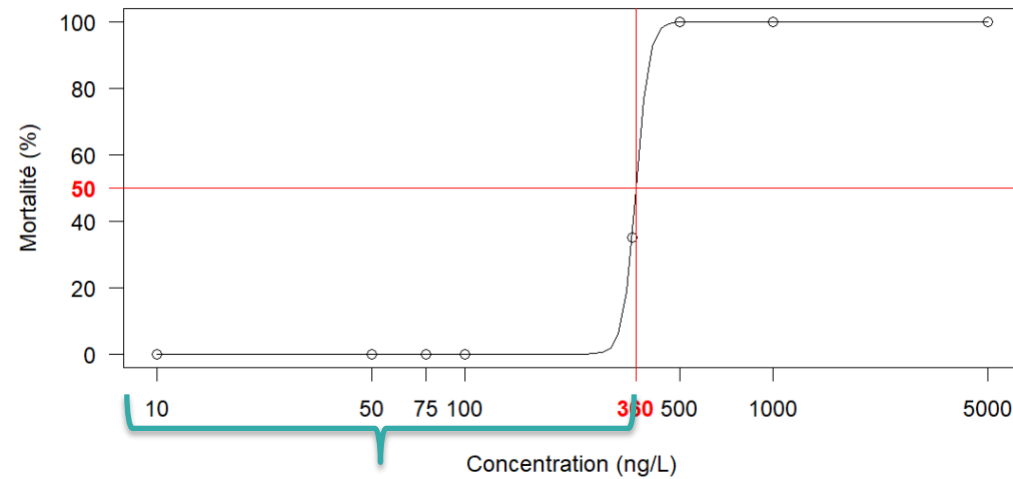
Dose-réponse 5jours

Courbe dose-réponse de la *Daphnia magna* exposé au diazinon (ng/L).
EC50 = 360 ng/L



CARACTÉRISATION DE L'EFFET DU DIAZINON SUR LES PARENTS.

Biomarqueurs

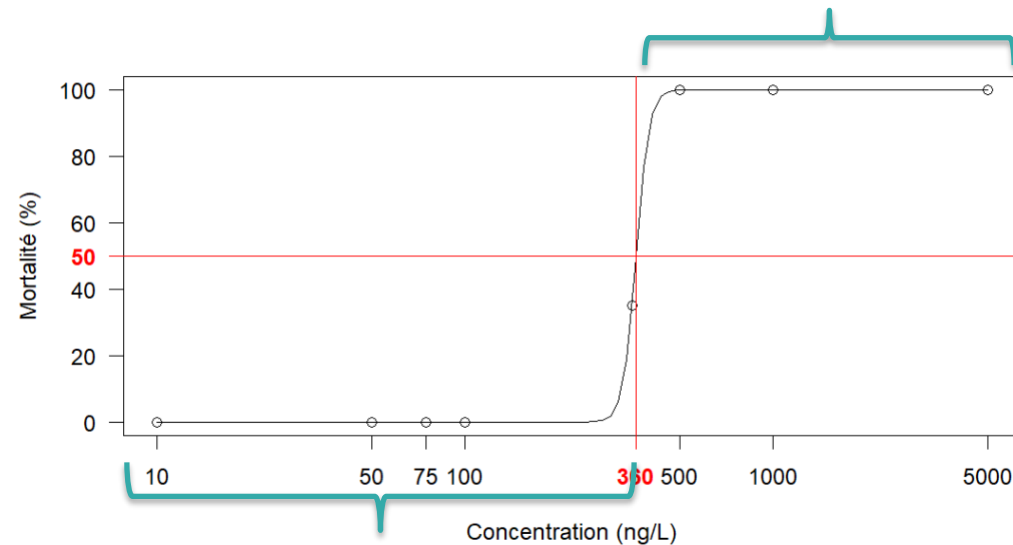


Aucune différence
statistique

CARACTÉRISATION DE L'EFFET DU DIAZINON SUR LES PARENTS.

Biomarqueurs

La réponse moléculaire induit-elle directement la mort ?



Aucune différence statistique



L'EFFET DU DIAZINON SUR LA 1^{ÈRE} GÉNÉRATION DE NÉONATES.

