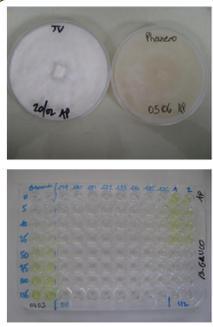


Hedde M., Poitevin A., Boisseillier M., Cheviron N., Touton I., Mougin C., Repincay C., Néliou S.  
UR 251 PESSAC, INRA, Versailles, France

## Introduction

Les polluants organiques peuvent être dégradés à la surface du sol par des **photoréactions** induites par les constituants du sol, tels que les nitrates ou les acides humiques. Ces processus peuvent aboutir à des dérivés toxiques qui constitueraient un risque potentiel pour les organismes. De telles réactions de photodégradation ont été mises en évidence et caractérisées dans les écosystèmes aquatiques notamment pour des herbicides de la famille des chlorophénylurées (diuron DIU et chlorotoluron CTU). La présente étude a pour but d'évaluer l'impact écotoxicologique de ces deux molécules et de leurs produits de photodégradation sur deux organismes modèles appartenant aux champignons basidiomycètes *Trametes versicolor* et *Phanerochaete chrysosporium*.

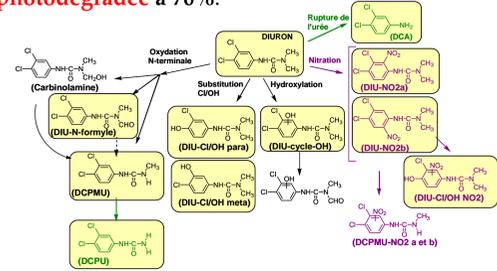


## Cultures en milieu liquide

- Deux champignons basidiomycètes: *Trametes versicolor* et *Phanerochaete chrysosporium*.
- Milieu de culture: adapté de Abadulla et al. (2000) afin d'augmenter la biodisponibilité des herbicides.
- Quatre modalités et différentes concentrations ont été testées pour chaque champignon. Chaque modalité a été répétée en triplicat pour les cinq dates considérées (Jours J0, J3, J5, J7 et J10). Les cultures ont été placées à 25°C, à l'obscurité.
- A chaque date, des mesures d'impact et des dosages chimiques en UPLC-MS ont été réalisés.

## Photodégradation

Le DIU et le CTU ont été photodégradés en présence de nitrate (inducteur) par des irradiations réalisées sous lumière solaire simulée dans une enceinte cylindrique comportant six lampes qui émettent entre 300 et 450 nm (TLD 15 W, Philips). La cinétique de photodégradation a été suivie par analyse HPLC-UV afin de stopper la réaction au moment de l'obtention d'une solution de phénylurée **photodégradée** à 70%.



### Exemple de schéma de dégradation

DIU (inspiré de Shankar et al., 2007). En vert, les produits spécifiques de la biodégradation du diuron, en mauve les produits spécifiques de la photodégradation induite (dans les conditions de l'étude), et en noir les produits communs à la biodégradation et à la photodégradation. Les composés encadrés sont ceux qui sont suivis au cours de cette étude.

## Mesure de l'impact

Après 0, 2, 5, 7 et 10 jours d'incubation (= d'exposition):

- Biomasse des champignons
- Sept activités enzymatiques extracellulaires : 4 hydrolase [ $\beta$ -D-glucosidase (GLU), phosphatase acide (PAC), N-acétylglucosaminidase (NAG) et  $\beta$ -galactosidase (GAL)] et 3 oxydases [laccase (LAC), manganèse-péroxydase (Mn-P) et lignine-péroxydase (Li-P)].
- Quantifiées via la mesure de la DO des surnageants de culture à 405 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques spectrophotomètre-UV

## Quantification des produits de dégradation (UPLC-MS)

Dans chacun des milieux de culture liquide, les produits de dégradation des phénylurées ont été suivis. Le couplage de l'UPLC (Ultra-Pressure Liquid Chromatography) avec la MS (Mass Spectroscopy) en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring) permet d'obtenir des signaux spécifiques et est donc très performant, même en présence d'interférents co-éluants.

