



HAL
open science

Transfert des produits phytosanitaires, diagnostic de pollution et solutions correctives

Nadia Carluer, Véronique Gouy

► **To cite this version:**

Nadia Carluer, Véronique Gouy. Transfert des produits phytosanitaires, diagnostic de pollution et solutions correctives. Cemagref Editions, pp.419, 2003, 2-85362-610-5. hal-02581334

HAL Id: hal-02581334

<https://hal.inrae.fr/hal-02581334>

Submitted on 21 Jul 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

PUB 00011454

Lyon
15-17 mai 2001
GFP - Cemagref

Centre GZ -1

GZ

Transfert des produits phytosanitaires, diagnostic de pollution et solutions correctives

Actes du XXXI^e congrès du Groupe Français des Pesticides

Transfert des produits phytosanitaires, diagnostic de pollution et solutions correctives

Actes du XXXI^e congrès
du Groupe Français des Pesticides

Lyon (Rhône)
15, 16 et 17 mai 2001

Coordination :

Nadia Carluer et Véronique Gouy

Comité scientifique

Nadia Carluer, Véronique Gouy, Christelle Margoum,
Brigitte Laillet, Cécile Miège, Claude Souiller,
Jean-Joël Gril.

Comité d'organisation

Claude Souiller, Chantal Joubert, Céline Lambert,
Nadia Carluer, Véronique Gouy, Christelle Margoum,
Brigitte Laillet, Cécile Miège, Jean-Joël Gril,
Baptiste Barrere , Guillaume Dramais.

Actes du XXXI^e congrès du Groupe Français des Pesticides « **Transfert des produits phytosanitaires, diagnostic de pollution et solutions correctives** » – Lyon – 15 au 17 mai 2001. Coordination : Nadia Carluer et Véronique Gouy. Dépôt légal : 1^{er} trimestre 2003 Cemagref Editions, BP 44, 92163 Antony Cedex. Tél : 01 40 96 62 85. Suivi de l'édition : Camille Cédra (Cemagref). Imprimé et façonné au Cemagref. ISBN 2-85362-610-5.

Prix : 42,00 € ttc

AVANT – PROPOS

Outre l'évolution de la réglementation relative à leur homologation et le développement de pratiques agricoles plus respectueuses de l'environnement, la limitation de la contamination des eaux par les produits phytosanitaires passe également par la maîtrise de leur transfert dans les voies de circulation de l'eau, depuis la parcelle traitée jusqu'aux milieux aquatiques. Cette maîtrise implique d'envisager l'exploitation agricole dans sa dimension territoriale en prenant en compte les caractéristiques pédologique et paysagère des parcelles qui la composent.

Des travaux de recherche et de développement sont actuellement entrepris pour répondre aux questions qui se posent pour fonder les actions correctives sur des bases scientifiques et techniques solides.

Ainsi, le thème principal du XXXI^e congrès du Groupe Français des Pesticides est tourné vers le transfert des produits phytosanitaires vers le milieu aquatique et l'atmosphère, le diagnostic de la pollution associée et les solutions correctives.

Le présent ouvrage réunit l'ensemble des travaux présentés au cours du congrès, qui s'est articulé autour des principales thématiques suivantes :

- L'analyse des résidus de phytosanitaires dans les eaux et diverses matrices solides ;
- Les voies de dégradation ;
- Les méthodes de diagnostic de la pollution par les phytosanitaires et les solutions correctives ;
- Le transfert et la transformation des phytosanitaires ;
- L'écotoxicologie, la toxicologie des phytosanitaires.

Comme à l'habitude, la structure pluridisciplinaire du GFP a contribué à la richesse des débats : la présence d'agronomes, de pédologues, d'hydrologues, d'écotoxicologues, de chimistes, ainsi que d'acteurs des groupes régionaux phytosanitaires, du développement agricole, de responsables des services de la réglementation et de l'industrie de la protection des plantes a permis d'approcher le problème sous de multiples facettes.

A travers ce congrès, le Cemagref de Lyon ainsi que nombre de scientifiques, collègues et amis, ont salué la mémoire de René Belamie, disparu soudainement en 1997, qui a été un pionnier dans le développement des recherches sur le devenir des produits phytosanitaires dans les bassins versants et le principal fondateur de l'équipe Pollutions Diffuses du Cemagref.



SOMMAIRE

Communications orales

Dosage du glyphosate et de l'AMPA dans l'eau par chromatographie liquide et détection de fluorescence. Comparaison de deux fluorophores : FMOC et NBD-CI R. COLIN, E. LE FUR, C. CHARRETEUR, C. DUFAU, J.J. PERON.	8
Mise au point et validation d'une méthode d'analyse multirésidus de pesticides sur substrats d'origine végétale. G. QUINTELAS.	17
Analyse de résidus dans les fraises par SPME. Cas des Pyréthriinoïdes ou des molécules très peu solubles dans l'eau. A. SANUSI, L. URRUTY, J.J. POMMIER, M. MONTURY.	26
Caractérisation d'un nouvel insecticide naturel d'origine végétale et ses produits de dégradation en environnement contrôlé. S. BARREK, O. PAISSE, M.F. GRENIER-LOUSTALOT.	34
Dégradation photocatalytique d'un insecticide acaricide, le formétanate. C. GUILLARD, A. MARINAS, J.M. MARINAS, A. FERNANDEZ-ALBA, J.M. HERRMANN.	45
Diagnostic de la pollution diffuse par les produits phytosanitaires. Solutions correctives. V. GOUY, J.J. GRIL.	61
Mise en œuvre des recommandations du CORPEN à l'échelle d'un bassin versant : premiers résultats obtenus sur le site de la Fontaine du Theil. V. BIBARD., N. MARQUET.	77
Adaptation d'une méthode de diagnostic phytosanitaires à la région Poitou-Charentes. F. BOMBARDE.	90
La méthode de diagnostic parcellaire du risque de contamination des eaux superficielles par les produits phytosanitaires adoptée en Bretagne : fondements et mise en œuvre. F. LAUBIER.	96
Actions pour réduire la pollution des eaux par les produits phytosanitaires en Bretagne et résultats obtenus. O. FERRON.	109
Impact d'itinéraires culturels du maïs sur les transferts d'herbicides par Ruissellement. D. HEDDADJ, C. GASCUEL-ODOUX.	116
Evaluation du plan d'action sur le bassin versant céréalier d'Auradé dans le Gers. A. GILLE.	129

Réduction de la présence de résidus de produits phytosanitaires dans un petit bassin agricole belge. S. BEERNAERTS, P. DEBONGNIE; C. de VLEESCHOUWER, A. DELVAUX, L. PUSSEMIER.	141
Le programme AQUAE : Rôle des aménagements d'origine anthropique (zones enherbées et fossés) dans le transfert et la rétention des produits phytosanitaires. R. MOUSSA, P. ACKERER, V. ADAMIADÉ, P. ANDRIEUX, E. BARRIUSO, P. BENOIT, G. BOURRIER, N. CARLUER, M.P. CHARNAY, C. CHAUMONT, Y. COQUET, A. DUTERTRE, G. COULOUMA, J.C. FABRE, C. GARON-BOUCHER, J.P. GILLET, V. GOUY, J.J. GRIL, C. KAO, P. LAGACHERIE, S. LE FORNER, F. LEHMANN, X. LOUCHART, I. MAGRIGAL, Y. NEDELEC, V. POT, B. REAL, J.M. ROBBEZ-MASSON, C. SOUILLER, F. TROLARD, M. VOLTZ.	155
Etudes comparées du devenir de l'atrazine et de l'isoproturon dans les sols de zones tampon : influence des conditions d'oxydo-réduction sur la dissipation. M.P. CHARNAY, S. KOCAK, I. MADRIGAL, B. BENOIT, H. JEAN-JACQUES, V. ETIEVANT.	166
Comportement des produits phytosanitaires dans les fossés. R. WILLIAMS, J. SMITH.	181
Modélisation du transfert des pesticides dans les sols : importance et prise en compte des incertitudes. I. DUBUS.	190
La dissipation des produits phytosanitaires appliqués au sol. G. GREBIL, S. NOVAK, C. PERRIN-GANIER, M. SCHIAVON.	197
Matière organique, infiltrabilité des sols et transfert de bentazone. R. CHERRIER, C. PERRIN-GANIER, P. KERVEILLANT, J.M. PORTAL, M. SCHIAVON.	217
Transfert du diuron et de l'oryzalin en lysimètres dans trois sols viticoles non perturbés (Vosne-Romanée, 21). D. LANDRY, S. DOUSSET, F. ANDREUX.	229
Etude des interactions des pesticides avec les apatites. A. BOUHOUSS, A. BENSAOUD, M.EI AZZOUI, M. FERHAT.	238
Effet biostimulant d'une culture de maïs sur la capacité d'un sol à dégrader l'atrazine. S. PIUTTI, F. MARTIN-LAURENT, S. ROUSSEAU, S. HALLET, B. LAGACHERIE, G. SAULAS.	245
Mise en évidence du transfert de pesticides d'origine agricole dans l'atmosphère sur deux sites urbain et rural en région Ile-de-France . J.J. AARON, P. PERNOT, J.P. QUISEFIT, D. TESSIER, J. PINART.	259
Etude expérimentale des transferts sols-air de pesticides à l'échelle d'une parcelle. Utilité de déterminer des flux de volatilisation. O. BRIAND, F. BERTRAND, M. MILLET, R. SEUX	268
Ecotoxicologie et toxicologie des produits phytosanitaires. De l'obligation réglementaire à la protection des milieux. J.L. RIVIERE.	276

Suivi, par un biocapteur enzymatique, de la dégradation photochimique du parathion-méthyl. Corrélation entre la toxicité des photoproduits, leur nature et leur concentration. J.M. CHOVELON, S. DZYADEVYTCH. 284

Sciences, société, politique et réglementation : une perspective constante d'actions pour l'UIPP J.C. TOURNAYRE. 292

Affiches

Etude de résidus de produits phytosanitaires, produits de leur dégradation ou de leur métabolisme au cours des étapes de l'élaboration du Cognac. S. ESTREGUIL, B. GALY, F. DESACHE, R. CANTAGREL. 298

Dégradation photochimique des herbicides Phénoxyalcanoïques en milieux Aqueux. F. DHIL, J.J. AARON, N. OTURAN, A. CHAOUCH, M. A. OTURAN. 304

Dégradation de la cyromazine par photolyse. Application de la photocatalyse. G. GOUTAILLER, J.C. VALETTE, R. FAURE, C. GUILLARD. 312

Influence du choix de la méthode d'investigation lors des études de photodégradation des herbicides. E. VULLIET, C. EMMELIN, M.F. GRENIER-LOUSTALOT, J.M. CHOVELON. 317

Etude sur lysimètres de l'effet d'un enherbement comparé à un maïs et un sol nu, sur le lessivage de 250 g/ha d'atrazine. J.Y. CHAPOT, J.E. DELPHIN. 323

Estimation du lessivage en bas de pente, sous une bande herbeuse et sous maïs, de l'atrazine et de la DEA transportées par les eaux de ruissellement. J.E. DELPHIN, J.Y. CHAPOT. 329

Rétention et mobilité de l'isoxaflutole et de ses dérivés dans le sol. E. BELTRAN, H. FENET, J.F. COOPER, C.M. COSTE. 334

Etude des interactions pesticides/argiles anioniques. J. INACIO, C. TAVIOT-GUEHO, C. FORANO, J.P. BESSE. 345

Etude de la minéralisation de l'isoproturon dans deux sols marocains. A. BOUHAOUSS, K/ EL-KHATTABI, C. PERRIN-GANIER, M. SCHIAVON. 355

Augmentation de la dégradation de l'atrazine dans des sols non adaptés par inoculation de *Chelatobacter heintzii* Cit 1. S. ROUSSEAU, S. PIUTTI, A. HARTMANN, B. LAGACHERIE, F. ANDREUX, G. SOULAS. 361

Transfert de pesticides en milieu alluvial. K. MEIWIRTH, A. MERMOUD 370

La contamination des nappes superficielles par les herbicides : diagnostic et facteurs. C. GASCUEL-ODOUX, J. MOLENAT. 374

- Etude de la destruction des pesticides par le procédé Fenton
sono-électrochimiquement assisté. S. PEROCHEAU, J.L. LABORDE,
S. TREVIN, M. A. OTURAN. **383**
- Recherche d'effets biologiques de l'atrazine sur hémocytes d'huître creuse,
Crassostrea gigas, *in vivo* et *in vitro*. B. GAGNAIRE, H. THOMAS-GUYON,
S. LAPEGUE, K. BOUILLY, T. RENAULT. **390**
- Révélation d'une pollution diffuse par la tolérance induite chez les communautés
de microalgues. Application de la méthode PICT (Pollution-Induced Community
Tolerance) dans une rivière contaminée par des herbicides. A. BERARD, U. DORIGO,
J.F. HUMBERT, X. BOURRAIN, N. CAUZZI, J.C. DRUART, C. LEBOULANGER. **399**
- Utilisation des communautés de microalgues telluriques comme bio indicateurs
potentiels de contamination des sols. Premiers essais sur l'extraction des algues,
la mesure de leur activité photosynthétique et leur sensibilité à l'atrazine.
A. SAINT-OLIVE, N. CAUZZI, C. LEBOULANGER, A. BERARD. **408**
- Effet des sulfonilurées de première et de deuxième génération sur les propriétés
biochimiques et microbiologiques d'un sol. A. MAZZATURA, L. SCRANO,
A. SCOPA, J.M. CHOVELON. **414**

COMMUNICATIONS

ORALES

Dosage du glyphosate et de l'AMPA dans l'eau

Comparaison de deux fluorophores : FMOC et NBD-Cl

Determination of glyphosate and AMPA in water *Comparison of two fluorogenic reagents : FMOC and NBD-Cl*

R. Colin^{1,2}, E. Le Fur¹, C. Charrêteur¹, C. Dufau², J.J. Péron²

¹ : Centre de Génie Industriel, Guidel-Plages, 56520 Guidel, France

² : Laboratoire de Biologie et Chimie Moléculaires, Université de Bretagne Sud, rue Saint-maudé, 56325 Lorient Cedex, France

Résumé : Le glyphosate, herbicide non sélectif très largement répandu, et son principal métabolite l'AMPA, sont deux molécules très solubles dans l'eau et ne peuvent donc pas être extraites selon des méthodes classiques. Deux méthodes de dosage ont été développées et comparées, la première pour les dosages de routine, la seconde pour les dosages de confirmation.

Les deux méthodes comportent une dérivation pré-colonne, la première au FMOC, la seconde au NBD-Cl, suivie d'une analyse par chromatographie liquide avec détection fluorimétrique.

Après élimination des interférences, la méthode au FMOC a été validée selon la norme XP T90-210, sur des échantillons réels. Les essais nous ont permis d'atteindre la limite de quantification pour le glyphosate et l'AMPA respectivement à 0.06 µg/l et 0.04 µg/l, même dans des eaux chargées en matières organiques, avec des coefficients de variation inférieurs à 20%.

La méthode au NBD-Cl nous permet d'atteindre la limite de quantification de 1.0 µg/l pour le glyphosate et 0.10 µg/l pour l'AMPA. Cela montre que la pré-concentration doit être testée pour parvenir à 0.10 µg/l pour le glyphosate.

Abstract : *Two analytical methods were developed and compared for the determination of glyphosate and its metabolite AMPA in water. The first method is used for current determination, the second one is used for confirmation.*

The both methods involve a pre-column derivatization step, with FMOC for the first one, and NBD-Cl for the second one. The quantification is performed by liquid chromatography and fluorescence detection.

Matrix effects were pointed out but the method with FMOC was validated according to the French standard XP-T90-210. The limit of quantification for glyphosate and AMPA was respectively 0.06 µg/l and 0.04 µg/l, with relative standard deviation under 20%.

For the method with NBD-Cl, the limit of quantification was estimated at 1 µg/l level for glyphosate and 0.1 µg/l level for AMPA, showing that pre-concentration has to be tested to improve the quantification.

Mots-clés : glyphosate – AMPA – eau - analyse – chromatographie - fluorescence - FMOC – NBD-Cl

Keywords : *glyphosate – AMPA – water - analysis – chromatography - fluorescence – FMOC – NBD-Cl*

Introduction

Le glyphosate est une molécule herbicide amphotère, de faible poids moléculaire (169.1 g/mol.), qui peut exister sous différentes formes ioniques selon l'influence du pH sur ses groupes fonctionnels (acide carboxylique, acide phosphonique et amine secondaire), ce qui la rend facilement soluble dans l'eau (12 g/l à 25°C).

Par conséquent, les méthodes d'extraction liquide-liquide conventionnelles ne peuvent s'appliquer à l'analyse de ce composé. Ajoutons que cette molécule se dégrade facilement en libérant l'AMPA sous forme d'amine primaire.

Pour doser le glyphosate et l'AMPA nous avons exploité la capacité de deux fluorophores à réagir dans l'eau sur des amines primaires ou secondaires en produisant des dérivés fluorescents très sensibles au détecteur fluorimétrique.

1. Méthode de référence

Le FMOC étant très largement évoqué dans la littérature [1, 2, 3] nous avons choisi, dans un premier temps, de développer et d'améliorer une méthode de chromatographie liquide [1] en utilisant le FMOC comme réactif de dérivation précolonne, sans préconcentration de l'échantillon.

Pour cela nous avons focalisé nos efforts sur la réduction des interférences de matrices.

Le FMOC agit avec le glyphosate ou l'AMPA par attaque du doublet libre de l'amine secondaire ou primaire sur la fonction chlorure d'acyle du FMOC.

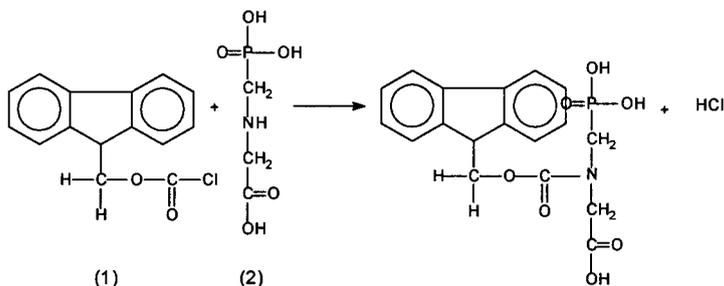


Fig. n° 1 : Substitution nucléophile du glyphosate (2) avec le FMOC (1)

Le protocole analytique est résumé en figure 2. La prise d'essai requiert seulement 3 ml d'échantillon, qui doit être alcalinisé à l'aide d'un tampon borate. Pour optimiser la dérivation il faut en effet alcaliniser le milieu réactionnel dans le but de fixer le doublet libre de l'azote.

La dérivation de cette phase aqueuse est rapide, 30 minutes à 20°C, mais une étape de lavage pré-dérivation à l'éther éthylique est nécessaire pour éliminer le maximum d'interférents organiques pouvant nuire à la spécificité de la méthode.

Une étape de lavage post-dérivation a également été introduite pour éliminer l'excès de FMOG présent dans la phase aqueuse, mais en préservant les produits de la dérivation glyphosate-FMOG et AMPA-FMOG.

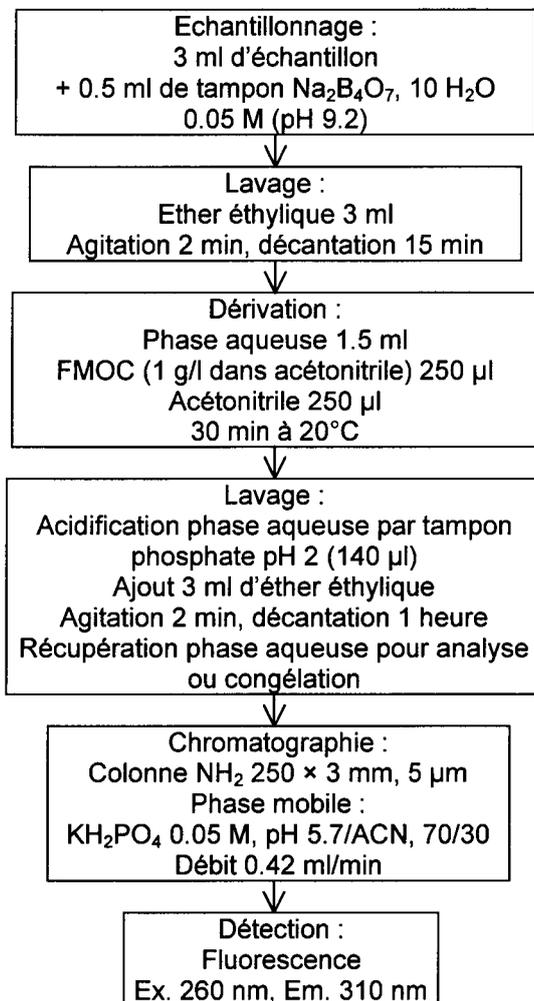


Fig. n° 2 : Protocole d'analyse du glyphosate et de l'AMPA dans l'eau.
Méthode au FMOG

Le point critique de ce protocole d'analyse est l'étape de lavage pré-dérivation dont l'utilité est illustrée par le tableau 1.

La pente de la droite d'étalonnage couramment déterminé dans de l'eau purifiée (exempte de matières organiques et minérales) est proche 10^6 pour un recouvrement de 100%. Si nous analysons une eau de réseau sans lavage pré-dérivation, la pente est divisée par deux. Par contre, si nous procédons à ce lavage la pente retrouve une valeur proche 10^6 .

Nature de l'échantillon	Lavage à l'éther	Pente	Recouvrement (%)
Eau purifiée	Non	1099856	100
Eau de réseau	Non	496771	45
Eau de réseau	Oui	892332	82
Eau de réseau	Oui	961443	88
Eau de réseau	Oui	1040989	95
Eau de réseau	Oui	953449	87

Tableau n° 1 : Effet de la matrice organique et du lavage pré-dérivation

Grâce au lavage pré-dérivation, à fortiori dans les eaux naturelles, nous obtenons des chromatogrammes très exploitables, même à des valeurs de concentrations inférieures à la limite de qualité des eaux destinées à la consommation humaine (figure 3).

Pour analyser l'AMPA par cette méthode, il a fallu introduire un lavage post-dérivation puisque le temps de rétention de l'AMPA correspondait à la fin du temps de rétention du FMOG. Les conditions de pH de la phase aqueuse du milieu post-dérivation ont donc été optimisées pour éliminer l'excès de FMOG tout en préservant le glyphosate et l'AMPA dérivés.