- ✓ L'analyse des biomarqueurs ne montrent aucune différence significative
→ *Est-ce que le diazinon a pu être transformé en diazoxon et inhiber l'AChE ?*

- ✓ Pas de retard de ponte et la taille des adultes reste inchangés
→ La croissance est normale chez les exposés et ils pondent tous en même temps.
Qu'en est-il de la reproduction ?



Comment se comporte la réponse phénotypique en augmentant les concentrations ?

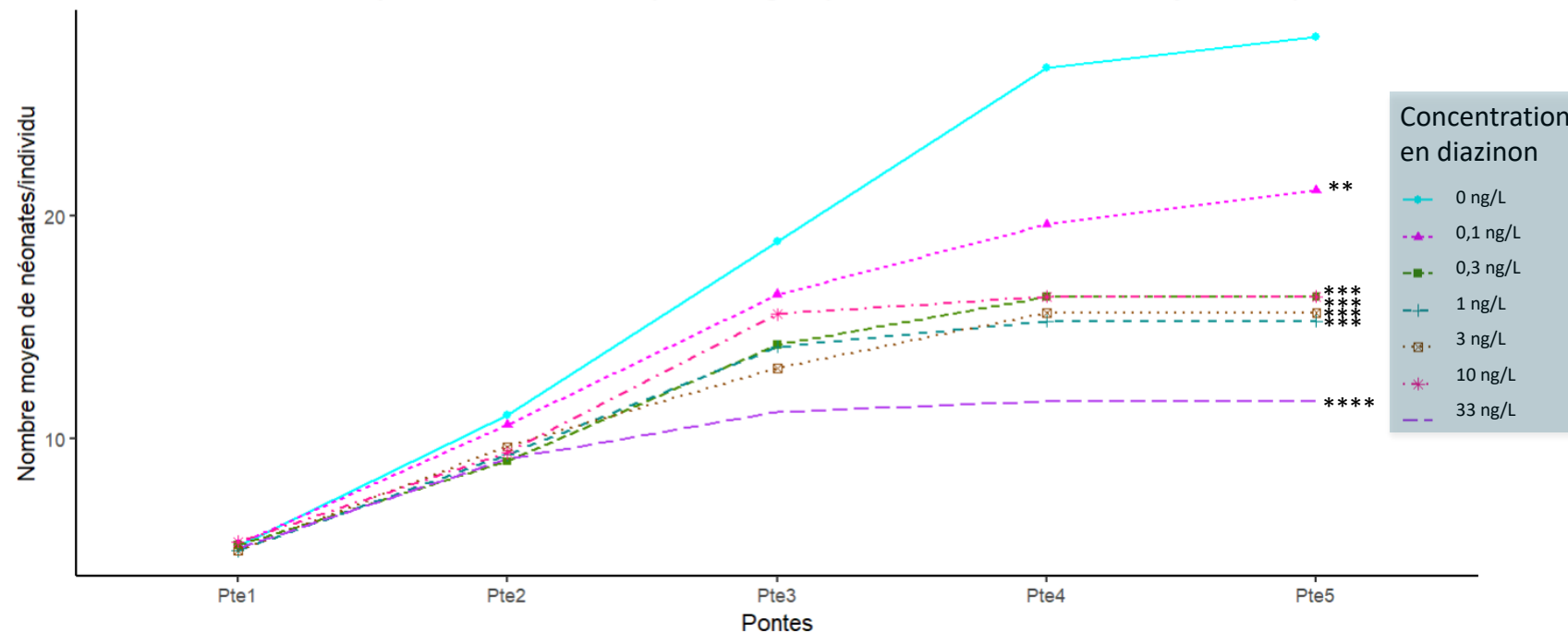
Exposition de 21 jours

Décompte des néonates tous les jours à partir du 10e jours

CARACTÉRISATION DE L'EFFET DU DIAZINON SUR LES PARENTS.

Reproduction

Nombre de néonates moyen cumulé chez la *Daphnia magna*, par individu, au cours des 21 jours d'exposition.