## Modalités testées

- Milieu sans champignon ni nitrate
- Milieu avec champignon avec nitrate
- Milieu avec champignon avec nitrate avec herbicide
- Milieu avec champignon avec nitrate avec herbicide photodégradé à 70%

Les concentrations en herbicide apportées étaient 0,0, 2,5, 5,0 et 10,0 mg L<sup>-1</sup>. Ces modalités ont été réalisées pour tous les couples DIU/CTU - *T. versicolor*/*P. chrysosporium*

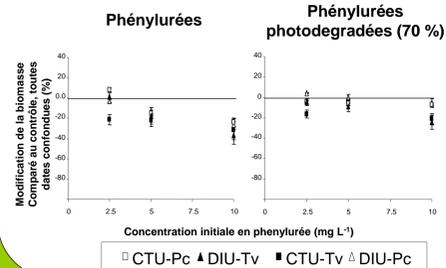
Le nitrate est présent dans ces essais car c'est l'inducteur de la photodégradation (cf encart ci-dessus).

## Effet des facteurs testés

L'effet des facteurs « temps d'exposition » (0, 3, 5, 7, 10 j), « phénylurée » (DIU/CTU), « concentration » en phénylurée (0, 2,5, 5,0, 10,0 mg L<sup>-1</sup>) et « photodégradation » (0% et 70%) et leurs interactions a été testé.

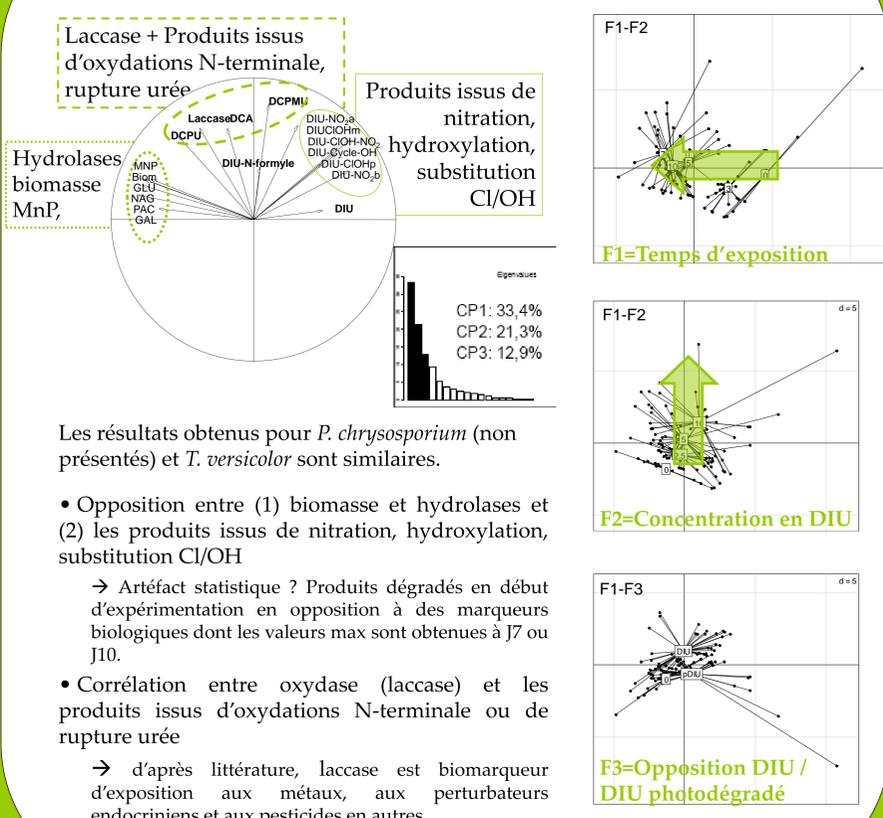
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>							<i>Trametes versicolor</i>								
Temps d'exposition	Biomasse	NAG	GAL	PAC	GLU	MnP	LiP	Temps d'exposition	Biomasse	NAG	GAL	PAC	GLU	MnP	LAC
Phénylurée	***	***	***	***	***	***	**	Phénylurée	***	***	***	***	***	***	***
Concentration	***	***	***	***	***	*	*	Concentration	***	***	***	***	***	***	***
Photodégradation	***	***	***	***	***	*	*	Photodégradation	*	*	*	*	*	*	*
Concentration x photodégradation	***	***	***	***	***	*	*	Concentration x photodégradation	***	***	***	***	***	***	***
Phénylurée x photodégradation	**	*	*	*	*	*	*	Phénylurée x photodégradation	*	*	*	*	*	*	*
Concentration x phénylurée		**	***	**		**		Concentration x phénylurée	*	***	***	***	*		*
Concentrat. x phénylurée x photodég.	*							Concentrat. x phénylurée x photodég.						*	*