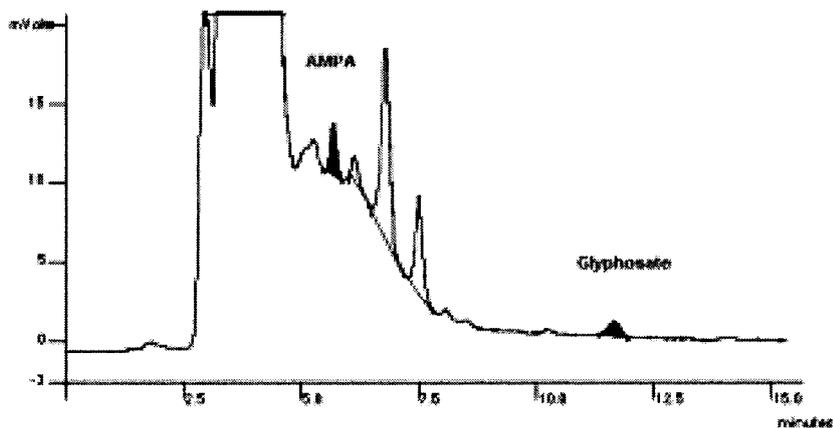


Fig. n° 3 : Chromatogramme de glyphosate (0.07 µg/l) et AMPA (0.08 µg/l) dans une eau naturelle, obtenu après lavage pré-dérivation et lavage post-dérivation

En plus des matières organiques, nous avons constaté des effets d'ions sur la spécificité de la méthode.

Les pentes obtenues sont différentes selon les caractéristiques minérales des eaux. La pente la plus faible est obtenue pour une eau d'Evian (TH = 29.4 dgF), la pente la plus forte est obtenue pour une eau purifiée. Les pentes intermédiaires correspondent à une eau de réseau et l'eau de Volvic (TH = 5 dgF) (figure 4).

Nous supposons donc que c'est la concentration en ions Ca, Mg qui provoque notre problème de spécificité.

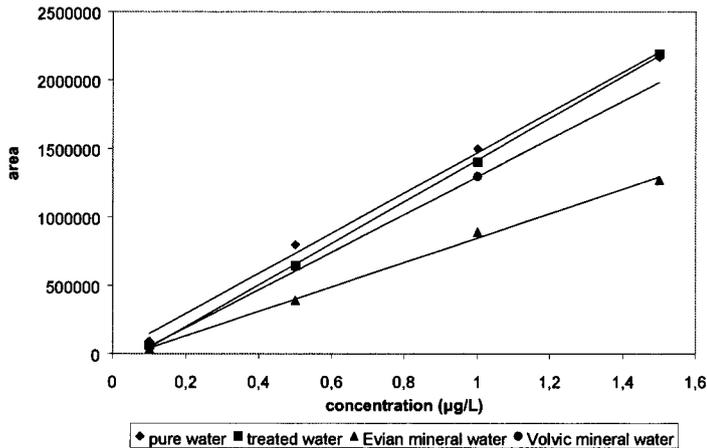


Fig. n° 4 : Effet de la matrice minérale

Pour s'affranchir de cet effet de matrice nous avons choisi d'effectuer les analyses par ajouts dosés et nous avons validé la méthode selon la norme XPT-90 210.

La méthode est linéaire sur la gamme 0.10 – 2.00 µg/l avec un coefficient de variation inférieur à 20%.

Les limites de détection et de quantification sont respectivement de 0.04 µg/l et 0.06 µg/l pour le glyphosate, 0.01 µg/l et 0.04 µg/l pour l'AMPA. La spécificité de la méthode est résolue par la méthode des ajouts dosés.

2. Méthode alternative

La deuxième partie de notre travail a consisté à développer une méthode de confirmation, et nous avons focalisé nos efforts sur la fonction amine du glyphosate et de l'AMPA, potentiellement réactive par attaque du doublet libre de l'azote sur le site vacant du carbocation [4,5,6,7] (figure 5).

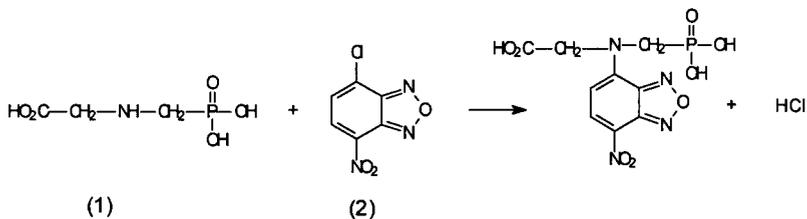


Fig. n° 5 : Substitution nucléophile aromatique du glyphosate (1) avec l'AMPA (2)

Le protocole analytique est décrit en figure 6.

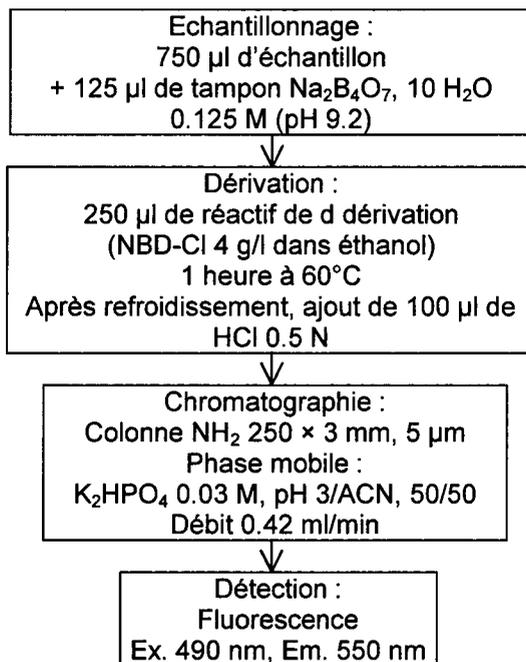


Fig. n° 6 : Protocole d'analyse du glyphosate et de l'AMPA dans l'eau. Méthode au NBD-Cl

Notons que la prise d'essai d'échantillon nécessite un minimum de volume mais doit être alcalinisée avec un tampon borate pour favoriser la réaction de dérivation à 60°C ; ajoutons qu'il faut acidifier le milieu réactionnel pour terminer la dérivation afin d'éviter la production de dérivés secondaires.

Pour optimiser la dérivation au NBD-Cl et obtenir les meilleures conditions chromatographiques, nous avons synthétisé et isolé le produit de dérivation. Les pics chromatographiques obtenus avec le produit synthétique pur ont donc été comparés aux pics obtenus par dérivation *in situ*.

Cette démarche a facilité l'obtention d'un rendement optimal de dérivation *in situ* en étudiant séparément le pH, la concentration en NBD-Cl, le temps et la température de dérivation.

Le point critique a été de déterminer le pH optimum et la concentration en tampon borate adéquate nécessaire à neutraliser la libération de l'acide engendré lors de la réaction. La figure 7 montre que la dérivation est proche de 100% pour une réaction d'une heure à 60°C, avec un tampon borate à 0.125 M.

Pour vérifier l'efficacité de nos conditions ainsi déterminées, nous avons préparé des échantillons d'eau pure dopée par du glyphosate et d'autres échantillons d'eau pure dopée par du glyphosate dérivé de synthèse.

Les comparaisons ont été effectuées en déterminant le facteur de réponse obtenu en analyse (représentant le rapport de l'aire des pics (u.a.)/quantité de glyphosate injecté). Le facteur moyen obtenu pour les échantillons dopés par du glyphosate est proche de 2.2×10^6 u.a./ng ; celui obtenu pour les échantillons dopés par du glyphosate de synthèse est proche de 2.3×10^6 u.a./ng. Le coefficient de variation obtenu est proche de 6%.

Cela montre que la dérivation *in situ* est réalisée efficacement dans les conditions requises.

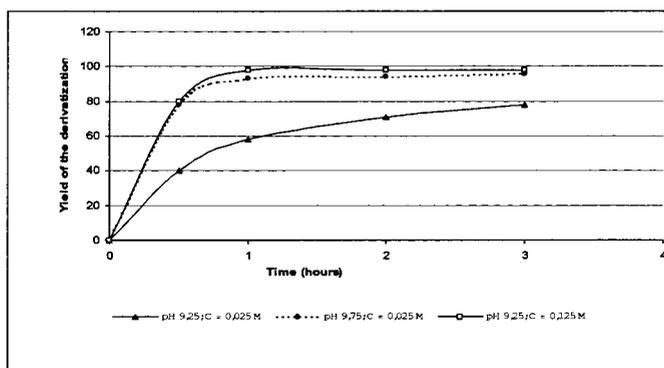


Fig. n° 7 : Optimisation de la concentration en tampon borate et du pH

Par ailleurs, nous avons optimisé les conditions de séparation (voir chromatogramme présenté en figure 8). Ainsi, par rapport à la méthode au FMOC, la phase mobile a été modifiée :

La proportion de phase aqueuse dans la phase mobile a été diminuée pour réduire le temps de rétention du glyphosate (comportement de type phase inverse).

Le KH_2PO_4 a été remplacé par le K_2HPO_4 . Cela a permis, pour une même concentration en tampon, d'augmenter la force ionique de la phase mobile et par conséquent d'augmenter sa force éluante (comportement de type échange d'ions).

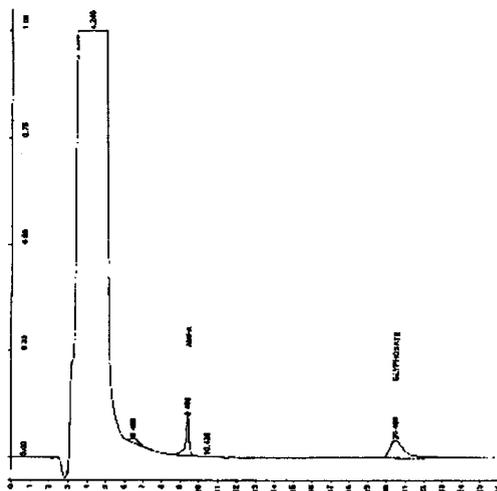


Fig. n° 8 : Chromatogramme de glyphosate 17 µg/l et AMPA 0.8 µg/l dans l'eau purifiée

Conclusion

Notre laboratoire dispose d'une méthode de routine validée et largement éprouvée pour analyser le glyphosate et l'AMPA, à des teneurs inférieures à 0.10 µg/l, sans étape d'extraction ou de purification.

Cette méthode donne de meilleurs résultats que la méthode au NBD-Cl. En effet, la comparaison FMOC/NBD-Cl nous fournit un rapport de réponse proche de 10 en faveur de la méthode FMOC pour le glyphosate et un rapport de réponse proche de 2.5 en faveur de la méthode FMOC pour l'AMPA.

Cela implique que la méthode au NBD-Cl est envisageable seulement après pré-concentration.

Bibliographie

1. Sancho, J.V.; Hernandez, F.; Lopez, F.J.; Hogendoorn, E.A.; Dijkman, E.; Van Zoonen, P., *J. Chromatogr. A*, 1996, 737, 75-83.
2. Gausch, R.; Leuenberger, U.; Muller, U., *Z. Lebensm Unters Forsch*, 1989, 188, 36-38.
3. Miles, C.J.; Wallace, L.R.; Moye, H.A, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1986, 69, 458-461.

4. Junichi, G., In: *Detection Oriented Derivatization Techniques in Liquid Chromatography*, Lingeman, H.; Underberg, W.J.M., Ed. *Chromatographic Science Series 48*, New York, 1990, Chapter 9, 323-358 (and references therein).
5. Haugland, R.P., *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Molecular Probes*, Europe BV, Leiden, The Netherlands, 1996, Chapter 1.8, 39-45 (and references therein).
6. Yamaguchi, M; Ishida J., In: *Modern Derivatization Methods for Separation Sciences*, Toshimasa Toyo'oka, Ed. John Wiley & Sons Ltd., 1999, Chapter 3, 99-165 (and references therein).
7. Cochrane, W.P.; Cohen H.; Greenhalgh R.; Lanouette M., *Abstracts of the 5th International Congress of Pesticide Chemistry (IUPAC)*, VII, C-11, 1982.

Mise au point et validation d'une méthode d'analyse multirésidus de pesticides sur substrats d'origine végétale

1. Présentation du laboratoire DEFITRACES

Le laboratoire dans lequel cette méthode a été développée est

DEFITRACES
150 rue pré-magne
69126 Brindas (France)

Ce laboratoire créé en février 1992 par Mr ANDING, aujourd'hui encore son directeur, a immédiatement orienté son activité vers la détermination de résidus de pesticides dans les végétaux. Le deuxième objectif majeur de cette structure était également d'obtenir la conformité de Bonnes pratiques de Laboratoire en moins d'un an. Elle a brillamment réussi dans cet objectif de qualité puisque depuis le 15 février 1993 ce label « BPL » n'a jamais été remis en cause.

Les principaux clients ont été et sont encore de grands groupes fabricants de produits phytosanitaires désireux de réaliser des dossiers d'homologation. De ce fait les analyses majoritairement confiées à DEFITRACES consistent en la détermination d'une matière active (et éventuellement d'un métabolite) sur une matrice végétale (« études monorésidus de pesticides »).

Depuis quelques années les objectifs de cette structure se sont orientés vers l'analyse multirésidus de pesticides sur des substrats d'origine végétale. Afin de finaliser mon cursus en formation continue au CNAM, à travers un mémoire, j'ai été amené à développer et valider cette méthode multirésidus dont je vous décrit le résumé ci-dessous.

2. Validation d'une méthode multirésidus de pesticides

2.1 Généralités

Une méthode d'analyse multirésidus de pesticides se doit d'être la plus générale possible et adaptable à un maximum de substances actives. L'objectif d'une telle méthode est régulièrement de pouvoir quantifier les résidus de pesticides à hauteur des limites maximales résiduelles (LMR) autorisées. Le manque de sélectivité de ce genre de méthode comparativement aux méthodes spécifiques ne permet pas généralement d'atteindre des niveaux de limites de quantification inférieur à 0.050 mg/Kg.

De plus l'étude bibliographique menée sur ce sujet a mis en évidence une difficulté majeure : réussir le dosage en une seule et même méthode des pesticides appartenant à des familles chimiques différentes.

De ce fait toutes les méthodes multirésidus sont décrites pour une famille chimique ou un ensemble de famille chimiques.

Il est donc impératif de définir concrètement les objectifs précis de la méthode avant d'envisager son développement et sa validation. Dans le cadre de notre laboratoire nous nous sommes intéressés à la liste des substances actives décrites dans la Pharmacopée Européenne. Cette liste est essentiellement composée par des pesticides de la famille des organohalogénés, des organophosphorés, des dithiocarbamates et des pyréthrinoides.

2.2 Listes des pesticides sélectionnés

Pour la validation de notre méthode d'analyse nous avons cherché à quantifier les résidus d'une cinquantaine de pesticides de la famille des organo-alogénés, des organophosphorés, des organo-zotés, des phtalimides et des pyréthrinoides sur la tomate. Ce substrat correspond à un cas simple compte tenu de la quantité en eau naturelle contenue par cette matrice (95 % eau dans les tomates).

LISTE DES 54 SUBSTANCES ACTIVES SELECTIONNEES POUR LA VALIDATION

MATIERES ACTIVES	PHAR MAC OPEE EURO PEEN NE	MATIERES ACTIVES	PHAR MAC OPEE EURO PEEN NE	MATIERES ACTIVES	PHAR MAC OPEE EURO PEEN NE
DICHLORVOS **	X	DICHOFLUANIDE*		ENDOSULFAN-béta*	X
ETHOPROPHOS**		ALDRINE*	X	2-4'DDT*	X
Alpha-HCH*	X	MALATHION**	X	4-4'DDD*	X
HEXACHLORO BENZENE*	X	CHLOPYRIPHOS**	X	ETHION**	X
DIMETHOATE**		FENTHION**		ENDRINE ALDEHYDE*	
QUINTOZENE*	X	PARATHION ETHYL**	X	CARBOPHENOTHION**	
Delta-HCH*	X	PIRIMIPHOS ETHYL**	X	ENDOSULFAN SULFATE*	X
Beta-HCH*	X	HEPTACHLOR EPOXYDE*	X	4-4'DDT*	X
FONOFOS**	X	TOLYLFLUANIDE*		CAPTAFOL*	
DIAZINON**	X	CHLORFENVINPHOS**	X	PHOSMET**	
LINDANE (Gamma-HCH)*	X	CAPTAN*		IPRODIONE*	
CHOLRPYRIPHOS METHYL**	X	FOLPET*		BROMOPROPYLATE*	X
HEPTACHLOR*	X	METHIDATHION**	X	PHOSALONE**	X
VINCHLOZOLINE*		ENDOSULFAN-alpha*	X	AZINPHOS METHYL**	X
PARATHION METHYL**	X	CHLORDANE*	X	PERMETHRINE ^{oo}	X
ALACHLOR*	X	DIELDRINE*	X	CYPERMETHRINE ^{oo}	X
FENCHLORPHOS**		4-4'DDE*	X	FENVALERATE ^{oo}	X
PIRIMIPHOS METHYL**	X	ENDRINE*	X	DELTAMETHRINE ^{oo}	X

(*) 30 ORGANOHALOGENES ET/OU ORGANOAZOTES, (**) 20 ORGANOPHOSPHORES, ET (^{oo}) 4 PYRETHRINOIDES DE SYNTHÈSE

2.3 Schéma descriptif de la méthode validée

Une étude bibliographique préalable a permis de mettre en évidence un schéma de méthode d'analyse très souvent employé. C'est d'ailleurs sur ce modèle qu'a été construit la méthode multirésidus S19. Cette méthode applicable à 400 matières actives est une des plus générale qui soit validée à ce jour. Le schéma de la méthode d'analyse que nous avons validé est le suivant :

Prise d'essai (PE) en Kg variable suivant le substrat.
Extraction par un mélange eau/acétone (rapport constant 100/200).



Partage liquide-liquide entre l'eau, l'acétone, et un mélange de cyclohexane/acétate d'éthyle (50/50).
Evaporation (température < 32°C) et dissolution dans un volume exact, VR1, du mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (50/50) = Extrait A.



Purification d'une partie aliquote, VR2, de l'extrait A par perméation de gel. Utiliser le mélange cyclohexane/acétate d'éthyle (50/50) à un débit de 5 mL/min.
Evaporation et dissolution dans 5 mL du mélange acétonitrile/toluène (75/25) = Extrait B.



Purification de l'extrait B sur colonne chromatographique ENVI-CARB (2 g) avec 100 mL du mélange éluant Acétonitrile/toluène (75/25).
Evaporation et dissolution dans un volume exact, VR3, d'acétone = Extrait C.



Analyse et quantification en mg/L (C mg/L) d'un échantillon de l'extrait C par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Trappe d'ions, MSD).

Les résidus en mg/Kg (C mg/Kg) présents dans le substrat seront déterminés à partir de la formule de calcul suivante :

$$C \text{ mg/Kg} = \frac{C \text{ mg/L} * VR3 * VR1}{PE * VR2}$$

2.4 Résultats de la validation de méthode sur la tomate

Afin de valider notre méthode d'analyse nous avons analysé plusieurs échantillons. Deux fois un échantillon non traité, quatre fois l'échantillon non traité chargé 20 µg/Kg (0.020 mg/Kg) en chacune des 54 substances actives et enfin quatre fois l'échantillon non traité chargé 200 µg/Kg (0.20 mg/Kg) en chacune des 54 substances actives.

Les résultats d'analyses obtenus sont présentés ci-dessous.