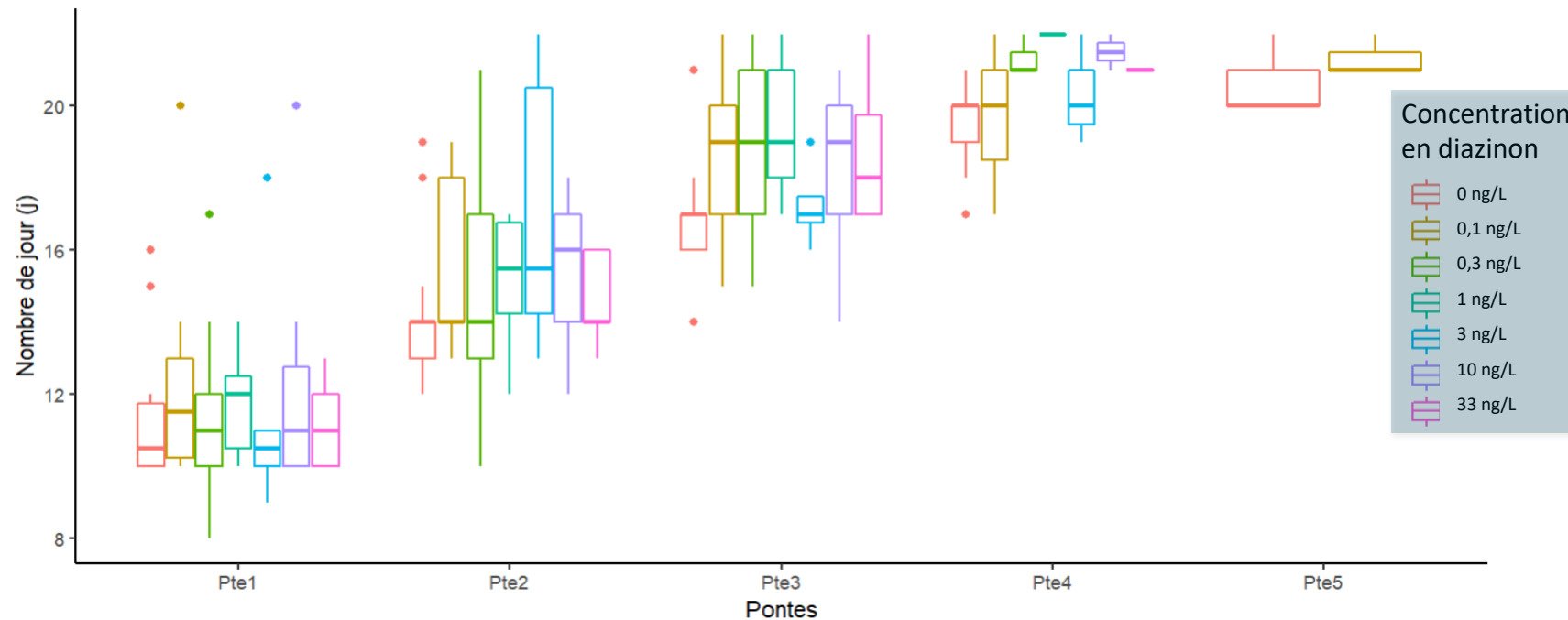


Nombre de néonates cumulé chez la *Daphnia magna* par individu, au cours des 21 jours d'exposition. Les analyses statistiques sont obtenues à la suite d'un T-test avec un ajustement par la méthode de Holm. ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$ et **** $p < 0.00001$. Ce test est appliqué sur la dernière valeur cumulée en fonction de la concentration.

CARACTÉRISATION DE L'EFFET DU DIAZINON SUR LES PARENTS.