## Réponse de la biomasse fongique

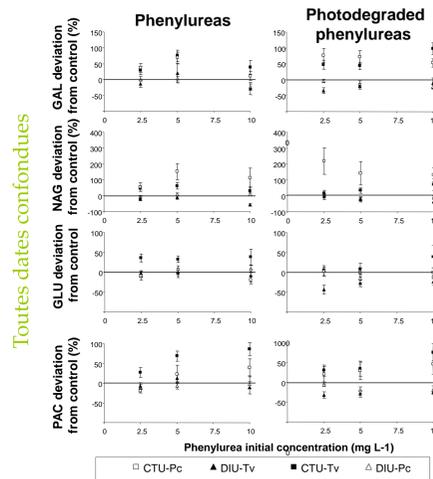


- Diminue quand la concentration en phénylurée augmente
- Influence aussi du temps d'exposition et de la photodégradation mais pas de la molécule en elle-même
- Valeurs minimales en présence de 10 mg L<sup>-1</sup> d'herbicide (-24% à -37%).
- En présence de phénylurées photodégradées, la biomasse est moins impactée (-20%)

## Lien réponse - produits de dégradation

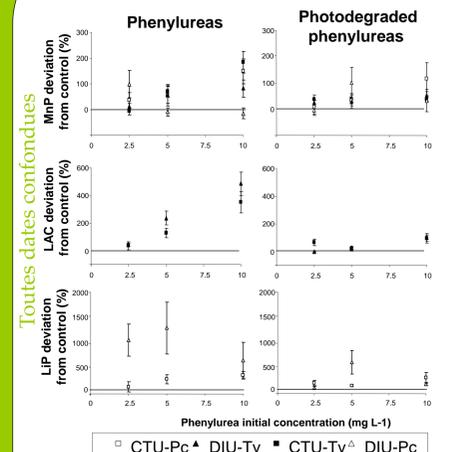


## Réponse des hydrolases



- Modifications entre +220% and -43%
- Influencées par le temps d'expo. et la molécule
- Pas de patron commun de réponse
- Globalement, peu d'effet de la photodégradation

## Réponse des oxydases



- Augmentation des oxydases (jusqu'à +1300%)
- Pas influencées par la molécule
- Patron commun de réponse
- Effet des modalités photodégradées + faibles

## Conclusions

- La prise en compte du temps d'exposition est nécessaire
- Les effets sont fortement liés à la concentration en phénylurée apportée
- L'influence de la photodégradation est plus faible que celle du temps d'exposition ou de la concentration en phénylurée
- Les oxydases sont de meilleurs indicateurs d'exposition que les hydrolases
- L'activité laccase semble particulièrement répondre aux produits issus d'oxydations N-terminale ou de rupture de l'urée.

## Remerciements

Les auteurs remercient le département « Environnement et Agronomie » et « Santé des Plantes et Environnement » de l'INRA pour leur soutien sous la forme du financement d'un Projet Innovant. Ce travail a aussi été financé en partie par la Région Ile-de-France via l'achat de l'UPLC.