Teneur de charge MATIERE ACTIVE	% de récupération, teneurs de charge en mg/Kg, moyennes et écarts types										LMR
	0,020 (4)	0,020 (5)	0,020 (6)	0,020 (7)	Moyenne et écart type	0,20 (8)	0,20 (9)	0,20 (10)	0,20 (11)	Moyenne et écart type	
DICHLORVOS	101	104	105	106	104±2	99	108	101	95	101±5	0,10
ETHOPROPHOS	107	111	113	108	110±2	107	106	92	96	100±7	0,010
Alpha-HCH	106	94	79	84	91±12	75	99	86	77	84±11	ND
HEXACHLORO BENZENE	90	83	60	72	76±11	81	85	70	72	77±6	1,0
DIMETHOATE	/	/	/	/	/	94	109	108	101	103±7	1,0
QUINTOZENE	110	88	70	103	93±17	86	88	81	82	84±3	ND
Delta-HCH	109	99	78	84	93±12	89	90	81	76	84±7	ND
Beta-HCH	108	84	65	94	88±18	86	94	80	75	84±8	ND
FONOFOS	102	84	70	83	85±13	87	93	79	78	84±6	ND
DIAZINON	104	86	90	88	92±8	83	96	81	83	86±7	0,020
LINDANE (Gamma-HCH)	108	110	110	117	111±4	108	106	102	100	104±4	0,050
CHOLRPYRIPHO S METHYL	110	93	99	94	99±8	93	100	89	88	93±5	0,50
HEPTACHLOR	103	80	67	81	83±15	86	85	78	80	82±4	0,010
VINCHLOZOLINE	101	86	90	85	91±6	87	97	83	78	86±8	3,0
PARATHION METHYL	104	107	110	106	107±3	87	94	81	81	86±6	0,20
ALACHLOR	103	87	81	87	90±9	89	94	84	84	88±5	ND
FENCHLORPHO S	107	85	95	86	93±10	93	101	89	87	93±6	0,010
PIRIMIPHOS METHYL	110	82	84	87	91±13	88	93	86	80	87±5	0,050
DICHLORFLUANID E	111	109	101	103	106±5	98	105	92	91	97±6	5,0
ALDRINE	99	77	63	82	80±15	84	80	79	77	80±3	0,010
MALATHION	109	101	109	105	88±16	91	102	90	91	94±6	3,00
CHLOPYRIPHOS	110	84	74	82	76±10	86	94	82	81	86±5	0,50
FENTHION	90	75	67	72	107±4	72	90	82	73	79±8	0,02
PARATHION	110	104	111	104	80±11	88	89	81	79	84±5	0,50
PIRIMIPHOS ETHYL	95	71	83	70	97±10	85	93	80	75	83±8	0,010
HEPTACHLOR EPOXYDE	96	77	67	78	104±2	88	94	78	80	85±7	0,010
TOLYLFLUANIDE	109	99	84	95	104±2	90	98	86	89	91±5	ND

ND : Non Défini

/, / : Hors tolérances

Résultats de l'expérimentation (suite)

Teneur de charge MATIERE ACTIVE	% de récupération, teneurs de charge en mg/Kg, moyennes et écarts types										
	0,020 (4)	0,020 (5)	0,020 (6)	0,020 (7)	Moyen ne et écart type	0,20 (8)	0,20 (9)	0,20 (10)	0,20 (11)	Moyen ne et écart type	LMR
CHLORFENVINPHOS	111	109	111	110	110±1	90	96	90	89	91±3	ND
CAPTAN	111	85	112	87	99±15	92	92	87	87	90±3	3,0
FOLPET	109	103	110	96	105±6	89	92	85	85	88±3	3,0
METHIDATHION	110	107	115	111	111±3	93	104	92	93	96±7	0,020
ENDOSULFAN-alpha	99	70	68	65	76±14	96	89	75	75	84±11	0,050
CHLORDANE	108	78	62	65	78±21	89	91	77	76	83±8	0,10
DIELDRINE	91	69	71	79	78±9	82	88	80	83	83±3	0,010
4-4'DDE	89	69	64	72	74±11	85	87	79	79	83±4	0,050
ENDRINE	93	82	62	91	82±14	77	86	80	83	82±3	0,010
ENDOSULFAN-beta	91	77	63	86	79±12	87	93	84	81	86±5	0,050
2-4'DDT	64	70	60	72	67±6	88	90	85	81	86±4	0,050
4-4'DDD	102	79	76	81	85±12	89	90	81	84	86±4	0,050
ETHION	99	81	71	85	84±12	86	88	83	82	85±3	0,10
ENDRINE ALDEHYDE	44	18	6	32	/	31	44	50	51	/	ND
CARBOPHENOTHION	95	83	88	82	87±5	87	88	82	81	85±3	ND
ENDOSULFAN SULFATE	102	108	69	85	91±15	89	104	94	95	96±6	0,050
4-4'DDT	98	80	63	81	81±12	89	89	79	84	85±4	0,050
CAPTAFOL	/	/	/	/	/	117	142	123	137	/	0,020
PHOSMET	173	143	140	140	/	87	102	92	99	95±7	ND
IPRODIONE	182	154	210	160	/	95	103	92	99	97±5	5,0
BROMOPROPYLATE	109	91	72	93	91±15	86	87	82	82	84±3	1,0
PHOSALONE	105	104	111	101	105±4	92	97	87	93	92±4	1,0
AZINPHOS METHYL	185	157	160	161	/	85	104	91	101	95±9	0,50
PERMETHRINE	84	99	83	88	89±7	85	82	79	84	83±3	0,50
CYPERMETHRINE	96	117	88	81	96±16	97	76	87	97	89±10	0,50
FENVALERATE	95	119	100	95	102±11	78	94	75	77	81±9	1,0
DELTAMETHRINE	112	105	112	110	110±3	82	83	81	81	82±1	0,20

ND : Non Défini

/, / : Hors tolérances

2.5 Résultats de la validation de méthode sur divers substrats

	% de récupération pour chaque extrait chargé						
	DEF 9-364/4 (poire)	DEF 9-364/5 (poire)		DEF 9-382/3 (laitue)		DEF 9-006/2 (blé)	
Teneur de charge	0,20	0,20	LMR	0,20	LMR	0,50	LMR
MATIERE ACTIVE							
DICHLORVOS	/	/	0,10	/	0,10	/	2,0
ETHOPROPHOS	107	91	ND	109	0,010	110	ND
Alpha-HCH	94	97	1,0	99	ND	93	0,020
HEXACHLORO BENZENE	94	69	1,0	83	0,050	/	ND
DIMETHOATE	110	88	1,0	88	1,0	105	ND
QUINTOZENE	108	110	ND	109	0,050	90	ND
Delta-HCH	93	93	1,0	93	ND	79	0,020
Beta-HCH	93	101	1,0	100	ND	88	0,020
FONOFOS	85	97	ND	94	ND	81	ND
DIAZINON	92	105	0,50	100	0,020	87	ND
LINDANE (Gamma-HCH)	110	108	1,0	109	2,0	97	0,10
CHOLRPYRIPHOS METHYL	93	104	0,50	103	0,050	74	2,0
HEPTACHLOR	83	94	0,010	95	0,010	80	0,010
VINCHLOZOLINE	86	97	1,0	95	5,0	80	0,050
PARATHION METHYL	96	104	0,20	96	0,20	89	0,050
ALACHLOR	90	100	ND	96	ND	83	ND
FENCHLORPHOS	92	100	0,010	99	0,010	85	ND
PIRIMIPHOS METHYL	83	94	0,050	95	0,050	84	5,0
DICHLIFLUANIDE	93	104	5,0	96	10,0	75	ND
ALDRINE	83	91	0,010	93	0,010	77	0,010
MALATHION	98	106	0,50	101	3,0	91	8,0
CHLOPYRIPHOS	87	96	0,50	96	0,050	79	0,20
FENTHION	85	88	1,0	75	0,020	77	ND
PARATHION	91	96	0,50	90	0,50	85	ND
PIRIMIPHOS ETHYL	86	96	0,010	96	0,010	83	ND
HEPTACHLOR EPOXYDE	83	95	0,010	94	0,010	79	0,010
TOLYLFLUANIDE	92	102	2,0	96	ND	76	ND

Résultats de l'expérimentation (suite) POIRE, LAITUE, ET BLE

	% de récupération pour chaque extrait chargé						
	DEF 9-364/4 (poire)	DEF 9-364/5 (poire)		DEF 9-382/3 (laitue)		DEF 9-006/2 (blé)	
Teneur de charge	0,20	0,20	LMR	0,20	LMR	0,50	LMR
MATIERE ACTIVE							
CHLORFENVINPHOS	104	110	0,050	104	ND	97	0,50
CAPTAN	93	102	3,0	95	0,10	77	ND
FOLPET	102	107	3,0	102	2,0	92	ND
METHIDATHION	109	108	0,30	106	0,020	107	0,020
ENDOSULFAN-alpha	87	100	1,0	71	1,0	84	0,10
CHLORDANE	102	87	0,010	83	0,10	93	0,020
DIELDRINE	76	86	0,010	90	0,010	78	0,010
4-4'DDE	83	93	0,050	94	ND	78	0,050
ENDRINE	86	80	0,010	101	0,010	84	0,010
ENDOSULFAN-beta	102	108	1,0	104	1,0	95	0,10
2-4'DDT	88	98	0,050	99	0,050	83	0,050
4-4'DDD	86	97	0,050	99	ND	80	0,050
ETHION	92	102	0,50	101	0,10	87	0,20
ENDRINE ALDEHYDE	63	79	ND	54	ND	60	ND
CARBOPHENOTHION	94	103	ND	102	ND	97	ND
ENDOSULFAN SULFATE	99	113	1,0	109	1,0	92	0,10
4-4'DDT	87	98	0,050	98	ND	84	0,050
CAPTAFOL	146	101	0,020	105	0,020	128	0,050
PHOSMET	109	109	2,0	108	ND	74	ND
IPIODIONE	96	104	10,0	105	10,0	87	0,50
BROMOPROPYLATE	90	99	2,0	98	1,0	85	ND
PHOSALONE	94	107	2,0	104	1,0	/	ND
AZINPHOS METHYL	97	109	0,50	101	ND	96	ND
PERMETHRINE	90	100	0,50	101	2,0	96	ND
CYPERMETHRINE	94	106	1,0	104	2,0	106	2,0
FENVALERATE	88	103	1,0	100	0,050	97	0,050
DELTAMETHRINE	99	107	0,10	105	0,50	97	1,0

Conclusion

L'ensemble des résultats décrits ci-dessus sont représentatifs de l'efficacité de notre méthode. Celle-ci a été validée sur la tomate à des teneurs très faibles de l'ordre de 20 ppb et vérifiée sur la laitue, la poire et le blé à des teneurs de l'ordre de 200 à 500 ppb.

Compte tenu des nombreuses étapes de préparation cette méthode est délicate, longue, et difficilement rentable et applicable à des analyses de routine ou de contrôle. Cependant s'appuyant sur l'ensemble de ces résultats et sur les dernières méthodes multirésidus développées il est possible d'entrevoir des simplifications allant dans le sens d'une plus grande rapidité et rentabilité de la méthode.

En effet des appareils analytiques utilisant la spectrométrie de masse de second ordre, GC/MS/MS, permettent l'injection d'analytes de purification moyenne. De même de nouvelles techniques de préparation plus rapide, plus simple et moins consommatrices de solvants telles que l'extraction assistée par micro-ondes et accélérée par solvant sont des sources d'innovations à développer.

L'ensemble de ces réflexions est révélateur sur la nécessité de considérer une méthode multirésidus comme étant en permanence en évolution et en optimisation et ceci afin de continuellement répondre aux exigences des méthodes de contrôle.

Analyse de Résidus dans les Fraises par SPME

Cas des Pyréthrinoïdes ou des molécules très peu solubles dans l'eau.

*The analysis of residues in Strawberries by SPME.
The case of the pyrethroids or molecules with very low solubility in water.*

Astrid Sanusi, Louise Urruty, Jean Jaques Pommier* et Michel Montury

Université Bordeaux I CNRS - LPTCSN UMR 5472
Equipe Périgourdine de Chimie Appliquée
BP 1043, 24001 Périgueux Cedex.
tél. : +33 (0)5 53 35 24 29; FAX : +33 (0)5 53 35 02 58 80
e-mail: m.montury@epca.u-bordeaux.fr

*Centre Interrégional de Recherche et d'Expérimentation de la Fraise (CIREF)
Lanxade, 24130 Prigonrieux
e-mail : pommier@ciref.asso.fr

15, 16, 17 mai 2001

Résumé : Le couplage micro-ondes, SPME (micro-extraction en phase solide) et GC/MS a été récemment proposé pour développer une méthode permettant la détermination de résidus de pesticides dans les fraises. Cependant, certaines molécules très peu solubles dans l'eau, comme les pyréthrinoïdes, n'ont pas donné de résultats satisfaisants notamment en terme de linéarité et de limites de détection. L'utilisation d'un co-solvant organique, dans l'étape de préparation de l'échantillon, pour favoriser le transfert des résidus depuis les fraises vers la solution aqueuse d'extraction, permet d'améliorer notablement les résultats d'analyse.

Parmi les trois co-solvants ajoutés (méthanol, éthanol et acétonitrile) à différentes concentrations (0%, 10%, 30%, 50% et 100%), l'acétonitrile à 50 % donne les meilleurs résultats pour les pyréthrinoïdes étudiés.

La méthode d'analyse ainsi modifiée, permet d'analyser 5 pyréthrinoïdes (bifenthrine, λ -cyhalothrine, acrinathrine, alphaméthrine, deltaméthrine) avec des limites de détection (LOD) compris entre 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ et 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de fraise et des limites de quantifications (LOQ) qui restent inférieures aux limites maximales de résidus (LMR) indiquées par la législation.

Abstract : *The coupling of micro-wave, SPME (solid phase micro-extraction) and GC/MS (Gas Chromatography/Mass Spectrometry) constitutes a method that was recently developed for determining the pesticide multi-residues in strawberries. However, this method is not really suitable for molecules with very low solubility in the water as such as pyrethroids. The addition of an organic co-solvent favours the extraction and improves the results of analysis Three different co-solvents (methanol, ethanol and acetonitril) were*

respectively added, each of them at different concentrations (0%, 10%, 30%, 50% and 100%). Acetonitril at 50% gave the best results for the five pyrethroids studied.

The so modified method allowed us to analyse 5 pyrethroids (bifenthrin, λ -cyhalothrin, acrinathrin, alphamethrin and deltamethrin) with limits of detection (LOD) between 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of strawberries and limits of quantification (LOQ) inferior to the maximal limit of residues (MLR).

Mots-clés : Micro-ondes, SPME, co-solvant, pyréthrinoïdes, GC/MS, fraises

Keywords : microwave, SPME, co-solvent, pyrethroids, pesticide residues, strawberries

Introduction

Les fraises font partie des fruits et légumes qui sont cultivés sur une très courte période et consommés très rapidement juste après leur récolte et souvent sans lavage préalable. Les produits phytosanitaires nécessaires à leur culture dans des conditions économiques viables, entraînent un certain risque pour la présence de résidus au moment de la récolte de ces fruits.

Il en résulte un besoin urgent en méthodes d'analyse directes, simples, rapides et utilisables en routine pour répondre à la demande grandissante de contrôles, sans peser trop lourdement sur les prix de revient de la production.

Une première étude de notre Laboratoire a été publiée et a montré que le couplage SPME/GC/MS permettait d'analyser les résidus de 16 matières actives parmi les plus utilisées en fraisculture, avec des limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ), largement inférieures aux limites maximales résidus (LMR) acceptées par la réglementation européenne (Eisert *et al.*, 1997; Hu *et al.*, 1999). Une deuxième étude a montré que d'autres molécules, non analysables par GC parce que thermodégradables ou non vaporisables, pouvaient quand même être analysées dans des conditions comparables, en couplant la SPME avec la HPLC/DAD et en utilisant une interface de désorption permettant d'injecter dans la colonne chromatographique, à température ambiante, les analytes accumulés sur la sonde (Wang *et al.*, 2000 et Falqui-Cao *et al.*, 2001). Enfin, une troisième étude a prouvé expérimentalement qu'une irradiation micro-onde des échantillons de fraises, simplement immergés dans de l'eau pure, favorisait le transfert des résidus depuis le fruit vers la solution aqueuse et permettait une amélioration notable des performances de la méthode (Wang *et al.*, 2001).

Un certain nombre de molécules restaient néanmoins en dehors du champ d'application de la méthode, par suite, principalement, de leur trop faible solubilité dans l'eau.

L'objet de cette communication est de présenter les résultats obtenus au Laboratoire en ajoutant des co-solvants organiques, en différentes proportions, à la solution aqueuse d'extraction, afin de faciliter le transfert des analytes depuis les fraises vers la solution dans laquelle est réalisée la SPME. Avec de l'acétonitrile à la concentration de 50 % dans l'eau, les molécules de la famille des Pyréthrinoïdes

autorisées sur fraises, comme la bifenthrine, la λ -cyhalothrine, l'acrinathrine, l'alphaméthrine et la deltaméthrine, viennent compléter l'ensemble des matières actives analysables par cette méthode.

Partie expérimentale

Les trois principales étapes de ces analyses sont l'extraction des fraises, la SPME de la solution aqueuse en résultant et la détermination proprement dite des résidus par GC/MS.

L'extraction des fraises a été réalisée par broyage ou sous assistance micro-ondes.

Par broyage

25 g d'échantillon de fraises sont broyés à 13500 tr/min pendant 2 minutes et 10 mL de solvant (eau + co-solvant) sont ajoutés. L'ensemble est ensuite centrifugé à 20°C, 5000 tr/min pendant 20 minutes. Le surnageant est alors collecté et soumis à la SPME.

Par micro-ondes

25 g d'échantillon de fraises sont immergés dans 20 mL de solvant (eau + co-solvant), irradié par micro-ondes à 30 W pendant 5 minutes à l'aide d'un SOXWAVE MAP (PROLABO). La solution d'extraction ainsi obtenue est ensuite soumise à la SPME.

La SPME est réalisée par un passeur automatique COMBI PAL (CTC Analytics). La fibre PDMS 100 μ m (Supelco) est immergée dans 8 mL de surnageant (broyage) ou de la solution d'extraction (micro-ondes) pendant 30 minutes pour l'étape d'adsorption, puis injectée dans le GC/MS pour une étape de désorption de 3 minutes.

La séparation est faite par chromatographie en phase gazeuse (Trace GC 2000), Spectrométrie de masse POLARIS (Thermo Quest) avec une colonne DB-5MS (30m x 0,25 mm x 0,25 μ m) (J&W Scientific), le gaz vecteur (hélium) a un débit de 1,5 mL/min, l'injecteur est à 270°C et la température de l'interface à 250°C. La température initiale du four est maintenue à 50°C pendant 3 minutes, puis augmentée à 240°C avec une vitesse de 20°C/minute puis jusqu'à 250°C à 1°C/minute, puis jusqu'à 300°C à 10°C/minute et enfin, maintenue à cette température pendant 2 minutes avant de revenir à la température initiale. L'intégration des pics chromatographiques est effectuée en mode SIM à partir d'un ion spécifique pour chaque molécule.

Les courbes d'étalonnage ont été préparées à partir de fraises vierges de tout traitement, congelées, puis supplémentées avec la solution mélange des pyréthrinoides aux concentrations correspondant à chaque point.

Les solutions mères des matières actives ont été préparées dans le méthanol (qualité HPLC) à la concentration de 1000 mg/L. La solution mélange a été préparée à partir de ces solutions mères. Toutes les solutions sont conservées dans le réfrigérateur à 4°C.

Résultats et discussion

Co-solvant

Le choix du co-solvant entre méthanol, éthanol et acétonitrile, a été réalisé à partir de 4 pyréthriinoïdes (bifenthrine, λ -cyhalothrine, acrinathrine et deltaméthrine) qui ont constitué la base de ce travail. Les essais ont été réalisés à différentes concentrations (0%, 10%, 30%, 50%) de chacun des co-solvant dans l'eau, sur des fraises congelées et supplémentées par le mélange de 4 pyréthriinoïdes à la concentration 200 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, puis extraites sous assistance micro-ondes.

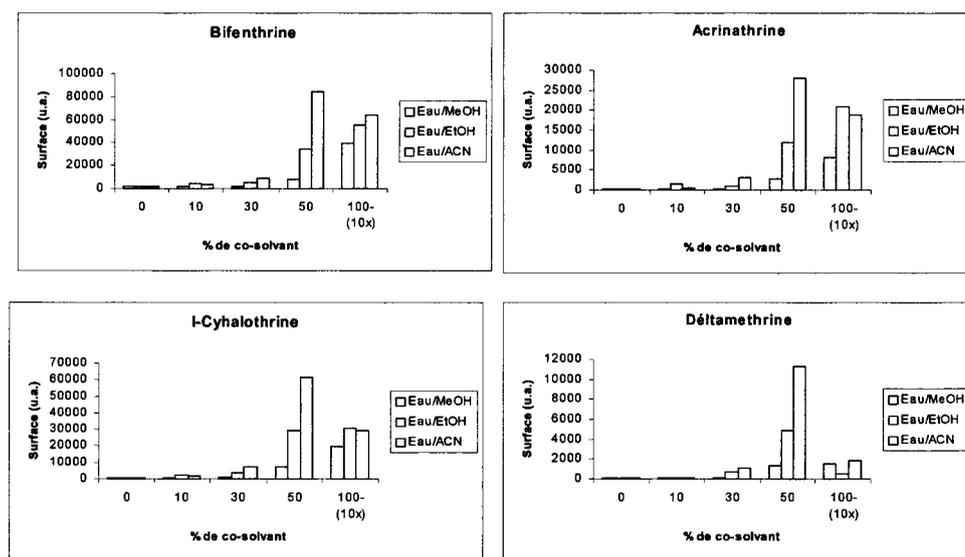


Fig. n° 1 : Résultats d'analyse de bifenthrine, λ -cyhalothrine, acrinathrine et deltaméthrine avec co-solvants méthanol, éthanol et acétonitrile à différentes concentrations (0%, 10%, 30%, 50% et 100% - (10x)).

Les résultats d'analyse indiqués dans la figure 1, mettent en évidence une plus grande sensibilité de la méthode dans les cas où un co-solvant est présent dans la solution d'extraction. On observe d'autre part, que parmi les trois co-solvants, l'acétonitrile à 50% donne les résultats les plus remarquables.

Si l'extraction est faite dans le solvant pur (100%), et que cet extrait est ensuite dilué 10 fois avec de l'eau avant la SPME et l'analyse par GC/MS, on constate une

plus faible efficacité d'extraction comparée à celle faite avec le mélange eau/co-solvant à 50%, et ceci pour les trois solvants sélectionnés.

Cette augmentation de l'efficacité d'extraction semble être liée à l'augmentation de la solubilité des pyréthrinoïdes dans la solution de par la présence du co-solvant organique, ce qui favorise le transfert des résidus entre les fraises et cette solution et augmente ainsi leur concentration dans le milieu où s'opère la SPME (Hernandez *et al.*, 2000).

Broyage/micro-ondes

Pour comparer les efficacités d'extraction par micro-ondes et par broyage en présence de co-solvant organique, nous avons analysé des fraises congelées et supplémentées à 200 µg/Kg avec le mélange des 4 pyréthrinoïdes et en utilisant les trois mêmes co-solvants (méthanol, éthanol et acétonitrile).

Chaque essai relatif à une concentration donnée d'un co-solvant, a été fait en double, un par broyage et l'autre par micro-ondes.

Les résultats obtenus avec les deux modes d'extraction avec chacun des 3 co-solvants, utilisé à 50% dans l'eau, sont présentés dans la figure 2.

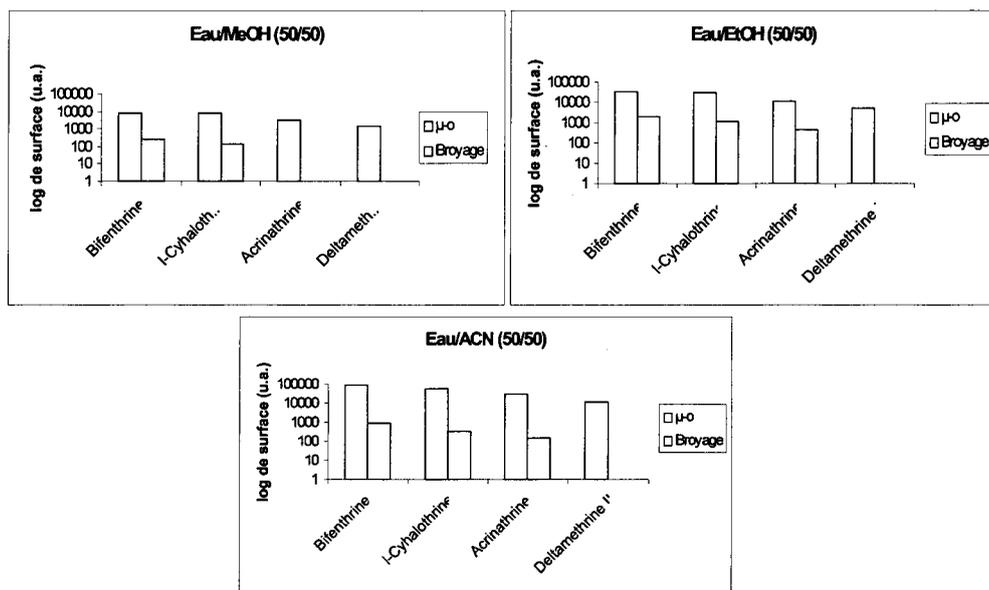


Fig. n° 2 : Histogrammes de comparaison entre la micro-ondes et broyage dans eaulméthanol 50/50 (v/v), eauléthanol 50/50 (v/v) et eaulacétonitrile 50/50 (v/v).