Reproduction

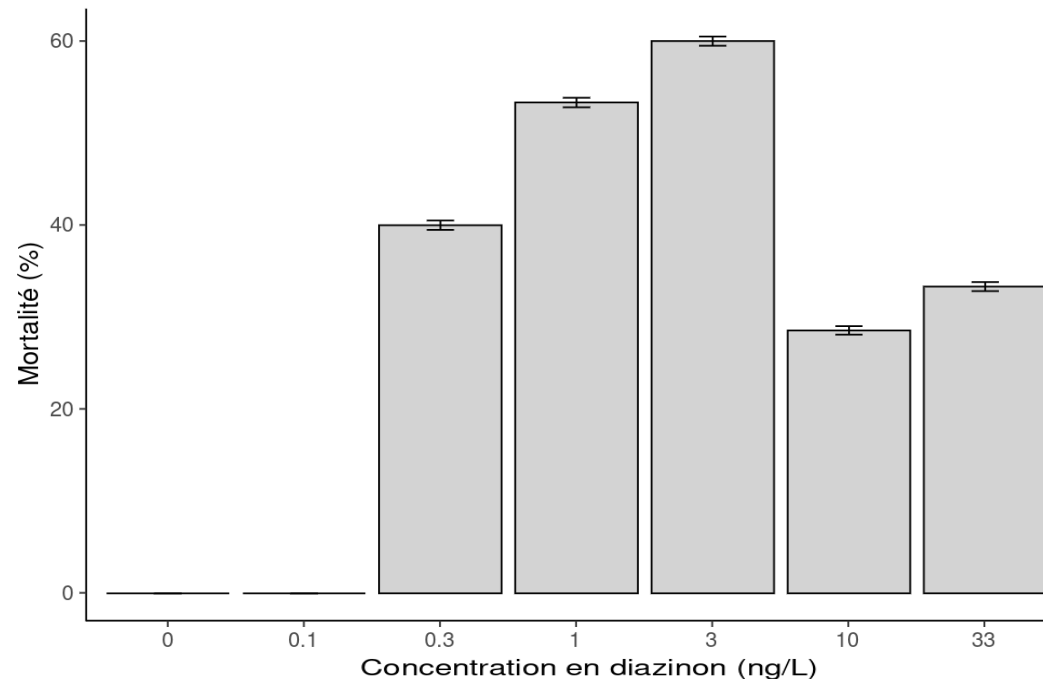
Nombre de jour pour chaque ponte de la *Daphnia magna* au cours des 21 jours d'exposition.



Nombre de jour avant chaque ponte chez la *Daphnia magna* exposée au diazinon pendant 21 jours.

CARACTÉRISATION DE L'EFFET DU DIAZINON SUR LES PARENTS.

Mortalité



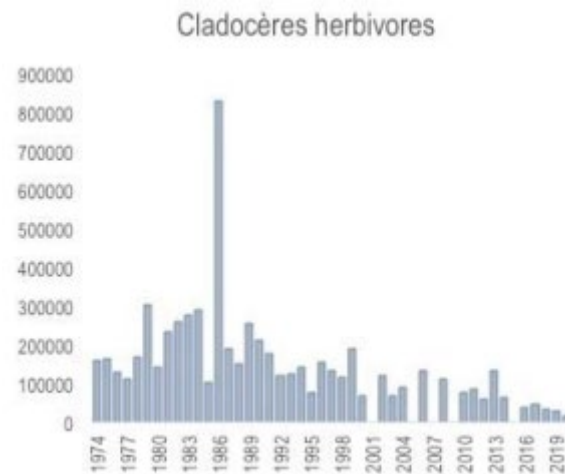
CE QU'IL FAUT RETENIR

- La réponse moléculaire mesurée chez les vivants n'est pas déclenchée
- Pas de retard de ponte en revanche, à partir de 15jours, les pontes sont arrêtés
- La quantité de néonates produit sur 21jours diminue fortement
- La taille des néonates produit est affectée dès la plus basse concentration, 0,1ng/L.



POUR CONCLURE

- A très faible concentration, nous avons vu des changements phénotypique chez la descendance.
- Les études sur le long terme (21jours) et multigénérationnelles sont importantes pour mieux comprendre la dynamique d'une population.