L'extraction par broyage dans l'eau/méthanol 50/50 ne donne de résultats que pour la bifenthrine et λ -cyhalothrine (figure 2a.). Dans deux autres cas (eau/éthanol 50/50 et eau/acétonitrile 50/50), la deltaméthrine extraite par broyage, n'a pas permis d'obtenir de signal (figure 2b et 2c).

D'après ces résultats, l'extraction en présence d'un des trois co-solvants étudiés s'avère plus efficace par micro-ondes que par broyage (Hernandez *et al.*, 2000). Ceci peut aussi s'expliquer par des effets de matrices possibles, à partir de substances endogènes de la fraise éventuellement libérées au cours du broyage alors qu'elles ne le seraient pas dans le cas de l'extraction par micro-ondes puisque les fraises restent entières.

Courbes d'étalonnage

Neuf échantillons supplémentés à des concentrations de 0, 2, 5, 10, 20, 40, 80, 140 et 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ont été préparés selon la méthode indiquée à partir d'une solution mélange contenant l'alpaméthrine en plus des 4 molécules déjà citées.

Les échantillons ont été ensuite extraits sous assistance micro-ondes et les solutions résultantes ont été analysés par SPME/GC/MS, à raison de 2 mesures par échantillon. Les courbes d'étalonnage ont été tracées à partir des moyennes entre ces 2 mesures avec la contrainte de passer par l'origine.

Les courbes obtenues pour les 5 pyréthriinoïdes sont des droites avec des coefficients de régression (r^2) variant entre 0,985 et 0,996 comme indiqué dans le Tableau 1.

Pesticides	tr	p	r^2	LOD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CV (%)
Bifenthrine	17,29	1078,8	0,9891	1	5	6,22
λ -Cyhalothrine	19,37	506,66	0,9923	3	14	8,57
Acrinathrine	19,84	194,94	0,9962	7	35	9,18
Alpaméthrine	24,31	190,8	0,9872	9	34	11,75
Deltaméthrine	27,05	69,47	0,9846	25	94	16,46

Tableau n° 1: Paramètres caractéristiques des courbes d'étalonnage: temps de rétention (tr), pente (p), coefficient de régression (r^2), limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) et répétabilité (CV)

Les LOD et LOQ, calculées à partir des valeurs minimales de concentrations pour lesquelles les signaux observés présentent des rapports S/N supérieur à 3 et 10, respectivement, montrent que la sensibilité de la méthode est largement suffisante pour répondre aux exigences des législations française ou européenne relatives aux fraises (LMR > 100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, en général).

Pour chaque pesticide, la répétabilité a été déterminée sur 7 mesures faites dans une même solution d'extraction obtenue sous assistance micro-ondes, à partir de fraises supplémentées à la concentration de 50 µg/Kg. Les coefficients de variation obtenus se situent entre 6 et 17 %, comme indiqué dans le tableau 1. La plus forte variation observée (17 %), pour la deltaméthrine, peut sans doute s'expliquer par l'existence de plusieurs diastéréoisomères dans la matière active utilisée, entraînant la multiplicité des pics chromatographiques obtenus, et par voie de conséquence, une plus grande incertitude des mesures au voisinage de la limite de détection.

Echantillon de terrain

Un test de validation de la méthode a été réalisé à partir d'un échantillon de terrain cultivé par le CIREF et analysé selon le protocole décrit ci-dessus. En cours de culture et à titre expérimental, sous serre, en hors sol, cet échantillon de fraise de la variété Garriguette, a été traité le 17 avril 2000 avec un mélange bifenthrine (30 g/ha) d'une part, et par de la deltaméthrine (12,5 g/ha) d'autre part. En observant les délais de 3 jours, la récolte des fruits a eu lieu le 5 mai 2000 et l'analyse de l'échantillon a permis de doser les résidus de bifenthrine et de deltaméthrine aux niveaux de 48 et 99 µg/Kg, respectivement, ce qui les places en dessous des LMR correspondants

Conclusion

L'utilisation des micro-ondes pour favoriser le transfert des résidus de pesticides entre les fraises et la solution d'extraction, préalablement au dosage proprement dit par SPME/GC/MS, permet de simplifier considérablement le protocole et d'augmenter la sensibilité de la méthode. Dans le cas des molécules de la famille des pyréthriinoïdes, elle permet en même temps de ne pas déstructurer les échantillons, et donc de limiter les effets de matrice dus aux substances endogènes contenues dans les broyats de fraises.

Néanmoins, l'addition d'un co-solvant organique comme l'acétonitrile, à 50% dans l'eau de la solution d'extraction, permet d'élargir l'utilisation de la méthodes à 5 molécules de la famille des pyréthriinoïdes, très peu solubles dans l'eau pure et dont le transfert depuis les fraises, est largement défavorisé. Les LOD et LOQ observées pour ces matières actives indispensables à la protection des plants de fraisiers, s'avèrent aux mêmes niveaux et en général inférieures aux LMR en vigueur pour les fruits, et en démontrent donc l'intérêt. L'extension de l'utilisation de cette méthode à d'autres molécules de la même famille mais utilisées sur d'autres végétaux (légumes), est actuellement réalisée au Laboratoire.

Références

- Eisert Ralf, Gorecki T. and Pawliszyn J., 1997, Pesticide analysis by solid-phase micro-extraction., *Am. Environ. Lab.*, **9**, p20-22.
- Falqui-Cao C., Wang Z., Urruty L., Pommier J. J. and Montury M., 2001, Focused Microwave Assistance for Extracting Some Pesticide Residues from Strawberries into Water before their Determination by SPME/HPLC/DAD , *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, soumis.
- Hernandez F., Beltran J., Lopez F. J. and Gaspar J. V., 2000, Use of Solid-Phase Micro-extraction for the Quantitative Determination of Herbicides in Soil and Water Samples., *Anal. Chem*, **72**, p 2313-2322.
- Hu R., Hennion B., Urruty L. and Montury M., 1999, Solid phase micro-extraction of pesticide residues from strawberries., *Food Additives and Contaminants*, **16**, p. 111-117.
- Wang Z., Bosq P., Hennion B., Urruty L. et Montury M., 1999, Apport des micro-ondes à l'analyse de résidus de pesticides par SPME dans les fraises., Actes du XXIX ème Congrès du Groupe Français des Pesticides, 17, 18, 19 Mai 1999, p 43-48.
- Wang Z., Hennion B., Urruty L. and Montury M., 2000, Solid-phase micro-extraction coupled with high performance liquid chromatography: a complementary technique to solid-phase micro-extraction-gas chromatography for the analysis of pesticide residues in strawberries., *Food Additives and Contaminants*, **17**, p 915-923.

Caractérisation d'un nouvel insecticide naturel d'origine végétale et ses produits de dégradation en environnement contrôlé

Characterization of a new natural insecticide and its degradation products in a controlled medium

Sami BARREK, Olivier PAISSE, Marie-Florence GRENIER-LOUSTALOT
Service Central d'Analyse – USR 059 – CNRS
BP 22
69390 VERNAISON

Résumé : Le travail que nous présentons est une étude du comportement physico-chimique d'un insecticide d'origine végétale connu sous le nom d' **AZADIRACHTIN indica A juss** dans des conditions environnementales données.

A partir d'un produit commercial pour lequel nous avons caractérisé les différentes espèces présentes dans le milieu par HPLC-MS et RMN¹³C, nous avons été amené à isoler le principe actif pur l'**AZADIRACHTIN A (AZ-A)** par chromatographie liquide semi-préparative. Les données obtenues nous ont permis d'identifier la structure du squelette carboné des différentes molécules présentes dans l'extrait de l'huile essentielle des graines de Neem.

L'étude du comportement physico-chimique du produit principal (AZ-A) dans des conditions précises de pH (2, 4, 6 et 8) de température (ambiante à 70°C) et de luminosité (UV, chambre noire et à la lumière du jour), nous ont amenés à déterminer les cinétiques de dégradation du produit (AZ-A) au cours du temps. L'étude de la stabilité thermique dans une gamme de température (ambiante < T < 70°C) nous a conduit à déterminer les énergies d'activation de cette molécule.

A partir d'un couplage par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS), nous avons identifié tous les produits de dégradation afin de proposer pour les différentes conditions de pH et de températures un schéma réactionnel de dégradation chimique de l'AZ-A.

Les données obtenues nous ont permis de mettre en évidence qu'à température ambiante pour un pH compris entre 4 et 5, le produit se dégrade sous deux formes préférentielles, qui au cours du temps et évolution du pH s'hydrolysent en un seul produit.

Abstract : *The physicochemical analysis of a natural commercial insecticide (AZADIRACHTIN) are done in different environmental conditions. The commercial product present different compounds isolated and identified by HPLC-MS and ¹³C liquid state NMR. We have studed the kinetic of degradation of the principal product (purity > 95%) in different environmental conditions like pH (2,4,6 and 8), temperature (ambient to 70°C) and luminosity (UV, blackroom and day light). The kinetic data in the temperature range allowed to propose a kineticmodel and the determination of activation energy of this molecule. Using HPLC-MS we have identified all the degradation product presents in the reaction products and proposed a mechanism of degradation for each set of conditions (pH and temperature).*

Introduction

Depuis quelques années l'utilisation intensive des pesticides en agriculture est montrée du doigt pour les risques qu'elle entraîne sur la santé publique et l'équilibre de l'environnement. Suite à la prise de conscience de ces différents problèmes, les recherches scientifiques se sont orientées vers une nouvelle génération de pesticides d'origine naturelle (extraits de végétaux). Ces derniers sont aisément dégradables par les micro-organismes et par voie chimique.

Dans le cadre de cette étude nous nous sommes intéressés dans un premier temps à la caractérisation d'un insecticide d'origine végétale (NeemAzal TS), puis à l'étude de cinétique de dégradation de l'Azadirachtin A (produit majoritaire) en fonction du pH, la température et de luminosité ainsi qu'à l'identification des produits de dégradation par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse.

1. Propriétés de l'Azadirachtin-A

L'huile extraite des graines de Neem (Azadirachtin indica A juss) a été le sujet de plusieurs travaux de recherches. En effet, depuis sa première isolation en 1968 par Morgan, E.D et Butterworth, J.H [2], les publications scientifiques ne cessent de montrer l'efficacité de l'azadirachtin en tant qu'insecticide [4,7,9,14]. L'application de ce produit, sur les larves, est la cause de leur mortalité à différents stades de leur développement, ainsi que de malformations (réduction de la longévité et de la fécondité chez les adultes etc...). Son effet sur les insectes se résume en trois points essentiels :

- Il bloque la sécrétion hormonale et arrête le développement morphogénétique de l'insecte.
- Il agit pratiquement sur tous les tissus de l'insecte (tissus musculaires, nerveux, glandulaires et sécrétoires) et en conséquence, l'insecte perd la coordination de ses mouvements et le contrôle de son corps.
- Il agit comme un agent anorexique : l'insecte ne mange plus et meurt.

Ces effets ont été observés chez plusieurs types de familles d'insectes : les lépidoptères (papillons), les diptères (mouches, taons, moustiques...), les orthoptères (sauterelles, criquets...) et les hyménoptères (abeilles, guêpes, fourmis). La dose létale (DL_{50}) (dose provoquant 50% de mortalité) varie selon les espèces de 1 à 4 μ g d'azadirachtin par gramme d'insecte [9].

Grâce à ces caractéristiques, l'exploitation industrielle des extraits de Neem est aujourd'hui devenue une réalité, avec l'apparition sur le marché de diverses formulations commerciales pour différentes applications possibles : protection des plantes, protection des réserves [1] La plupart des produits se présente sous forme de solutions émulsionnables parmi lesquelles on peut citer le Neem-Azal F, Neem-Azal T, Neem-Azal T/S. Toutes les formulations commercialisées n'indiquent

que la teneur en principe actif, l'azadirachtin A, qui est généralement accompagnée de six autres composés.

1.1 Présentation des différents produits présents dans les huiles essentielles

Les différents composés présents lors de l'extraction de l'huile essentielle des graines de Neem sont les suivants :

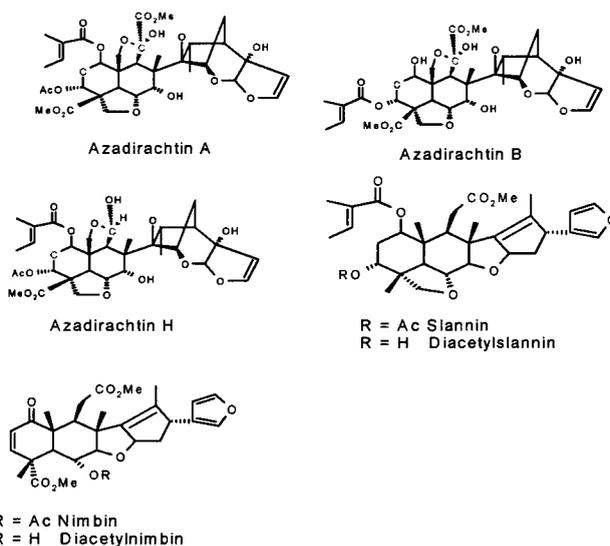


Fig. n° 1 : Présentation des différents produits présent dans l'huile essentielle

2. Techniques expérimentales

2.1 Procédure générale d'identification

Pour identifier et analyser un mélange aussi complexe, il a fallu en premier lieu utiliser des techniques de séparation et de purification, puis des techniques d'identification structurale.

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est une des techniques de séparation la plus utilisée sur les extraits de Neem. Les différentes molécules sont repérées et identifiées grâce à leur temps de rétention. Les conditions de séparation font appel à la chromatographie de partage à polarité de phase inversée, sur des colonnes de type Octadecylsilane (C₁₈) avec une détection par absorption dans l'ultraviolet [3-6,10-13,16-18].

Cette méthode est efficace pour séparer et analyser les composés dans l'huile extraite de Neem, cependant elle est insuffisante, à elle seule, pour bien séparer tous les composés dans les formulations d'insecticides, étant donné la complexité de ces dernières. Pour cela des procédures d'extractions liquide/liquide ont été utilisées pour récupérer l'huile de Neem [1,4,6,10] avant séparation.

D'autres techniques basées également sur la chromatographie liquide, comme la chromatographie flash [10] et la chromatographie préparative à haute pression [12,17,18] ont été utilisées, respectivement, pour séparer et purifier les différents composés présents.

Afin de pouvoir identifier les structures de ces composés deux techniques ont été mises en oeuvre, la résonance magnétique nucléaire (RMN) [8,12,15,16,19] et la spectrométrie de masse (MS) [15,16,20].

2.2 Etude de la dégradation en environnement contrôlé

L'étude de dégradation de l'azadirachtin-A a été effectuée à différentes conditions de pH, et de luminosité et de température.

2.2.1 Préparations des solutions

Pour cette étude, nous avons choisi de travailler à différentes valeurs de pH (2, 4, 6 et 8). L'azadirachtin est solubilisé dans une solution aqueuse dont le pH est ajusté par la suite à partir des solutions :

- D'acide phosphorique (pH = 2 ± 0.1)
- D'acide acétique (pH = 4 ± 0.1)
- D'acide acétique (pH = 6 ± 0.1)
- De carbonate de sodium (pH = 8 ± 0.1)

2.2.2 Etude du facteur température

L'étude de la disparition de l'azadirachtin-A en fonction de la température est réalisée à l'abri de la lumière (dans une chambre noire). Nous avons choisi d'étudier la dégradation à la température ambiante du laboratoire (valeur moyenne mesurée $23 \pm 2^\circ\text{C}$) et à (40 , 50 et 70°C). Les échantillons fraîchement préparés sont placés dans la chambre noire thermostatée à la valeur de température choisie.

Le suivi de la disparition de l'azadirachtin-A a été effectué par chromatographie liquide, la concentration de principe actif résiduel est déterminé par étalonnage externe.

2.2.3 Etude de la dégradation sous rayonnement UV

2.2.3.1 Dispositif d'irradiation

Ce dispositif est constitué d'une chambre d'exposition UV, où est installée une lampe à vapeur de Hg moyenne pression (Heraeus Noblelight).

2.2.3.2 Irradiation

Les échantillons fraîchement préparés sont placés dans la chambre d'exposition à 17 cm de la source d'émission. Afin d'éviter une élévation importante de la température de l'échantillon sous l'effet des radiations, ce dernier est refroidi constamment avec un flux d'air. Le suivi de la disparition du produit est réalisé par HPLC.

2.2.4 Identification des produits de dégradation

L'identification des différents produits formés au cours des traitements a été effectuée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (Appareil HP 1100 MSD).

3. Résultats

3.1 Identification

Afin d'identifier les composés isolés à partir de l'huile essentielle, nous avons utilisé deux techniques spectroscopiques d'analyse moléculaire (RMN et SM). Nous avons ainsi identifié les structures des molécules présentes dans les extraits de Neem (Figure 1) en nous basant, à la fois, sur les données spectrales que nous avons obtenues, et par les recherches bibliographiques concernant les travaux antérieurs [7, 8, 17-20].

3.2 Etude de la dégradation

3.2.1 Influence de la lumière

Afin d'étudier l'influence de la lumière sur la cinétique de dégradation de l'azadirachtin-A, nous avons réalisé trois expériences, une première à la température ambiante du laboratoire et à la lumière du jour, une deuxième sous irradiation UV et une troisième à l'obscurité. L'influence de ces trois mêmes paramètres sera étudiée pour les expériences à pH 4, 6 et 8.

Les résultats collectés au cours de ces essais sont les suivants :

t 1/2 (mn)	AL1	Lj2	UV3
pH 2	14032	14097	340
pH 4	141133	142413	1274
pH 6	188278	63360	1410
pH 8	75357	62053	1050

Tableau n° 1 : temps (mn) de demi-vie en fonction de la luminosité

3.2.2 Etudes cinétique et thermodynamique

Les courbes de disparition de l'azadirachtin-A en fonction du temps collectées par toutes les expériences ont une allure exponentielle. En ce basant sur ces données expérimentales, nous pouvons conclure que la vitesse de disparition de l'azadirachtin-A est du premier ordre (ordre apparent). Dans ces conditions l'équation de disparition peut s'écrire :

$$(Cr) = (C_0) \exp (-k_1 t) \quad (1)$$

ou

Cr : La concentration de l'azadirachtin A à l'instant t

C₀ : La concentration de l'azadirachtin A à l'instant t = 0

k₁ : La constante de vitesse apparente

A partir de L'équation (1) nous pouvons écrire

$$\ln(Cr) = -k_1 t + \ln(C_0) \quad (2)$$

A partir des données expérimentales où la constante de vitesse apparente (k₁) peut être déterminée graphiquement en traçant la courbe de variation de Ln(Cr) en fonction du temps, nous pouvons pour toutes les expériences décrites déterminer les constantes de vitesse présentées sur les tableaux 2 à 5 et les énergies d'activation (tableau 6).

k₁ à pH = 2

Température (K)	k ₁ (s ⁻¹)
313,15	1,00E-05
323,15	3,00E-05
343,15	1,00E-04

Tableau n° 2 : Valeurs de k₁ en fonction de la température

1 Etude de la disparition de l'azadirachtin-A à l'obscurité

2 Etude de la disparition de l'azadirachtin-A à la lumière du jour

3 Etude de la disparition de l'azadirachtin-A sous UV

k_1 à pH = 4

Température (K)	k_1 (s^{-1})
313,15	5,00E-07
323,15	1,00E-06
343,15	7,00E-06

Tableau n° 3 : Valeurs de k_1 en fonction de la température

k_1 à pH = 6

Température (K)	k_1 (s^{-1})
313,15	5,00E-07
323,15	4,00E-06
343,15	1,00E-05

Tableau n° 4 : Valeurs de k_1 en fonction de la température

k_1 à pH = 8

Température (K)	k_1 (s^{-1})
296,15	1,00E-07
323,15	1,00E-06
343,15	8,00E-06

Tableau n° 5 : Valeurs de k_1 en fonction de la température

A partir de ces données nous pouvons déterminer l'énergie d'activation qui est liée à la constante de vitesse par l'équation d'Arrhenius :

$$K = A e^{-E_a/RT} \quad (3)$$

pH	E_a (KJ)
2	66,9
4	79,9
6	83,4
8	77,7

Tableau n° 6 : Valeurs de E_a en fonction du pH

3.3 Analyse des produits de dégradation

On a pu détecter plusieurs produits de dégradation dans le mélange réactionnel. Suivant les conditions, mises au point pour la séparation nous avons identifié par le couplage LC-MS. A titre d'exemple nous avons présenté sur la figure 2 les différents chromatogrammes obtenus pour différents pH étudiés dans ce travail.

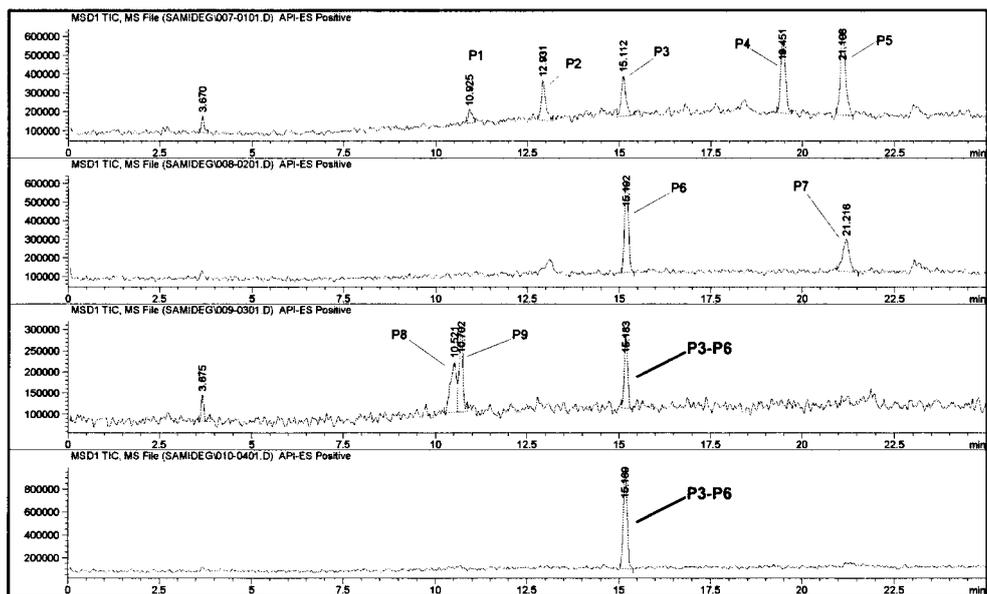
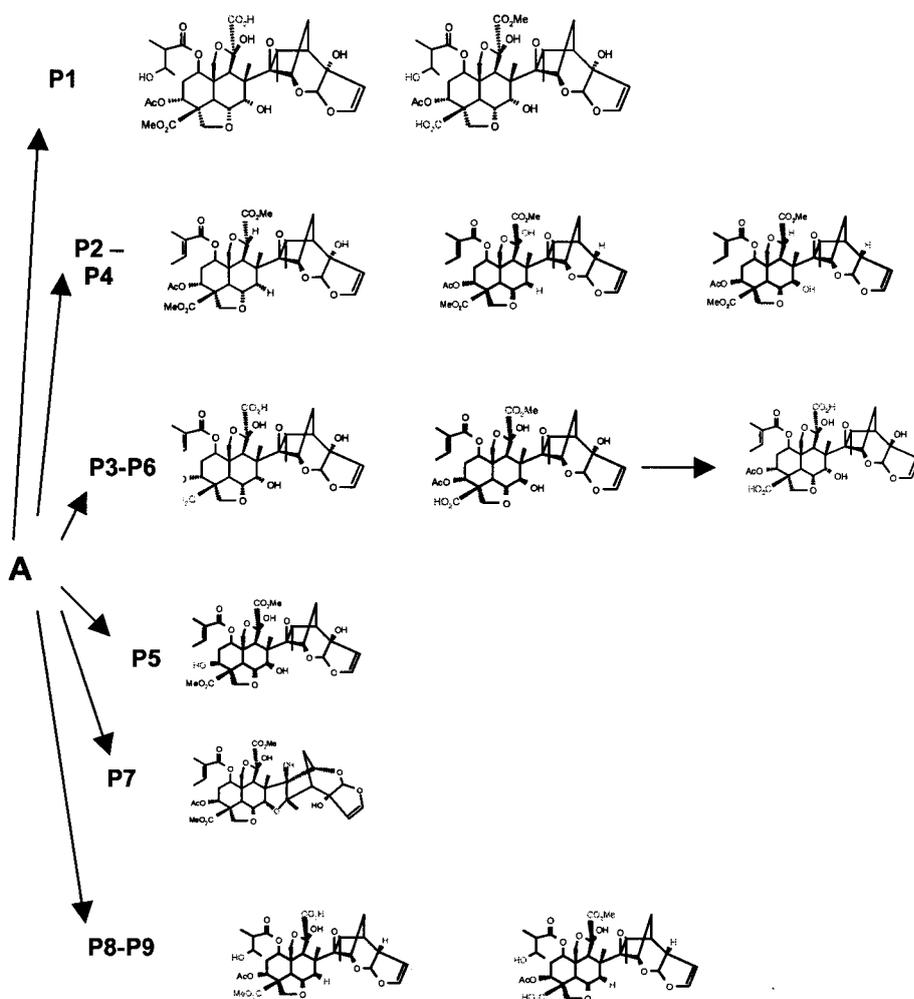


Fig. n° 2 : Chromatogrammes des différents produits de dégradation

3.3.1 Identification des produits de dégradation

A partir des spectres de masse, nous avons pu caractériser certains produits. Cependant étant donné les différents isomères possibles, il ne nous a pas été permis d'identifier les isomères de position avec le couplage HPLC-MS simple quadripôle. Un couplage par HPLC-MS-MS est en cours et devrait nous permettre de trancher sur l'un ou l'autre des isomères présents dans le mélange réactionnel.



Conclusions

Les données obtenues dans des conditions environnementales précises nous permettent de proposer pour ce pesticide quelques résultats importants tant au point de vue stabilité (thermique et luminosité) qu'au niveau du milieu (acidité) les conclusions suivantes :

- Le produit est plus stable dans la zone $4 < \text{pH} < 5$
- Les produits de dégradation sont différents suivant le pH indiquant un comportement spécifique suivant l'acidité du milieu.
- Le processus de dégradation est accéléré en présence de rayonnement ultra-violet

Références bibliographiques

- [1] : B .C. Schiffers, A. Dieye, P. Ntema, B. Dieye, G. Ekokole ; 1997, Analyse de l'azadirachtin par HPLC et développement d'une formulation d'extraits de Neem, Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent., 62 (2a), 225-233.
- [2] : Butterworth J. H, Morgan E. D ; 1968, Isolation of a substance that suppresses feeding in locusts. J. Chem. Soc., Chem. Commun, 23-24.
- [3] : Clifford J. Hull, Walter R. Dutton, Barbara S. Switzer, 1993, Quantification of azadirachtin in insecticidal formulations, J. of Chromatogr, 633, 300-304.
- [4] : Kanth M. S. Sundaram ; 1996, Azadirachtin Biopesticide, J. Environ. Sci. HEALTH, B31 (4), 913-948.
- [5] : K. M. S. Sundaram, J. Curry, 1993, High performance liquid chromatographic determination of azadirachtin, J. of liq. Chromatogr, 16 (15), 3275-3290.
- [6] : K. M. S. Sundaram, J. Curry, 1993, High performance liquid chromatographic method for the analysis of azadirachtin in two commercial formulations and Neem oil. J. Environ. Sci. Health, B28 (2), 221-241.
- [7] : Mattf. Ivbijaro, 1990, The efficacy of seed oils of azadirachta indica A ; Insect Sci. Applic, 11 (2), 149-152.
- [8] : M. Bokel, R. Cramer, H. Gutzeit, S. Reeb, W. Kraus, 1990, tetranortriterpenoids related to Nimbin and Nimbolide, Tetrahedron, 46 (3), 775-782.
- [9] : Mordue. A. J., Blackwell. A ; 1993, Azadirachtin : an Update. J. Insect Physiol., 39 (11), 903-924.
- [10] : R. Bryan Yamasaki, James A. Klocke, S. Mark Lee, Gregory A. Stone, Mark V. Darlington, 1986, isolation and purification of azadirachtin from Neem, J. of Chromatogr, 356, 220-226.
- [11] : R. Thejavathi, Shirish R. Yakkundi, B. Ravindranath ; 1995, Determination of azadirachtin by HPLC using anisole as internal standard, J of Chromatography A., 705, 374-379.
- [12] : Shaun Johnson, E. David Morgan ; 1997, Comparison of chromatographic systems for triterpenoids from Neem seeds, J of Chromatography A, 761, 53-63.
- [13] : Shaun Johnson, E. David Morgan, Ian D. Wilson, Manfred Spraul, Martin Hofmann, 1994, Photo-isomerisation of azadirachtin, J. Chem. Soc. Perkin Trans, 1, 1499-1502.
- [14] : S. N. H. Naqvi, S. O. Ahmed, F. A. Mohammad ; 1991, Toxicity and IGR effect of two new Neem products against. Pak, J of Pharma. Scie., 4 (1), 71-76.
- [15] : Steven V. Ley and all, 1989, insect antifeedants from Azadirachta indica, Tetrahedron, 45 (16), 5175-5192.
- [16] : T. R. Govindachari, G. Sandhya, S. P. Ganeshraj ; 1992, Structure of azadirachtin K a new tetranortriterpenoid from Azairachta indica, Indian Journal of Chemistry., 31B, 295-298.
- [17] : T. R. Govindachari, G. Suresh, G. Gopalakrishnan, 1995, A direct preparative high performance liquid chromatography procedure for the isolation of major triterpenoids and their quantitative determination in Neem oil, J. of Liq. Chromatogr, 18 (17), 3465-3471.

- [18]: T. R. Govindachari, G. Sandhya, S. P. Ganeshraj, 1990, Simple method for the isolation of azadirachtin by preparative high performance liquid chromatography, *J. of Chromatogr*, 513, 389-391.
- [19]: Tuticorin R Govindachari, G. Sandhya, S. P. Ganeshraj, 1992, Azadirachtin H and I, *J. of Natural Products*, 55 (5), 596-601
- [20]: Wolfgang Kraus, Michael Bokel ; 1981, Neue Tetranortriterpenoids aus *Melia azedarachtin*. *Chem. Ber.*, 114, 267-275.

Dégradation photocatalytique de l'insecticide-acaricide forméтанate

Photocatalytic degradation of pesticide-acaricide formetanate

C. GUILLARD⁽¹⁾, A.MARINAS⁽²⁾, J-M. MARINAS⁽²⁾, A.FERNANDEZ-ALBA⁽³⁾ and JM. HERRMANN⁽¹⁾

⁽¹⁾ Laboratoire de Photocatalyse, Catalyse et Environnement, IFOS (UMR CNRS), Ecole Centrale de Lyon
BP 163, 69131 Ecully- Cedex, France
e-mail: chantal.guillard@ec-lyon.fr

⁽²⁾ Departamento de Quimica. Facultad de Ciencias. Campus Universitario de Rabanales. Edificio C3
E-14004, Cordoba, Spain. Fax: (+34) 957212066

⁽³⁾ Pesticide Residue Research Group, Faculty of Sciences
University of Almeria
04071 Almería, Spain.

Résumé : La photocatalyse hétérogène est une méthode de plus en plus utilisée pour décontaminer des eaux polluées. Cette technique a l'avantage, d'une part de ne pas consommer d'agent chimique mais seulement d'utiliser un catalyseur bon marché, et non toxique et d'autre part, d'avoir la possibilité d'employer l'énergie solaire comme agent d'activation de la réaction.

Cette technique est utilisée pour dégrader le forméтанate (FMT), insecticide-acaricide grandement employé dans l'agriculture. La présence d'agents de formulation et d'acides humiques diminue sa cinétique de dégradation sans empêcher toutefois la totale minéralisation. La cinétique de dégradation est d'ordre ½. Cet ordre s'explique par l'adsorption dissociative du forméтанate sur le dioxyde de titane employé comme photocatalyseur. La minéralisation totale en CO₂ est atteinte en environ 2 heures. Dans tous les cas, le pourcentage d'ions ammonium détecté est supérieur à celui des ions nitrate.

Les analyses par LC/MS (réalisées avec une interface à pression atmosphérique (APCI et ES), et par utilisation de la technique d'extraction en phase solide), ont permis de mettre en évidence de nombreux métabolites intermédiaires et de dresser un mécanisme réactionnel de dégradation photocatalytique du forméтанate.

Abstract : *The photocatalytic degradation of formetanate (FMT) was studied using titania Degussa P-25 as a catalyst. The disappearance of formetanate was proved to follow a half-order kinetics. This implies that two active sites are involved in the adsorption of one molecule of formetanate (dissociative adsorption). In our conditions, complete mineralization of 20 ppm of pure formetanate occurred within 125 min of UV-radiation. The presence of (i) formulation agents and (ii) of humic acids seemed to have an inhibiting effect on the initial rate. In all cases, mineralization of FMT led to a greater percentage of ammonium than of*

nitrate. Photocatalysis proved to be an excellent new Advanced Oxidation Technology (AOT) to eliminate formetanate residues present in real surface and ground waters.

Mots clefs : Formétanate, photocatalyse, adsorption dissociative, pesticide, minéralisation, acides humiques.

Keywords : formetanate, photocatalysis, dissociative adsorption, photocatalytic degradation, pesticide, mineralization, humic acids.

Introduction

Le formétanate (3-diméthylaminométhylèneaminophényl méthylcarbamate (FMT), dont la formule est présentée figure 1, est un insecticide-acaricide grandement utilisé dans l'agriculture.

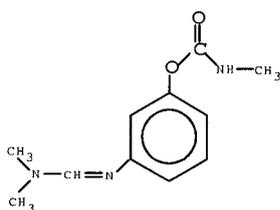


Fig. n° 1 : Formule développée du formétanate

Il est utilisé sous la forme de sel chloré pour lutter contre les araignées et d'autres insectes (Diptère, Hemiptera, Lepidoptera, Thysanoptera) se développant à la fois sur les plantes d'ornements, sur les fruits ou sur les légumes (Hu, R.W., 1996 ; Ong K.C., 1996 ; Day M.L., 1995 ; Grout T.G., 1997 ; Figuls M., 1999). Plusieurs études ont montré que ce composé inhibait la cholinestérase et présentait donc un caractère relativement toxique (Ferrari J.A., 1993 ; Pree D.J., 1992 ; Pree D.J., 2000 ; Escuriola M.J., 1999). Son analyse est habituellement faite après dérivation avec le paranitrophenol (Khalaf K.D., 1993 ; Garcia J.M., 1995 ; Khalaf K.D., 1996). Dans quelques publications, l'analyse a été directement effectuée par HPLC/UV (Hu R.W., 1996 ; Kennedy E.R., 1997 ; Lawrence J.F., 1981 ; Niemann R.A., 1993). Cette dernière procédure sera utilisée pour suivre sa disparition lors du traitement photocatalytique.

La photocatalyse hétérogène est récemment apparue comme une méthode de purification de l'eau et de l'air (Schiavello M., 1987 ; Ollis D.F., 1993 ; Herrmann J.-M., 1993 ; Pichat P., 1998 ; Bahnemann D., 1994 ; Blake D.M., 1999 ; Guillard C., 1999 ; Herrmann J.-M., 1999). Plus de 1700 références ont été récemment recensées dans ce domaine (Blake D.M., 1999). Cette technique présente plusieurs avantages comparés aux autres procédés d'oxydation avancés (O₃-UV, H₂O₂-UV, O₃-H₂O₂-UV, ultrasons, oxydation supercritique, etc), qui sont pour la plupart d'entre eux, très onéreux. En effet, ces procédés consomment des quantités importantes de réactifs chimiques et consomment de l'énergie électrique.

La photocatalyse utilise :

- un catalyseur non toxique, stable, disponible et peu onéreux: le dioxyde de titane (TiO_2). L'emploi de ce photocatalyseur évite ainsi la consommation de composés chimiques et leur stockage.
- l'oxygène de l'air comme agent oxydant.
- Une activation photonique qui évite tout chauffage et qui peut faire appel à l'énergie solaire. En effet, lorsque le dioxyde de titane est soumis à un flux lumineux dont l'énergie photonique est supérieure à l'énergie de sa largeur de bande interdite (3,2 eV), il y a création de paires électrons/trous positifs, engendrant des radicaux superoxydes (O_2°) et hydroxyles (OH°). Ces radicaux hydroxyles sont à l'origine de l'efficacité de la photocatalyse. Ils sont susceptibles de minéraliser complètement les micropolluants présents dans les eaux.

Plusieurs stations solaires sont actuellement en fonctionnement de par le monde. Des travaux à la plate-forme solaire d'Almeria (PSA), située dans le sud de l'Espagne, ont montré l'efficacité de l'énergie solaire pour dégrader un grand nombre de polluants des eaux (Guillard C.,1999; HerrmannJ.-M.,1999; Guillard C.,1998; Herrmann J.-M., 2000; Herrmann J-M.,2001).

Dans ce travail, nous étudions la dégradation photocatalytique du formétanate (FMT) en utilisant du dioxyde de titane, avec pour objectif de déterminer l'efficacité de cette méthode en utilisant une solution de cet insecticide-acaricide dans l'eau pure et dans des conditions plus réelles, c'est-à-dire en travaillant avec le FMT formulé, en étudiant l'influence de la présence d'acide humique et de forte concentration de carbonate de calcium, constituants trouvés dans les eaux souterraines de la région d'Almeria.

1. Partie expérimentale

1.1 Réactifs

Le formétanate pur (92% de pureté) et formulé (50% d'agent actif) sont fournis par AgrEvo. Tous les autres composés chimiques utilisés sont vendus par la société Aldrich et utilisés comme reçus, à l'exception de l'acétonitrile, de $\text{LiOH.H}_2\text{O}$ et de KNO_3 , fournis respectivement par les sociétés Rathburn, Merck et Panreac.

Les dégradations photocatalytiques sont réalisées en utilisant TiO_2 comme catalyseur le TiO_2 Degussa P-25 ; 80% anatase, 20% rutil, $S=50\text{m}^2/\text{g}$) ou TiO_2 Fluka (100% anatase, $10\text{ m}^2/\text{g}$) si précisé. L'eau utilisée pour les préparations et les analyses est une eau ultra-pure filtrée à travers un système Milli-Q PLUS 185 (Millipore, Bedford, MA, USA).

1.2 Réacteur et source lumineuse

Un réacteur en Pyrex d'environ 90 cm³, ouvert à l'air, ayant une fenêtre optique de 11 cm² de surface est utilisé. La solution est agitée en continu grâce à un agitateur magnétique. Une lampe Philips HPK-125W délivre le flux lumineux qui est filtré à travers une cuve à eau munie de filtre laissant passer les longueurs d'onde supérieures à 340 nm. L'intensité des radiations UV entrant dans le réacteur est mesurée avec un radiomètre (UDT, model 21A). Le flux énergétique est égal à 5,2 10⁻² W cm⁻², correspondant à un nombre de photons efficaces, absorbables par TiO₂ égal à de 1,7 x 10¹⁷ photons / s.

1.3 Mode opératoire

Les solutions de FMT pure ou formulé sont préparées dans l'eau ultra-pure et conservées à 4° C à l'obscurité. Ces solutions ne sont jamais utilisées plus de trois jours après leur préparation. Un volume de 20 mL de solution de FMT pure ou formulé, est introduit dans un réacteur contenant 50 mg de TiO₂. Le mélange est laissé sous agitation à l'obscurité pendant 15 minutes, pour permettre d'atteindre l'équilibre d'adsorption, puis ensuite irradié. Toutes les expériences sont réalisées à pH naturel (pH=6,2), sauf si d'autres conditions sont précisées. Avant l'analyse les échantillons sont filtrés sur des filtres Whatman de 0,45 µm.

1.4 Analyse

1.4.1 Etude cinétique

La séparation est réalisée sur une colonne Spherisorb ODS-2 (250 x 4,6 mm i.D, 5 µm de taille de particules) en utilisant un flux de 1 mL /min. L'éluant est constitué d'un solvant acétonitrile/eau (30 :70) acidifié avec H₃PO₄ à pH=3. 40µL de triéthylamine par litre de solution sont ajoutés à l'éluant pour bloquer les OH de surface et éviter la traînée des pics.

1.4.2 Etude de la minéralisation.

L'apparition des ions inorganiques (NO₃⁻, NO₂⁻ et NH₄⁺) est suivie par LC couplée à un détecteur conductimétrique Waters. La colonne pour l'analyse des anions est une colonne ICPak A (50mm x 4,6 mm, taille des particules 10µm). L'éluant est un mélange de borate gluconate de lithium à un flux de 1mL/min. La séparation des ions NH₄⁺ est réalisée sur une colonne Vydac (50mm x 4,6 mm). L'éluant contient 2,5 mM de HNO₃ à un débit de 1 mL/min.

La formation de CO₂ est suivie par GC avec détection par conductibilité thermique (Intersmat IGC 120 MB). Les conditions d'analyse sont les suivantes : colonne Carboxen 1000 (L= 4,5 m, Ø3,2 mm); température du détecteur : 130°C;

température du four: 80°C; intensité du courant: 200mA; flux d'hélium: 17,6 mL/min.

1.4.3 Identification et quantifications des intermédiaires réactionnels

1.4.3.1 Concentration des échantillons

Pour l'analyse LC/MS, les échantillons sont préalablement concentrés par extraction en phase solide (SPE). 20 mL de la solution irradiée sont passés sur une cartouche Waters OASIS HLB de 1cm³ (30 mg) constituée d'un polymère [poly(divinylbenzene-co-N-vinylpyrrolidone)] ayant une surface de 831 m²/g. Les analytes sont élués avec 500 µL d'acétonitrile.

1.4.3.2 Analyses par LC/MS

Les analyses par LC/MS sont réalisées avec un analyseur de masse HP Séries 1100 MSD, équipé d'une interface ES+ (domaine de masse 50-400) en utilisant une colonne Interchim UP3ODB (L=100mm, Ø=2mm, taille des particules =3µm). La phase mobile, constituée d'un mélange eau/acétonitrile (95:5), circule à un flux de 0,3 mL/min. Une dérivation post-colonne avec un mélange MeOH/isopropanol /formiate d'ammonium/acide acétique est utilisée pour améliorer la détection.

1.4.3.3 Analyse des acides

Elle est réalisée par LC/UV à $\lambda=210$ nm avec une colonne échangeuse de cations sous forme H⁺ (Sarasep Car-H, L= 300 mm, ID=7,8mm) et un éluant 5 x 10⁻³M H₂SO₄ à un débit de 0,7 mL/min.

2. Résultats et discussion

2.1 Cinétique de disparition du forméanate

La Figure 2 montre la courbe de dégradation d'une solution contenant 20 ppm de forméanate pure en fonction du temps d'irradiation. Les différents symboles correspondent à des expériences différentes, nous permettant de contrôler la reproductibilité de la dégradation. Comme il peut être observé, la disparition du forméanate est relativement rapide (environ 30 minutes). La vitesse initiale de dégradation est égale à 1 ppm min⁻¹.

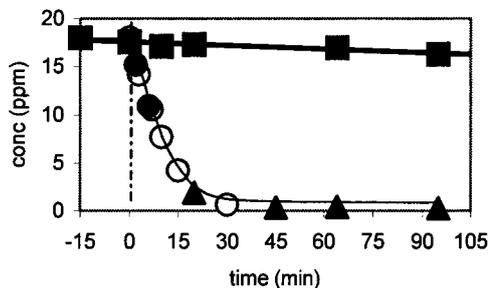


Fig. n° 2 : Photolyse et photocatalyse de 20 ppm de forméanate pur. Les symboles différents correspondent à différentes expériences, indiquant la bonne reproductibilité des dégradations.

D'autres expériences sont faites en faisant varier la concentration initiale de forméanate afin de déterminer l'ordre de la réaction. Compte tenu des résultats antérieurs obtenus au laboratoire sur la dégradation de différents pesticides (Herrmann J.M., 1999;), l'obtention d'une réaction d'ordre apparent égal à 1 est envisagé. Cependant, les constantes de vitesse déterminées en considérant un ordre apparent égal à 1 ne reste pas constant en modifiant la concentration du polluant, bien que la linéarité de la transformation linéaire soit très bonne.