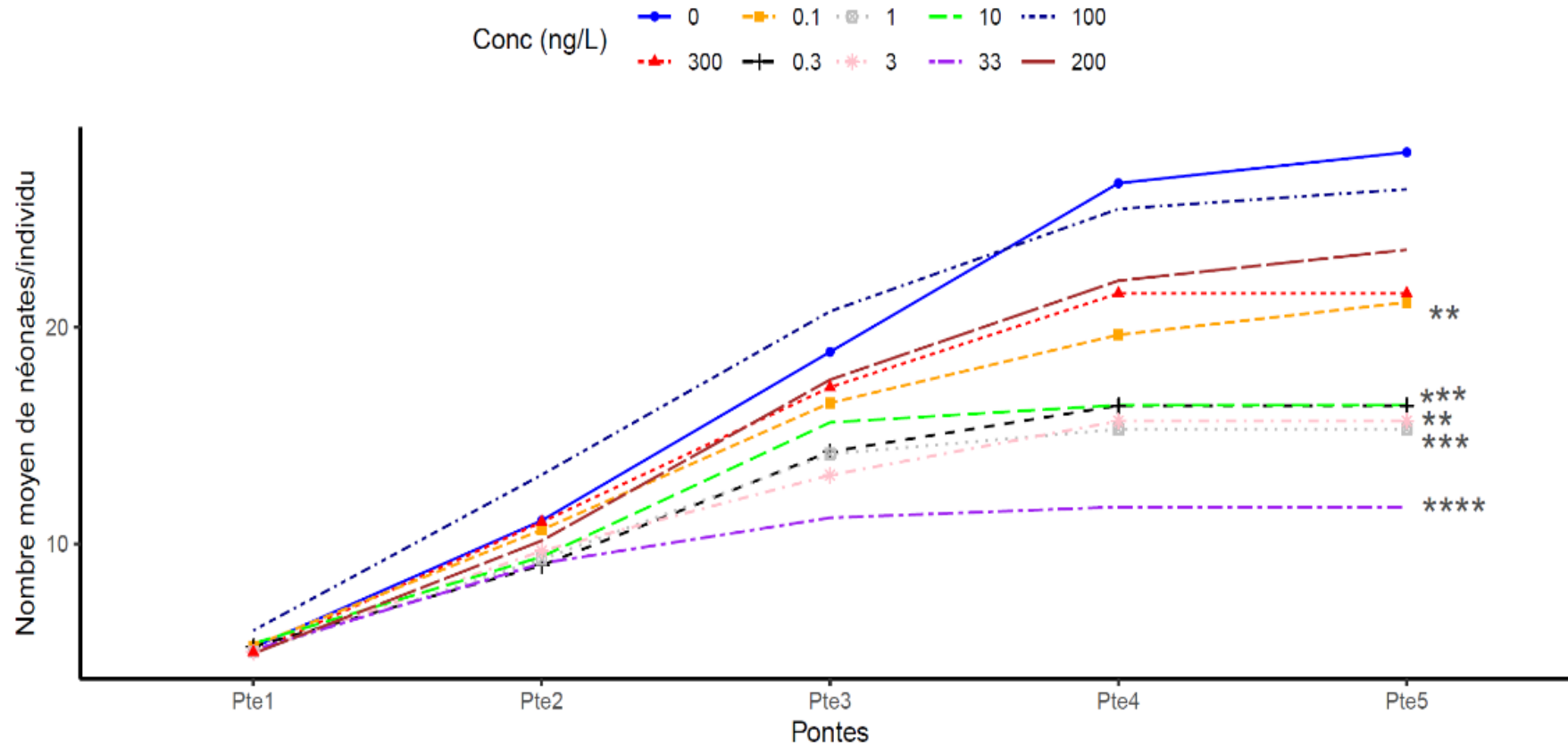
MERCI POUR VOTRE ATTENTION

floriane.tisserand@unil.ch



ANNEXE

Nombre de néonates moyen cumulé chez la *Daphnia magna*, par individu, au cours des 21 jours d'exposition.



ANNEXE

Table 1. Concentration of diazinon in the surface water of the Haraz, Talar and Babolrood rivers (ng/L).

	Number Sample	Season	Mean \pm SD	Minimum	Maximum
Haraz River	30	Summer	98 \pm 153 *	<LOQ	497
	30	Autumn	16 \pm 22	<LOQ	77
	60	Two seasons	57 \pm 116	<LOQ	497
Talar River	36	Summer	72 \pm 95 *	<LOQ	457
	36	Autumn	10 \pm 23	<LOQ	134
	72	Two seasons	41 \pm 76	<LOQ	457
Babolrood River	36	Summer	140 \pm 183 *	<LOQ	650
	36	Autumn	11 \pm 21	<LOQ	90
	72	Two seasons	76.5 \pm 145	<LOQ	650
Total	204	Total	58 \pm 116	<LOQ	650

* results statistically significant.

(Dahmardeh Behrooz et al., 2021)