L'ordre de la réaction, déterminé en traçant la courbe $\log v_0$ en fonction du $\log C_0$ (Figure 3), indique un ordre $\frac{1}{2}$. Cet ordre est confirmé par la méthode intégrale en traçant $(C_0^{1/2} - C^{1/2})$ en fonction du temps (Figure 4).

$$r = -dC/dt = k C^{1/2} \quad \Leftrightarrow \quad [C_0^{1/2} - C^{1/2}] = k/2 t$$

Ce résultat suggère donc que deux sites sont impliqués dans l'adsorption d'une molécule de forméanate (adsorption dissociative). De telles adsorptions ont déjà été observées en photocatalyse lors de la déhydrogénation d'alcools primaire et secondaire en présence de Pt/TiO₂ (Pichat P., 1981) ainsi qu'en présence d'anions alcoolate et de protons sur la surface de TiO₂ (Ollis D.F., 1993). Comme pour l'adsorption dissociative des alcoolates, le forméanate se trouvant sous la forme hydrochlorée, le relargage d'un proton de l'ammonium quaternaire peut se produire lors de l'adsorption du FMT, impliquant deux sites, responsable de la cinétique d'ordre $\frac{1}{2}$:

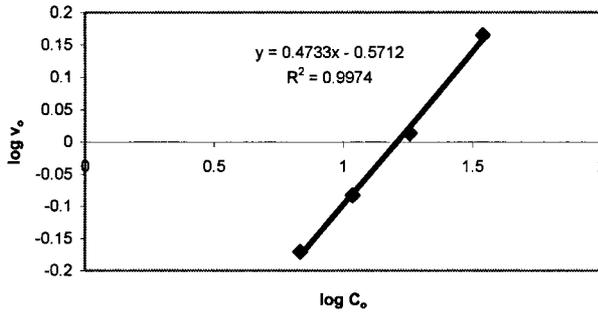


Fig. n° 3 : Cinétique de disparition du forméanate pur à quatre concentrations différentes. Détermination de l'ordre réactionnel à partir du diagramme $\log V=f(\log C)$

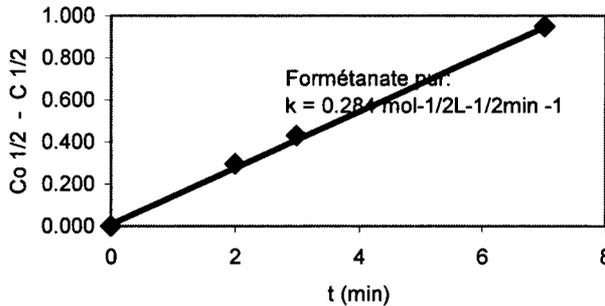


Fig. n° 4 : Transformée linéaire (forme intégrale) de la cinétique d'ordre $\frac{1}{2}$ de dégradation photocatalytique du forméanate pur.

2.2 Minéralisation

La minéralisation complète d'une molécule organique conduit normalement à CO_2 et à des anions inorganiques lorsque des hétéroatomes sont présents. Compte tenu de la structure de la molécule de forméanate, on peut supposer la formation de nitrite, nitrate et ammonium.

La Figure 5 montre l'évolution des ions nitrate et ammonium, cette dernière espèce étant majoritaire. Les nitrites sont détectés à l'état de traces, à cause de leur rapide transformation en NO_3^- (Milis A.,1993). Après environ 2 heures, 60% de l'azote est minéralisé en NH_4^+ , NO_2^- , et NO_3^- . Les nitrates apparaissent très lentement avec une pente nulle en début d'irradiation, indiquant que NO_3^- provient soit de l'oxydation préalable de l'azote organique soit de l'oxydation des ions ammonium qui est connue pour être lente (Low G.K.C.,1991).

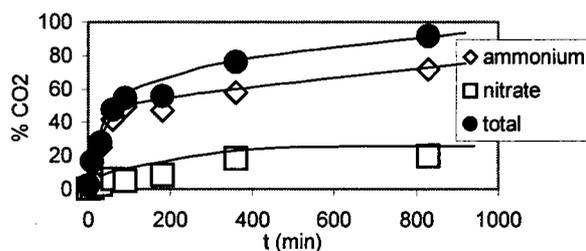


Fig. n° 5 : Evolution des ions nitrate et ammonium durant la dégradation photocatalytique de 20 ppm de forméтанate pur.

En considérant l'évolution du CO₂ en fonction du temps d'irradiation (Figure 6), on voit que la quasi totalité du carbone organique est minéralisé en environ 2 heures, ce qui signifie qu'au delà de ce temps seule la transformation de l'azote minéral est concernée.

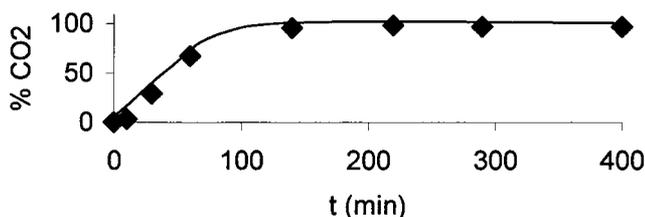
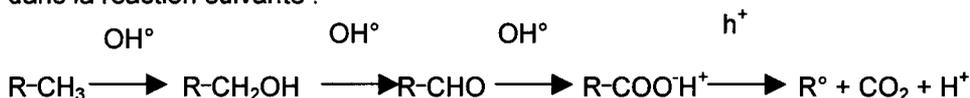


Fig. n° 6 : Cinétique de formation de CO₂ lors de la dégradation de 20 ppm de forméтанate pur.

2.3 Intermédiaires

Compte tenu de la molécule de forméтанate, nous avons recherché à détecter l'acide formique. En effet, cet acide pourrait être formé par oxydations successives des trois groupements méthyles présents dans la molécule. Cependant, aucune trace de cet acide n'est observé. Ce résultat peut s'expliquer par l'attaque de la fonction carboxylique par les trous h⁺ photogénérés pour former directement CO₂ sans passage par l'acide. Les différentes étapes de l'oxydation sont résumées dans la réaction suivante :



Alors que l'acide formique n'est pas détecté, l'acide acétique est contre toute attente mis en évidence. La cinétique de son évolution est représentée sur la Figure 7.

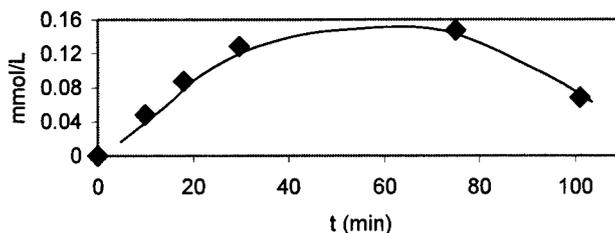


Fig. n° 7 : Cinétique de formation de l'acide acétique au cours de la dégradation du formétanate.

Sa concentration maximale observée à 30 minutes d'irradiation, correspond à environ 20 % du carbone présent dans la molécule de formétanate. Un tel comportement a déjà été observé lors de la dégradation du bleu de méthylène (Houas A., 2001). La formation d'acide acétique est probablement due à l'ouverture du cycle aromatique après plusieurs hydroxylations. Cependant, sa formation n'est pas complètement expliquée jusqu'à présent. La faible constante de vitesse de dégradation de l'acide acétique par les radicaux OH° (Buxton G.V., 1988) pourrait éventuellement justifier sa détection en forte concentration dans le milieu réactionnel.

Les intermédiaires organiques, autre que les acides formique et acétique ont été déterminés par analyse LC/MS d'un échantillon de formétanate irradié 10 minutes et concentré par extraction en phase solide. Ils sont représentés sur la Figure 8. Qualitativement, deux voies parallèles sont observées : (1) l'hydroxylation du cycle aromatique et (2) la dégradation des chaînes aliphatiques. Comme il peut être vu, l'hydroxylation du cycle aromatique est un processus non sélectif. En effet les 4 isomères de position sont détectés ($m/z = 237$). La double hydroxylation du cycle est également mise en évidence par la détection du composé de masse $m/z = 253$. La seconde voie de dégradation concerne l'attaque par les OH° de la chaîne aliphatique du carbamate sur le groupe méthyl, formant l'alcool, voie similaire à celle mise en évidence lors de la dégradation d'un autre pesticide, le pirimiphos-méthyl (Herrmann J.M., 1999).

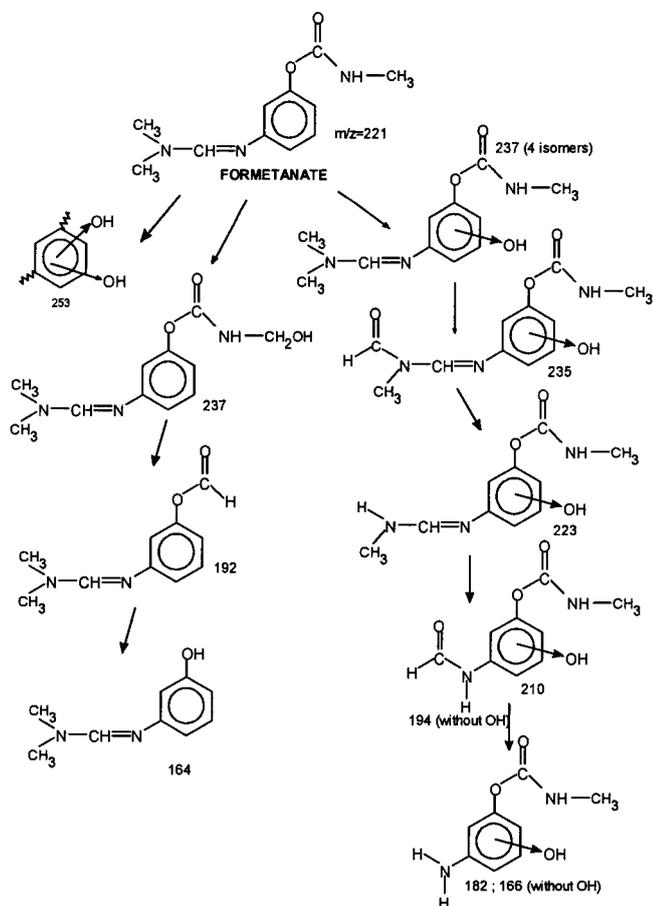
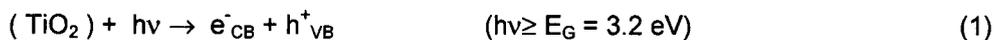


Fig. n° 8 : Proposition de chemin réactionnel de dégradation du formétanate. Les intermédiaires trouvés sont ceux détectés après 8 minutes d'irradiation (les nombres indiqués sous les composés représentent les masses molaires).

Deux espèces oxydantes peuvent être considérées : les trous photogénérés (h^+) et/ou les radicaux hydroxyls (OH°) qui sont connus comme des espèces très réactives et non sélectives.

Les trous sont les espèces initiales oxydantes générées par photoadsorption des photons UV par le dioxyde de titane :



Par la suite les radicaux OH° peuvent être formés par les réactions suivantes :
 -(1) oxydation de l'eau par les trous

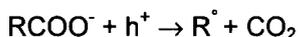


- (2) formation intermédiaires de radicaux hydroperoxyde



Dans notre cas les radicaux OH^{\cdot} peuvent attaquer les liaisons C-H, en particulier celles du cycle aromatique et par la suite rompre les liaisons C-N et C-C de la molécule.

Les trous peuvent réagir directement avec les acides carboxyliques formés intermédiairement selon la réaction de photo-Kolbe indiquée ci-dessous :



2.4 Etude comparative de la dégradation du forméтанate pur et formulé

Ce paragraphe ainsi que ceux ont pour but d'étudier la dégradation photocatalytique dans des conditions aussi proche possible que celles rencontrés dans le milieu réel. Dans le but d'étudier l'influence de l'agent de formulation sur la dégradation du forméтанate, une expérience a été réalisée avec une solution contenant 20 ppm de forméтанate formulé (dont 11 ppm de forméтанate pur) et comparée aux résultats obtenus lors de la dégradation de 11 ppm de forméтанate pur (Figure 9). Il peut être vu que l'agent de formulation a un léger effet inhibiteur sur la dégradation du forméтанate. Les constantes de vitesse apparentes sont égales à 0,284 et 0,224 $\text{mol}^{-1/2}\text{L}^{-1/2}\text{min}^{-1}$ pour le forméтанate pur et formulé, soit environ une baisse de 20% de l'activité. L'évolution de CO_2 en présence ou non d'agent de formulation est montrée sur la Figure 9B. Le pourcentage de CO_2 détecté est supérieur à celui attendu. Cela signifie que l'agent de formulation utilisé contient des composés organiques qui sont photocatalytiquement dégradés en compétition avec le forméтанate, ce qui peut expliquer la baisse d'activité.

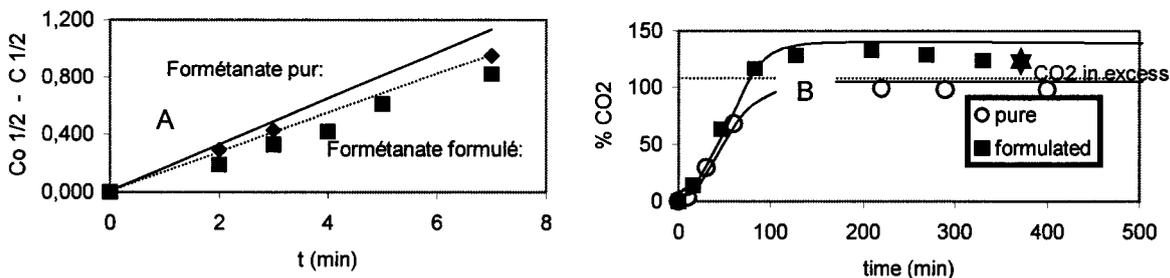


Fig. n° 9 : Influence de l'agent de formulation sur la cinétique de dégradation du forméтанate (A) et sur l'évolution du CO_2 (B).

Cependant, compte tenu de la confidentialité de la composition du forméanate formulé, il n'a pas été possible d'être plus quantitatif. Il est, malgré tout, intéressant de noter que le pourcentage de minéralisation en CO_2 des différents composés organiques présents dans le milieu est similaire à celui de la minéralisation du forméanate pur.

2.5 Influence de la présence d'acides humiques et de calcaire (CaCO_3 à pH = 8)

Dans les eaux souterraines de la région d'Almería, d'importantes quantités d'acides humiques et de calcaire sont présents. Dans le but de travailler dans des conditions les plus proches de ces eaux réelles, nous avons étudié l'influence de ces deux paramètres.

Dans une première expérience, la dégradation de 20 ppm de forméanate pur en présence de 20 ppm d'acide humique a été suivie. La constante de vitesse est diminuée d'un facteur voisin de 2 ($k_{\text{app}} = 0,144 \text{ mol}^{-1/2}\text{L}^{-1/2}\text{min}^{-1}$ en présence de 20 ppm d'acide humique (Figure 10)). Cette importante inhibition de la dégradation est due à la compétition entre le FMT et l'acide humique pour accéder aux sites actifs du catalyseur. En effet une solution de 20 ppm d'acides humiques contient 6,5 ppm de carbone organique, soit environ 60% de carbone supplémentaire à minéraliser.

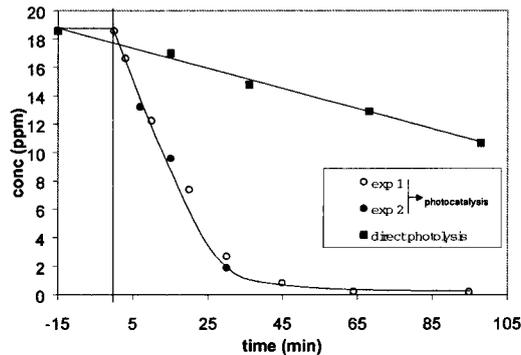


Fig. n° 10 : Influence de la présence d'acides humiques (20 ppm) sur la photolyse et sur la photocatalyse du forméanate (20 ppm).

Dans une seconde expérience, une solution de 20 ppm de forméanate est dégradée en présence de 280 ppm de CaCO_3 à un pH de 8. Les résultats sont montrés sur la Figure 11. Il semble que la présence de calcaire à pH 8 n'a pas d'influence sur la vitesse de dégradation du forméanate. Cependant, comme espéré, l'hydrolyse du forméanate est augmentée.

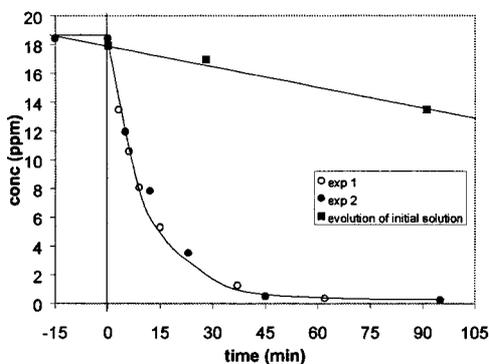


Fig. n° 11 : Influence de la présence de CaCO_3 (calcaire) à $\text{pH}=8$ sur la photolyse et la photocatalyse.

2.6 Comparaison de l'efficacité de deux TiO_2 industriel

Ce paragraphe a pour objectif de comparer l'activité de deux catalyseurs industriels, le TiO_2 Degussa P-25 et le TiO_2 Fluka. La disparition du forméanate en présence de ces deux catalyseurs montre que le TiO_2 Fluka est plus efficace pour faire disparaître le pesticide initial (Figure 12A) alors que la minéralisation initiale en CO_2 est plus lente (Figure 12B). Ce comportement peut être expliqué par un mécanisme rateau comme suggéré par des travaux antérieurs de l'équipe (Guillard C., 1999). La faible surface du TiO_2 Fluka (5 fois plus faible que celle de TiO_2 Degussa P-25) limite la réadsorption des composés intermédiaires et donc la vitesse de minéralisation initiale.

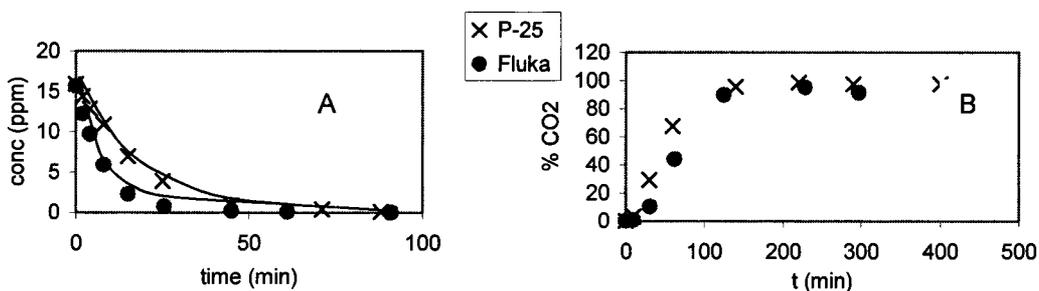


Fig. n° 12 : Comparaison de l'activité photocatalytique de deux TiO_2 industriels sur la vitesse de dégradation du forméanate (A) et sur la vitesse de minéralisation (B).

Conclusions

Le forméтанate pur peut être totalement détruit et minéralisé par photocatalyse hétérogène. Tous les atomes de carbones sont transformés en dioxyde de carbone, inoffensif, alors que les atomes d'azote sont minéralisés en nitrate et ammonium, ce dernier étant plus important, en accord avec le faible degré d'oxydation de l'azote. La comparaison de l'activité photocatalytique de deux catalyseurs industriels montre que la surface du catalyseurs joue un rôle important sur la vitesse relative de dégradation du pesticide initial et la minéralisation totale. La diminution de l'efficacité de la photocatalyse en présence d'agent de formulation ou d'acides humiques semble d'autant plus importante que la quantité de carbone organique ajoutée est importante. Ce résultat est en accord avec une compétition de dégradation de la matière organique présente.

La présence de calcaire (CaCO_3) dans les eaux à pH égal à 8 n'a pratiquement pas d'effet sur la vitesse de disparition du forméтанate. Toutes ces données confirment que la photocatalyse peut être une méthode efficace pour décontaminer l'eau souterraine qui a été polluées par des sources agricoles.

Remerciements : Les auteurs espagnols remercient le ministère espagnol de l'éducation et de la culture (projet PB97-0446) et la Junta de Andalucia pour leur support financier. Les autres auteurs remercient l'action intégrée « Picasso » France-Espagne.

Bibliographie

- Bahnmann D., Cunningham J., Fox M.A., Pelizzetti E., Pichat P. and Serpone N., 1994- *Aquatic and Surface Photochemistry* G.R.Zepp and D.G.Crosby (Editor), Lewis, Boca Raton, FL, , p. 261.
- Blake D.M., 1999-*Bibliography of work on the photocatalytic removal of hazardous compounds from water and air*, NREL/TP-430-22197, National Renewable Energy Laboratory Golden Co.
- Buxton G.V., Grenstock C. L., Helman W. P. and Ross A. B., 1988-*J. Phys. Chem. Ref. Data*, 17, 513.
- Day M.L., Hogmire H.W., Brown M.W., 1995-*J. Econom. Entomol.* ,88, 1012.
- Escuriola M.J., Morales-Rubio A., De la Guardia M., 1999-*Anal. Chim. Acta* ,390, 147.
- Ferrari J.A., Morse J.G., Georghiou G.P., Sun Y.P., 1993-*J. Econom. Entomol.* 86, 1645.
- Figuls M., Castane C., Gabarra R., 1999-*Biocontrol*, 44, 89.
- Garcia J.M., Jimenez A.I., Arias J.J ., Khalaf K.D., Morales-Rubio A., De la Guardia M., 1995-*The Analyst* ,120, 313.
- Grout T.G., Richard G.I., Stephen P.R, 1997-*Exp. Appl. Acarol.*,21, 171.

- Guillard C., Disdier J., Herrmann J.-M., Pichat P., Malato S. and Blanco J., 1998- *TiO₂-based solar photocatalytic detoxification of water containing organic pollutants. Extrapolation of laboratory experiments and efficiency of some industrial TiO₂ catalysts*. Proc. 1st Users Workshop, Training and Mobility of Researchers Programme at Plataforma Solar de Almeria, Almeria (Espagne), Editorial CIEMAT (ISBN 84-7834-321-0), Madrid p. 41.
- Guillard C., Disdier J., Herrmann J.-M., Lehaut C., Chopin T., Malato S. and Blanco J., 1999-*Comparison of various titania samples of industrial origin in the solar photocatalytic detoxification of water containing 4-chlorophenol*. *Catalysis Today*, **54**, 217.
- Herrmann J.-M., Guillard C. and Pichat P., 1993-*Catal. Today.*, **17**, 7.
- Herrmann J.M., 1999-*Catal. Today* **53**, 115.
- Herrmann J.M., 1999- *Water Treatment by Heterogeneous Photocatalysis "in "Environmental Catalysis"*, chapter 9 : " F.Jansen and R.A. van Santen (eds) ; Imperial College Press, (London), Catalytic Science Series, , pp.171-194
- Herrmann J.-M., Matos J., Disdier J., Guillard C., Laine J., Malato S. and Blanco J., 1999, *Solar photocatalytic degradation of 4-chlorophenol using the synergistic effect between titania and activated carbon in aqueous suspension*. *Catalysis Today*, **54**, 255.
- Herrmann J.M., Guillard C., Arguello M., Agüera A., tejedor A., Piedra L. and Fernandez-Alba A., 1999-*Catal. Today*, **54**, 353.
- Herrmann J.-M., 2000-*Solar Detoxification of Waste Waters*. In *Industrial Applications of Solar Chemistry*. CIEMAT Editor, 33-62.
- Herrmann J.-M., Guillard C., Disdier J., Lehaut C., Malato S. and Blanco J. (soumise 2001)-*New industrial titania photocatalysts for the solar detoxification of water containing various pollutants*. *Appl. Catal. Press, (London), Catalytic Science Series*, 1999, pp.171-194.
- Houas A., Lachheb H., Ksibi M., Elaloui E., Guillard C. and Herrmann J.M., 2001- *Appl. Catal. B: Environmental*, in press.
- Hu, R.W. Petay V., 1996- *J. Fournier, J. Agr. Food Chem.*, **44**, 181.
- Kennedy E.R., Linn J.J., Reynolds J.M., Perkins J.B., 1997-*Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **58**, 720.
- Khalaf K.D., Sancenon J., de la Guardia M., 1993-*Talanta*, **40**, 1173.
- Khalaf K.D., Morales-Rubio A., De la Guardia M. *Anal. 1993-Chim. Acta*, **281**, 249.
- Khalaf K.D., Morales-Rubio A., de la Guardia M., Garcia J.M., Jimenez F., Arias J.J., 1996-*Microchem.*, **J. 53**, 461.
- Lawrence J.F., Panopio L.G., Lewis D.A., McLeod H.A., 1981-*Agr. Food Chem.*, **29**, 722.
- Low G.K.C., S. R. Mc Evoy, Matthews R. W.; 1991-*Environ. Sci. Technol.*, **25**, 460.
- Milis A. and Domenech X., 1993-*J. Photochem. Photobiol. A :Chem.*, **72**, 55.
- Niemann R.A. ,1993-*J. AOAC Intern.* **76**, 1362.
- Ollis D.F. and Al-Ekabi H., 1993-*Photocatalytic Purification and Treatment of Water and Air*, Elsevier, Amsterdam,
- Ong K.C., Cash J.N., Zabik M.J., Siddiq M., A.L. Jones, 1996- *Food Chem.* **55**, 153.

- Pichat P., Herrmann J.M., Disdier J., Courbon H., Mozzanega M.N., 1981-*Nouv. J. Chim.*, 5, 627.
- Pichat P. 1998-in "*Handbook of Heterogeneous Catalysis*", G.Ertl, H.Knözinger and J. Weitkamp eds;VCH, Weinheim, Germany, Vol.4 Chap. 3.19, p.2111.
- Pree D.J., Marshall D.B., Mcgarvey B.D., 1992-*Canad. Entomol.*, 124, 59.
- Pree D.J., Bittner L.A., Whitty K.J., 2000-*Canad. Entomol.* 132, 69.
- Schiavello M.,1987-*Photocatalysis and Environment: Trends and Applications*, NATO ASI Series C, , Kluwer Academic, London Vol. 238.

Diagnostic de la pollution diffuse par les produits phytosanitaires et solutions correctives

Véronique Gouy et Jean Joël Gril

Cemagref - Unité de Recherche Qualité des Eaux et Prévention des Pollutions

3 bis, quai Chauveau – 69336 LYON Cedex 09

Tél. 04 72 20 87 94 – 04 72 20 87 13 Fax 04 78 47 78 75

Introduction

Malgré l'ampleur des investigations exigées pour leur homologation, les produits phytosanitaires sont susceptibles d'être retrouvés dans les milieux aquatiques, ce qui met en évidence à la fois la difficulté de cerner les risques de transfert de ces molécules et la nécessité de mener conjointement des actions sur le terrain pour limiter la contamination de la ressource en eau.

La forte interaction qui existe entre les propriétés de ces substances et les conditions dans lesquelles elles sont employées explique cette difficulté et rend indispensable d'estimer, dans chaque situation, quelles sont les causes dominantes de la contamination.

C'est l'objectif du diagnostic qui, dans la perspective qui nous intéresse ici, a pour seul objectif de mettre en place des plans d'actions visant à réduire la contamination de la ressource en eau par les produits phytosanitaires. Il consistera ainsi à estimer les risques de transfert de ces substances dans une zone géographique donnée et à caractériser les facteurs qui le favorisent (CORPEN 2001).

Le plan d'action, quant à lui, consistera non seulement à mettre en œuvre des solutions correctives, mais aussi à définir des priorités, en fonction de critères techniques et des impératifs socio-économiques et politiques locaux. Dans le cadre de cet exposé, nous nous en tiendrons aux seules considérations techniques, destinées à servir de base de décision aux acteurs locaux, seuls à même de prendre en considération les impératifs ci-dessus.

Le diagnostic étant orienté par les solutions correctives puisqu'il s'agit d'en évaluer la pertinence et d'en optimiser la mise en œuvre, nous présenterons tout d'abord les différentes actions possibles pour limiter la contamination des eaux.

1. Les solutions correctives

1.1 Les types de pollutions

L'origine de la pollution conduit à distinguer deux catégories de transferts, qui relèvent de solutions techniques bien distinctes :

- la pollution ponctuelle qui résulte le plus souvent d'erreurs de manipulation ou de négligence, comme le débordement des cuves lors de la préparation de bouillies ou le rinçage du matériel sur des surfaces plus ou moins imperméables comme la cours de ferme ou à proximité d'un puisard ou d'un fossé ;

- la pollution diffuse qui résulte principalement de l'entraînement vers les milieux aquatiques des produits phytosanitaires appliqués au champ. Celle-ci semble plus difficile à maîtriser du fait de ses caractéristiques, dont on rappelle les principaux traits :

- cette contamination peut se manifester même à la suite d'usages conformes à la réglementation,

- elle est fortement dépendante des caractéristiques du milieu naturel et en particulier des conditions hydrologiques ce qui se traduit par l'alternance de périodes présentant un risque de transfert variable,

- les taux de transfert annuels à la parcelle sont voisins de 2 % de l'application ; en général, les taux de transfert diminuent lorsque l'on passe de la parcelle au bassin versant, mettant en évidence, à côté de phénomènes de dilution, l'intervention de nouveaux processus liés par exemple à la présence des zones non traitées pouvant faire "écran" (prairies, haies, talus).

Il y a une difficulté réelle à maîtriser ce dernier type de pollution qui concerne une part marginale de l'application, se manifeste dans les cours d'eau par des valeurs traces et dépend de l'interférence de facteurs naturels (sol, sous-sol, relief, couverture végétale, climat, ...) et anthropiques (pratiques agricoles, aménagements, ...). En particulier, les actions doivent aller au-delà du seul respect des usages et des doses autorisées.

On soulignera également une autre difficulté, qui concerne cette fois le diagnostic des origines de la pollution : les pollutions ponctuelles sont rarement causées par un rejet direct dans les eaux de surface ou souterraines, mais en général elles se produisent en différé, à l'occasion des pluies qui « lavent » les surfaces contaminées - donc simultanément aux pollutions diffuses.

Les solutions proposées, que l'on retrouvera dans différents manuels du CORPEN (1994, 1995, 1996, 1997, 1999), concernent les trois niveaux du siège d'exploitation, des parcelles agricoles et le bassin versant.

1.2 Les actions au niveau du siège de l'exploitation

Nous évoquerons brièvement les actions sur le siège d'exploitation qui doivent concourir à éliminer la majeure partie des pollutions ponctuelles. Ces actions consistent à mieux gérer des postes clés comme l'entreposage des produits, la préparation de la bouillie, le remplissage du pulvérisateur, l'élimination des fonds de cuve et des emballages vides, le rinçage du matériel.

Les principales actions possibles sont bien cernées et passent par :

- une meilleure prise de conscience par les agriculteurs des problèmes environnementaux à travers de meilleures information et formation,
- la mise en œuvre de matériels ou de dispositifs adaptés,
- la mise en place de solutions collectives [postes de remplissage et de rinçage, contrôle des pulvérisateurs, récupération des déchets (emballages, produits non utilisés)].

L'article de S. Bernaerts présente un exemple d'action sur les pollutions ponctuelles dans un petit bassin de Belgique.

1.3 Les actions à la parcelle

1.3.1 Les méthodes complémentaires ou alternatives à la lutte chimique

Un premier objectif consiste donc à limiter voire supprimer l'usage des produits par la mise en œuvre de pratiques limitant l'apparition ou le développement des nuisibles et réduisant la surface potentiellement concernée par des traitements chimiques.

D'une façon générale, il faut veiller à ce que les rotations soient suffisamment longues et variées afin d'éviter l'apparition de nuisibles "opportunistes" (au cycle de développement bien adapté à celui de la culture).

Un autre point essentiel consiste à bien choisir la culture (et de façon plus large la rotation) en fonction des caractéristiques locales de chaque parcelle (sol, pente, microclimat, orientation, ...), afin de favoriser la mise en place de cultures adaptées et compétitives dont on cherchera à augmenter la vigueur par des pratiques culturales soignées (au moment de l'implantation notamment).

Au semis et à la récolte, on veillera aussi à minimiser les possibilités d'infestation par les graines d'adventices.

Parallèlement, une fois que le nuisible est installé, il existe diverses méthodes de lutte non chimiques. Pour ce qui est de la lutte contre les adventices par exemple, on peut avoir recours aux techniques de :

- désherbage mécanique,

- de couverture du sol,
- de faux semis,
- d'enherbement,
- de désherbage thermique,
- de lutte biologique.

Ces techniques sont présentées plus en détail dans le manuel "désherbage" du CORPEN (1999). L'extension de leur usage est limitée du fait de prix de revient et de besoin de main d'œuvre parfois élevés. En agriculture conventionnelle, elles sont le plus souvent envisagées de façon complémentaire à la lutte chimique.

1.3.2 Le raisonnement du traitement chimique

Lorsqu'il s'avère nécessaire d'avoir recours aux traitements chimiques, il convient de raisonner au mieux leur utilisation pour limiter les transferts vers les eaux.

Le traitement doit répondre à un double objectif :

- maintenir les nuisibles à un niveau acceptable pour la culture (seuil de nuisibilité économique),
- réduire les risques d'infestations dans la culture suivante.

En particulier, les traitements systématiques doivent être supprimés au profit d'une stratégie de traitement prenant le plus en compte possible les spécificités pédo-climatiques de la parcelle, la culture et le nuisible dans le choix des produits, dates, doses et modes de traitement.

Les produits doivent être autorisés pour la culture et l'usage envisagé aux niveaux national et local. Ils doivent être adaptés au type de nuisible, à son niveau de présence et à son stade de développement pour une meilleure efficacité du traitement. Les doses doivent aussi être adaptées au type de sol, sa nature et sa texture pouvant modifier l'efficacité du traitement.

Un autre point essentiel est l'adaptation des traitements en fonction du niveau de risque de transfert identifié sur chaque parcelle. Pour cela, il est indispensable de réaliser un diagnostic préalable des voies de circulation de l'eau. Sur les parcelles à risque, on peut être amené à modifier de façon notable les stratégies de traitement (voire les rotations) afin de permettre des traitements en dehors des périodes critiques (*par exemple sur une parcelle à risque d'infiltration ou de drainage à l'automne, préférer un traitement herbicide de printemps ou appliquer avant la reprise du drainage à l'automne si le sol est souvent gorgé d'eau au printemps*). Si cela s'avérait impossible il faudrait, en dernier recours, envisager l'usage des molécules les moins mobiles et les moins rémanentes, ou nécessitant une plus faible dose à efficacité et coût comparables.

On évitera aussi les traitements identiques répétés afin d'éliminer les risques d'accumulation ou d'apparition de résistances.

Enfin, il est indispensable de prendre en compte autant que faire se peut les conditions météorologiques au moment du traitement afin :

- de limiter les risques de transfert (par dérive, par écoulements des excès d'eau),
- de favoriser l'action des produits (humidité du sol suffisante pour traitement du sol, hygrométrie et température favorables pour traitement du feuillage).

Parallèlement, il est essentiel de soigner les techniques de manipulation et d'application des produits aussi bien pour la santé de l'environnement que pour celle du manipulateur. En premier lieu, il faut supprimer les contaminations directes et limiter au maximum les risques de dérive.

C'est de la qualité de l'application que dépendent les volumes et les doses atteignant réellement la cible. Cela impose l'usage d'un matériel adapté et contrôlé régulièrement.

Le dernier niveau d'action à la parcelle est celui de la limitation des transferts en son sein. En règle générale, il faut essayer de maintenir le sol couvert pendant les inter-cultures ou tout au moins gérer l'assolement de telle sorte que la densité et la répartition des parcelles momentanément à nu ne soient pas préjudiciable, ce qui implique un minimum de diversification dans les cultures.

On peut aussi agir par des techniques de travail du sol appropriées afin de diminuer les transferts en modifiant la capacité de stockage du sol et en augmentant le temps de séjour des molécules dans les couches superficielles du sol biologiquement plus actives.

Dans le cas où le ruissellement est une cause principale de la contamination, on essaiera d'augmenter la rugosité par un travail de surface adapté (labour, binage, paillage pour les cultures pérennes...) et on limitera les possibilités de tassement du sol en choisissant un matériel approprié (pneus basse pression).

La limitation des écoulements de sub-surface nécessite de limiter les tassements en fond de labour par un matériel et des conditions de labour favorables (sol pas trop humide).

1.4 Les actions au niveau du bassin versant élémentaire

Les techniques exposées ci-dessus ont pour objectif de minimiser les taux de transfert de produits hors de la parcelle. Cependant, les conditions de la contamination diffuse font que l'on ne peut pas assurer un risque de transfert nul, même si l'agriculteur raisonne correctement ses traitements. Il s'avère donc important de recourir en complément à des solutions limitant les transferts entre les parcelles et les milieux récepteurs.

Une remarque : quand la ressource contaminée est souterraine et alimentée strictement par l'infiltration verticale, chaque parcelle concernée peut être considérée indépendamment des autres. Mais quand le ruissellement ou les écoulements hypodermiques⁴ jouent un rôle significatif, chaque parcelle doit être considérée dans son environnement hydrodynamique, donc à l'échelle du petit bassin versant élémentaire où elle se situe. A noter que les parcelles d'une même exploitation peuvent se situer sur plusieurs de ces petits bassins.

On est ainsi amené à considérer les actions envisageables aux niveaux des diverses zones tampons (enherbées, boisées et humides) et des autres singularités linéaires (fossés, haies, talus) qui constituent les interfaces entre les parcelles et le milieu récepteur.

Parmi ces interfaces, seules les bandes enherbées ont fait jusqu'à présent l'objet de travaux assez approfondis (mais cependant assez peu nombreux). On en rappelle ci-dessous les principales conclusions en renvoyant aux publications concernées.

1.4.1 Cas des bandes enherbées

Les zones enherbées assurent plusieurs fonctions :

- ralentir le ruissellement plus ou moins chargé de particules de terre érodée,
- favoriser la sédimentation de ces particules,
- favoriser l'infiltration dans le sol,
- permettre la rétention de surface des produits peu solubles.

Globalement, elles sont aptes à réduire significativement le transfert des produits phytosanitaires par ruissellement (CORPEN 1997, communication de J.E. Delphin et al.).

Des travaux (Misra et al. 1994, Souiller et al. à paraître) mettent en évidence le rôle prépondérant de l'infiltration favorisée par la traversée d'un sol enherbé grâce notamment à un système racinaire développé et une vie microbienne augmentant la microporosité du sol. Ces propriétés contribuent également à favoriser l'adsorption et la dégradation des substances dans la tranche superficielle d'une surface en herbe (Benoît et al. 1999, Watanabe et al. 2001).

Par ailleurs, l'adsorption des produits phytosanitaires sur la végétation verte et la litière en décomposition, lors de leur transit dans le ruissellement à la surface du dispositif, peut, elle aussi, jouer un rôle non négligeable. Toutefois, ce processus semble très dépendant des propriétés physico-chimiques des substances utilisées (rétention significative uniquement pour les produits dont le coefficient d'adsorption, Koc, est relativement important) et de l'état initial de la bande

4 Ecoulements subhorizontaux à faible profondeur.

enherbée (humidité, état de la végétation) : les produits à faible capacité d'adsorption seraient donc surtout interceptés par infiltration⁵.

Ainsi, les bandes enherbées présentent un intérêt pour la protection des eaux de surface de par leur action sur la réduction des flux de produits transitant dans le ruissellement, à condition qu'elles soient correctement positionnées pour être en mesure d'intercepter les ruissellements (CORPEN 1997).

Par ailleurs et dans tous les cas, les bandes enherbées sont à préconiser en bordure de cours d'eau et fossés pour éviter la contamination par dérive de pulvérisation.

1.4.2 Rôle d'autres singularités du paysage

Des travaux en cours au Cemagref tendent aux mêmes conclusions en ce qui concerne les zones tampons boisées, avec cependant des propriétés d'infiltration et de rétention qui peuvent se révéler encore plus marquées.

D'autres travaux, également en cours, semblent montrer que les fossés agricoles sont susceptibles d'assurer une certaine rétention des produits phytosanitaires, à condition qu'ils soient suffisamment riches en substrat végétal et que le débit ne soit pas trop important (Williams et al. 1999, Garon-Boucher et al. 2001). Dans certaines conditions (fonctionnement lors d'orages en période sèche, par exemple), ils sont également susceptibles d'agir par infiltration verticale et latérale (Marofi 1999).

Les autres singularités (zones tampons humides, haies et talus) jouent très probablement un rôle, mais on ne dispose pas, à notre connaissance, d'informations suffisamment précises pour en tirer quelques conclusions pratiques.

2. Le diagnostic

2.1 Les échelles du diagnostic

L'action isolée d'un agriculteur peut jouer localement un rôle décisif en démontrant la faisabilité des actions correctives. Néanmoins, la protection de la ressource en eau ne pourra être assurée que si les actions sont appliquées sur une portion significative et cohérente du territoire qui constitue l'unité hydrologique, c'est à dire le bassin versant⁶ : le diagnostic doit donc être impérativement entrepris à l'échelle de ce type d'unité.

⁵ Chaque fois que l'infiltration intervient comme processus de rétention, il est impératif de vérifier qu'il ne se produit pas un transfert de pollution vers les eaux souterraines.

⁶ On entendra ici ce terme au sens large : bassin versant hydrographique et également impluvium d'alimentation d'une ressource souterraine.

Cependant, si le plan d'action doit être défini à l'échelle du bassin, la mise en œuvre concrète des actions techniques doit l'être à celle de l'exploitation agricole quand elle est concernée par ces actions : il est donc nécessaire d'effectuer un diagnostic précis à son échelle.

Enfin, il a été fait en France le choix de confier le pilotage des plans d'actions par les pouvoirs publics aux régions administratives⁷ (voir notamment la circulaire du 1^{er} août 2000 des ministères chargés de l'agriculture et de l'environnement).

Ainsi, les régions sont chargées de définir les bassins versant qui feront l'objet d'une action prioritaire : il y a donc également nécessité de disposer d'outils de diagnostic permettant de raisonner à cette échelle.

Le diagnostic doit donc être effectué à ces trois échelles emboîtées : la région, le bassin versant et l'exploitation. On renvoiera aux documents du CORPEN qui abordent les principes et les méthodes, (CORPEN 1996, 1999, 2001)⁸, en se contentant ici d'insister sur quelques aspects qui paraissent importants, en commençant par aborder les connaissances scientifiques qui sont la base du diagnostic.

2.2 La base du diagnostic : les connaissances sur le mode de transfert des produits phytosanitaires

En ce qui concerne les pollutions ponctuelles, les relations de cause à effet sont assez simples et ne posent guère de problème de compréhension pour le diagnostic.

Le cas des pollutions d'origine diffuse est bien plus complexe (Gril et al. 1999, communications de Grébil et al, Voltz et al.). Comme déjà indiqué ci-dessus, la contamination est le résultat d'interactions entre des facteurs multiples traduisant les caractéristiques du milieu, les propriétés des molécules et les conditions d'applications des produits (date, dose, ...).

Globalement, ces facteurs sont maintenant bien connus. Mais, du fait de la complexité des interactions, la quantification de leurs effets reste très approximative.

Quand un ou quelques facteurs prennent des valeurs extrêmes, leur poids prédominant simplifie le diagnostic⁹. Mais, dans les situations plus moyennes, qui sont évidemment les plus fréquentes, les interprétations restent difficiles. La

⁷ Dans le cadre de groupes régionaux, animés par les DRAFF et les DIREN.

⁸ Le cas du diagnostic régional fera l'objet d'une publication à paraître prochainement.

⁹ C'est le cas, en fait, des pollutions ponctuelles : très fortes concentrations en jeu et temps de transfert nul ou très faible.

modélisation, en principe bien adaptée à quantifier des combinaisons complexes, reste malheureusement encore trop peu opérationnelle (Carlier et *al.* 1996) pour être appliquée dans des opérations de diagnostic.

Il est néanmoins un point dont l'importance est à noter : c'est le rôle joué par les voies de circulation de l'eau dans le bassin versant.

En effet, la nature de ces voies (ruissellement, écoulement hypodermique, infiltration), leur aptitude à permettre la fixation et la dégradation (sols avec ou sans circulation rapide, présence de zones tampons, ...) et le temps de transfert de l'eau et des substances (en rapport avec leur longueur et leurs propriétés hydrodynamiques) conditionnent largement le devenir des produits phytosanitaires entre la parcelle et le milieu récepteur.

Certes, ce rôle peut-être largement modulé par les autres facteurs qui interagissent (propriétés des molécules, conditions d'application, ...) et il reste encore beaucoup à faire pour mieux quantifier le rôle des voies de circulation. Mais leur fonction paraît suffisamment essentielle pour que leur compréhension et leur description soient considérées comme un élément central de la méthodologie du diagnostic, quelle que soit l'échelle.

2.3 Le diagnostic à l'échelle régionale

« L'objectif du diagnostic régional est de réaliser le découpage en bassins versants hydrographiques ou hydrogéologiques et de mettre en évidence ceux présentant une qualité de l'eau dégradée ou des risques de transfert plus importants. Ils donnent aux acteurs régionaux les éléments permettant de désigner des zones d'action prioritaires » (CORPEN 2001).

Fondamentalement, ce diagnostic s'appuiera sur le croisement de données décrivant le milieu naturel (géologie, pédologie, morphologie, climat) et les activités agricoles ou autres utilisatrices de produits phytosanitaires (occupation du sol, systèmes de production, usage des produits), confrontées aux données existantes concernant la contamination des eaux.

Conformément à l'objectif précisé ci-dessus, le diagnostic régional est -en principe- la première phase incontournable à toute investigation et plan d'action piloté par la Région.

En pratique, certaines régions, qui ont entrepris tôt de s'attaquer à cette problématique, ont fortement limité les investigations à cette étape pour aboutir rapidement au choix de bassins prioritaires, en intégrant dès le départ les autres éléments de décision (pollution avérée, motivation particulière d'une collectivité, accueil favorable des agriculteurs ...) dans leurs critères de choix.

Même si les opportunités locales peuvent tout à fait légitimer cette manière de procéder, il reste toutefois préférable de procéder en deux étapes : diagnostic régional afin de cibler les zones prioritaires, puis mise en place concrète des actions par ajustement socioéconomique, technique et politique.

Cela implique toutefois, pour être réaliste, que le diagnostic régional puisse être réalisé le plus rapidement possible : il ne s'agit pas de construire une « usine à gaz » coûteuse et longue à réaliser, mais de s'adapter pragmatiquement à la disponibilité des données locales.

Ainsi, en ce qui concerne la caractérisation du milieu physique, deux grands types d'approches ont été identifiées (groupe de travail du CORPEN, en cours) :

- soit croiser l'ensemble des données nécessaires, cartographiées à l'échelle de la région, sans préjuger au départ des unités spatiales obtenues ;
- soit partir d'unités cartographiées préexistantes en critiquant et en validant leur pertinence.

La première approche nécessite de disposer au départ de beaucoup d'informations cartographiées : la condition précisée ci-dessus interdit de procéder à trop de nouvelles acquisitions spécifiques. Elle est probablement assez bien adaptée à des régions (relativement) homogènes, ou les différenciations ne paraissent pas complètement évidentes.

La deuxième paraît assez bien adaptée aux régions étendues, avec des terroirs très différenciés, comme Rhône-Alpes ou Midi-Pyrénées. Un test effectué dans cette dernière région, a montré que s'appuyer sur le découpage en petites régions agricoles (PRA)¹⁰ se révélait pertinent du point de vue de cette problématique. D'autres découpages peuvent aussi servir de base (unités paysagères, par exemple), quand ils sont disponibles. Il n'y a donc probablement pas de méthode systématiquement préférable, la seule règle étant une adaptation pragmatique aux moyens disponibles dans la région (compétences et données).

Un point est à noter : les découpages présentés ici n'aboutiront généralement pas directement à la délimitation de bassins versants, mais tout d'abord à celle de territoires homogènes par rapport au risque de contamination phytosanitaire. Cette délimitation est à faire dans un deuxième temps : c'est seulement ensuite qu'une hiérarchisation en terme de risque et de priorité peut être effectuée.

¹⁰ Les contours de ces PRA ont été définis pour l'essentiel après la dernière guerre, donc à une époque où l'agriculture était beaucoup plus contrainte par les potentialités naturelles du milieu qu'actuellement. Or ces potentialités sont souvent largement conditionnées par les caractéristiques hydrodynamiques du terroir, d'où leur intérêt éventuel, au moins comme base de départ. Un avantage supplémentaire est qu'elles sont renseignées par le Recensement Général de l'Agriculture.

2.4 Le diagnostic à l'échelle du bassin versant

Les descripteurs permettant de caractériser le transfert des produits et la pression exercée par les activités qui les utilisent doivent être plus précis que précédemment et, à ce niveau, des investigations complémentaires peuvent être entreprises.

Il convient ici de préciser quelle dimension d'unité spatiale recouvre en pratique le terme de « bassin versant ».

Le découpage d'une région administrative en bassins conduit à des unités dont l'ordre de grandeur est du millier de km². Lancer directement un diagnostic, puis entreprendre la réalisation d'un plan d'action sur un tel territoire est actuellement irréaliste, dans la mesure où les méthodes (tant concernant le diagnostic que les solutions correctives) ne sont pas parfaitement au point, a fortiori mal connues et non maîtrisées par les acteurs locaux.

Il sera donc nécessaire de travailler simultanément à deux niveaux :

- le grand bassin versant reconnu comme prioritaire ;
- un ou des petits bassins « de référence¹¹ », inclus dans le grand bassin¹².

Le diagnostic devrait être opéré dans un premier temps sur ces petits bassins, puis étendu au grand.

Il en va de même des actions correctives ; toutefois, cela n'interdit pas d'entreprendre rapidement des actions de sensibilisation (« bonnes pratiques ») à l'échelle du bassin prioritaire.

Il est difficile d'indiquer a priori quelle est la dimension optimale des bassins de référence, qui dépends de nombreux paramètres : il est, par exemple, difficile de comparer un bassin viticole et un bassin céréalier. Les moyens financiers et humains disponibles vont évidemment influencer aussi sur le choix.

A titre de simples ordres de grandeur destiné à fixer les idées, on peut donner les indications suivantes, qui tiennent compte du fait que les diagnostics d'exploitations (Cf. § 2.5., comprenant le diagnostic au siège et celui des parcelles) devront, dans un premier temps, être réalisés sur toute l'étendue de ces bassins.

- Nombre de sièges d'exploitations : une dizaine à quelques centaines

11 Ce terme s'inspire des « secteurs de référence » mis en place pour le développement du drainage agricole.

12 On note un certain flou concernant les qualificatifs associés au bassin versant : grand ou petit bassin, sous-bassin, etc., qui traduit la diversité des situations et en particulier des objectifs visés : il convient donc de toujours préciser le contexte quand on emploie ces termes.

- Nombre de parcelles : au moins une cinquantaine et jusqu'à un millier.

En pratique, cela conduit à choisir des bassins dont la superficie est d'une dizaine à une centaine de km².

Le diagnostic à l'échelle du bassin de référence ne peut totalement être identifié à la somme des diagnostics des exploitations (sièges et parcelles) qui l'occupent : la compréhension des modes de circulation de l'eau doit être abordée globalement et constitue même un préalable indispensable au diagnostic d'exploitation et à l'identification des parcelles à risque.

Le diagnostic à l'échelle du grand bassin pourra être entrepris ultérieurement à celui des bassins de référence.

Une question connexe est celle des indicateurs qui seront utilisés lors du diagnostic (état zéro) et suivis lors de la mise en œuvre du plan d'action¹³.

Les indicateurs qui traduisent l'état zéro et l'évolution de la pression et des actions réalisées ne posent guère de problème quant à leur suivi.

En terme d'évaluation de l'efficacité des mesures prises, seule l'évolution de la qualité de l'eau fait foi. Compte tenu de l'influence des aléas climatiques sur les transferts et, dans le cas des nappes souterraines d'une certaine importance, du temps de réponse de la ressource en eau, il est nécessaire de faire preuve d'une très grande prudence : en effet, en toute rigueur, pour interpréter des données de qualité de l'eau, il faudrait disposer d'un suivi avant modifications de plusieurs années ... et d'autant après chaque phase de mise en œuvre des solutions correctives : ce qui est en général stratégiquement et financièrement impossible.

Ce délicat problème concerne à la fois la compréhension de la nature d'une évolution par les animateurs du plan d'action et - plus encore - leur stratégie de communication : il est agréable d'annoncer l'amélioration de la qualité deux ans après le début des actions - mais très difficile d'expliquer deux ans plus tard que, cette fois, l'aggravation est due à deux années climatiquement défavorables.

2.5 Le diagnostic d'exploitation

Comme indiqué précédemment, le diagnostic destiné à identifier les pollutions ponctuelles ne pose guère de problème - autre que disposer du personnel qualifié pour le réaliser.

Nous n'aborderons ici que le diagnostic parcellaire, destiné à identifier les risques liés aux transferts diffus.

¹³ La question des indicateurs fait l'objet d'un groupe de travail du CORPEN.

A ce niveau apparaît une difficulté :

- d'une part, le diagnostic doit être précis, ce qui peut nécessiter une approche assez fouillée, surtout lorsqu'il est nécessaire d'identifier des singularités comme la présence de zones tampons efficaces ;
- d'autre part, le nombre d'opérations à réaliser oblige à mettre en œuvre des moyens suffisamment légers pour être réalistes.

La contrainte des délais de mise en œuvre des actions conduit à distinguer deux types de situations : les actions obligatoires (en application d'une réglementation) et les actions volontaires.

- Le succès d'actions volontaires repose sur leur appropriation par les agriculteurs : si les incitations financières peuvent apporter une aide évidente, elles ne sont généralement pas suffisantes pour permettre à elles seules le développement de bonnes pratiques et la réalisation d'aménagements.

Cette appropriation ne sera réellement possible que si l'agriculteur comprend réellement l'utilité des actions qu'on lui propose sur son terrain. Concrètement, cela implique de le faire participer à la démarche dès la phase de diagnostic : l'outil doit donc dans ce cas avoir un caractère pédagogique très marqué : cela implique qu'il soit totalement transparent (pas de « boîte noire »). Il faut aussi qu'il soit facilement évolutif : dans ce domaine, les experts eux-mêmes ont des progrès à faire, et il vaut mieux que l'agriculteur le sache.

- Pour mettre en œuvre des actions obligatoires, l'outil de diagnostic doit pouvoir être appliqué d'une manière exhaustive sur le territoire concerné, donc être rapide et simple à mettre en pratique par les opérateurs. La pédagogie et l'implication des agriculteurs restent souhaitables, mais elles sont moins essentielles que dans le cas précédent.

La méthode proposée par le CORPEN (CORPEN 2000) vise strictement les actions volontaires. Définie au niveau national, elle nécessite des adaptations régionales (voir les communications de A. Gille et F. Bombarde, respectivement en Midi-Pyrénées et en Poitou-Charentes), sans que cela en modifie les principales caractéristiques :

- la typologie parcellaire s'appuie principalement sur la description des circulations de l'eau ;
- seuls deux niveaux de risque sont définis :
 - * *sans risque significatif* : pas d'action spécifique, hors bonnes pratiques générales, dans la mesure où on peut estimer que les conditions d'usage imposées par le système d'homologation sont adaptées pour minimiser le risque dans ce type de situation - si elles sont effectivement bien respectées ;
 - * *avec risque significatif* : il faut agir.

Les actions sont alors proposées avec un ordre de priorité :

- 1) vérifier la nécessité du traitement
- 2) raisonner les traitements ;
- 3) aménager l'espace (s'il existe une solution pertinente) ;
- 4) adapter la date d'application ;
- 5) changer de molécules, en fonction de leurs propriétés.

Conclusion

La réduction de la contamination des cours d'eau par les produits phytosanitaires d'origine agricole passe par :

- l'élimination progressive des pollutions ponctuelles à travers une formation appropriée et des dispositifs individuels ou collectifs adaptés,
- la réduction de la pollution diffuse qui, plus délicate à maîtriser, implique une meilleure prise en compte des conditions de milieu pour chaque parcelle afin de mieux cerner ses potentialités agronomiques, l'évolution des nuisibles et les risques de transfert. De même, la mise en œuvre de solutions au niveau du bassin versant implique une connaissance suffisante des chemins de circulation de l'eau et des zones potentiellement tampons. Il en résulte la nécessité de mise en œuvre de diagnostics préalables pertinents aux différentes échelles.

Ainsi, il apparaît que la réduction de la contamination des cours d'eau ne doit pas se limiter à un raisonnement au niveau de chaque exploitation agricole prise individuellement mais doit aussi passer par des concertations et des mises en œuvre collectives. Ces aspects devraient notamment trouver leur place dans les futures actions incitatives relevant des Contrats Territoriaux d'Exploitation. De même, il est indispensable de faire intervenir à terme dans la négociation de l'aménagement du territoire l'ensemble des acteurs et des usagers concernés afin de répondre au mieux aux exigences liées à la multi-fonctionnalité de l'espace rural.

Le diagnostic des causes de la pollution des eaux et les solutions correctives qui ont été présenté constituent un volet de ce travail d'ensemble.

Références bibliographiques

- BENOIT P; BARRIUSO E; VIDON P; REAL B (1999) . Isoproturon sorption and degradation in a soil from grassed buffer strip. *Journal of Environmental Quality* 28: 121-129.
- CARLUER N., GOUY V., GRIL J.J. (1996) - Contamination des eaux par les produits phytosanitaires : apport de la modélisation. *Ingénieries EAT*, n°6, pp 3-15.

- Cemagref, (2000) : Lutte contre les pollutions diffuses en milieu rural : Définition et intégration à l'échelle d'un territoire de scénarios d'action. Rapport de restitution dans le cadre du thème mobilisateur "Concilier l'Agriculture et l'Environnement". Dépôt Cemagref de Lyon, 3 bis Quai Chauveau, 69336, Lyon. 56 p.
- CORPEN (1994) : Programme d'action contre la pollution des eaux par les produits phytosanitaires provenant des activités agricoles. *Groupe Phytopratt, Secrétariat du CORPEN, mission Eau-nitrates, ministère de l'Aménagement du territoire et de l'environnement, Direction de l'eau, 20 avenue de Ségur, 75302 Paris 07 SP.*
- CORPEN (1995) : Protection des cultures et prévention des risques de pollution des eaux par les produits phytosanitaires utilisés en agriculture, recommandations générales, 90 p.
- CORPEN (1996) : Qualité des eaux et produits phytosanitaires. Propositions pour une démarche de diagnostic, 106 p.
- CORPEN (1997) : Produits phytosanitaires et dispositifs enherbés. État des connaissances et propositions de mise en oeuvre. *Groupe "Dispositifs enherbés, 35 p.*
- CORPEN (1999) : Désherbage, éléments de raisonnement pour une maîtrise des adventices limitant les risques de pollution des eaux par les produits phytosanitaires,, 90 p.
- CORPEN (2001) : Diagnostic de la pollution des eaux par les produits phytosanitaires : bases pour l'établissement de cahiers des charges des diagnostics de bassins versants et d'exploitations, 34 p.
- GRIL J.J., GOUY V. et CARLUER N. (1999) : Processus de transfert superficiel des produits phytosanitaires, de la parcelle au bassin versant. *La Houille Blanche*, N°5, 76-80.
- GARON-BOUCHER C., GOUY V., LAILLET B., DRAMAIS G. (2001). Rétention des produits phytosanitaires dans les fossés de connexion parcelle-cours d'eau. *Dans la Revue des Sciences de l'Eau, numéro spécial Colloque franco-québécois "La pluridisciplinarité dans les problèmes de l'environnement : les interactions Air-Sol-Eau"*, Québec, 14-15-16 mars 2001. A paraître.
- MAROFI S. (1999) : Rôle des échanges nappes - fossés dans le fonctionnement hydrologique d'un bassin versant en milieu méditerranéen cultivé. Doctorat ENSA Montpellier, 240 p.
- MISRA A.K., BAKER J.L., MICKELSON S.K. (1994) : Effectiveness of vegetative buffer strips in reducing herbicide transport with surface runoff under simulated rainfall. Department of agricultural and biosystems engineering, Iowa State University, 11 p.
- SOUILLER C., COQUET Y., BENOIT P., REAL B., GARON-BOUCHER C., LAILLET B., DUTERTRE A., MICHALAK B., ASSIER J.-M. . Capacités de stockage et d'épuration des sols de différents dispositifs enherbés vis-à-vis des produits phytosanitaires. Première partie : dissipation des produits phytosanitaires à travers un dispositif enherbé : mise en évidence des processus mis en jeu par la simulation de ruissellement couplée avec l'infiltrométrie. *Etude et Gestion des Sols*. A paraître.
- VIDON Ph., (1997). Rôle des matières organiques des sols des bandes enherbées dans la rétention et la dégradation des pesticides : cas de l'isoproturon. DEA, INRA-Université P. et M. Curie-École normale supérieure.

- WATANABE H., GRISMER M.E. (2001). Diazinon transport through inter-row vegetative filter strips: micro-ecosystem modelling. *Journal of Hydrology* 247 (2001) 183-199.
- WILLIAMS R J; WHITE C; DREYMANN S; GOUY V; GARON-BOUCHER C; SOUILLER C (1999). Fate and behaviour of pesticides in farm ditches. *Proceedings of the BCPC Conference – Weeds 1999*, pp 675-680.

Mise en œuvre des recommandations du CORPEN à l'échelle d'un bassin versant : premiers résultats obtenus sur le site de la Fontaine du Theil

Implementation of CORPEN recommendations at a watershed scale : first results of "Fontaine du Theil" site.

BIBARD Valérie, THIERRY Joël
AGPM-TECHNIQUE – 21 chemin de Pau – 64121 MONTARDON
tél : 05.59.12.67.26 – fax : 05.59.12.67.10 – e-mail : valerie.bibard@agpm.com

MARQUET Nicolas, TOURNAYRE Jean-Claude
UIPP – 2 rue Denfert Rochereau – 92100 BOULOGNE BILLANCOURT
tél : 01.41.31.52.00 – fax : 01.41.31.52.10 – e-mail : nmarquet@uipp.net

Co-auteurs du groupe Sol/Eau UIPP : CAMBON Benoît (Monsanto), GRIL Jean-Joël (Cemagref), GUYOT Christian (Aventis Cropsciences), REAL Benoît (ITCF)

Date révision : 16 Mai 2001

Résumé : Depuis 1998, le Bassin Versant expérimental de la Fontaine du Theil a permis de mettre en pratique les recommandations du CORPEN visant à lutter conjointement contre les pollutions ponctuelles et diffuses du milieu. L'objectif de ce projet prévu pour durer 5 ans est de contribuer à la restauration de la qualité des eaux superficielles sur une unité opérationnelle tout en maintenant une agriculture durable et rentable.

Au cours des 3 premières années, les partenaires (AGPM-TECHNIQUE, UIPP, ITCF, SRPV, CEMAGREF, collectivités territoriales de Bretagne, DRAF Bretagne, Chambre d'Agriculture d'Ille et Vilaine...) ont décidé, avec le soutien et la participation active des agriculteurs, de la mise en place d'actions concrètes formalisées au travers d'un plan d'action ambitieux. Celui-ci comprenait notamment l'évaluation du niveau de contamination des eaux, le diagnostic des sources de contamination, le recensement et la modification si nécessaire des pratiques agricoles ainsi que l'installation des premiers aménagements de l'espace cultivé.

Après 3 ans d'efforts soutenus ayant requis des compétences pluridisciplinaires, il est aujourd'hui possible de faire état des réalisations obtenues sur le site et de dégager les premières tendances. Ainsi, les résultats des mesures réalisées en 2000 à la sortie du bassin versant montrent une diminution significative des teneurs en résidus de produits phytosanitaires dans l'eau. Sur la base de ce constat, cette présentation s'attache à évaluer les perspectives de cette action exemplaire qui à terme pourrait servir de référence pour une généralisation à une échelle supérieure des solutions expérimentées.

Abstract : *Since 1998, the experimental watershed of « Fontaine du Theil » enabled to put into practice the CORPEN advice which aims were to control both limited and diffuse pollutions of the environment. The objective of the project planned for 5 years, is to try to restore the quality of surface water on an operationnal unit, while maintaining a durable and profitable agriculture.*

During the 3 first years, the partners (AGPM-TECHNIQUE, UIPP, ITCF, SRPV, CEMAGREF, Brittany territorial communities, DRAF Brittany, Chambre d'Agriculture d'Ille-et-Vilaine...) decided, with the support and active participation of the agricultors, the setting up of concrete actions through an ambitious action plan, including the evaluation of the level of water contamination, the diagnosis of contamination sources, the inventory and eventual modification of agricultural practices, as well as the first ajustements of cultivated surface.

After 3 years of strong efforts requiring wide skills, the realisation obtained on the place can be reported and permit the issue of first trends. The measurements relised during the year 2000 at the exit of the watershed show a significant dicrese of the pesticides residues in water. This report evaluates the prospects of this exemplar action which could be a reference to generalise the solutions experimented there.

Mots clés : Bassin versant, pollution ponctuelle, pollution diffuse, qualité de l'eau, produit phytosanitaire, transfert de résidus, diagnostic, solutions correctives.

Keywords : *Watershed, point source, diffuse source, water quality, pesticide, residue movement, corrective solutions*

Introduction

Dans les années 80, des traces de produits phytosanitaires ont parfois été détectées dans les eaux brutes. Dans le même temps, les autorités européennes, soucieuses de protéger la santé des consommateurs, portaient la première main à la future réglementation européenne relative à la qualité des eaux de boisson.

Depuis, les performances du matériel analytique se sont multipliées par 100 puis 1000 voire davantage encore, permettant de mettre en évidence des traces, jusqu'alors non détectables, de produits de protection des cultures dans les eaux de surfaces et les eaux souterraines.

L'UIPP, la communauté scientifique publique et privée, la profession agricole, en association avec les autorités et au travers d'une organisation pluridisciplinaire, le CORPEN (Comité d'Orientation pour la Réduction des Pollutions des Eaux par les Nitrates, les phosphates et les produits phytosanitaires provenant des activités agricoles), ont mis en commun leurs compétences pour approfondir les raisons de la contamination des eaux et élaborer des recommandations permettant d'y remédier.

Après 3 ans d'efforts soutenus et d'actions multiples avec les différents partenaires, il est aujourd'hui possible de faire un point de situation pour rendre compte des résultats obtenus, d'évaluer les perspectives ainsi que les possibilités d'extrapolation ou d'envisager l'amélioration des recommandations.

1. Le site expérimental de la Fontaine du Theil

La détection de traces de produits phytosanitaires dans les eaux de surface en Bretagne a orienté vers cette région les efforts de l'UIPP et de la profession agricole afin de reconquérir la qualité des eaux de surface à l'aide de solutions pratiques et économiquement rentables.

Dans les faits, c'est sur proposition de l'Institut Technique du Maïs, AGPM-TECHNIQUE, que le Bassin Versant de la Fontaine du Theil a été choisi en vue d'y réaliser un projet pluriannuel qui met en pratique les actions et recommandations élaborées et préconisées par le Corpen. Celles-ci sont notamment explicitées au sein de quatre publications dont les références figurent en bibliographie.

1.1 Présentation du Bassin Versant

Le Bassin Versant de la Fontaine du Theil est situé à une trentaine de kilomètres au nord de Rennes, aux environs de Combourg. Ce ruisseau, la Fontaine du Theil se jette dans la Tamoute, elle-même affluent du Couesnon qui rejoint la Manche. Ce petit bassin versant se situe sur la ligne de partage des eaux entre la Bretagne (réseau hydrographique du bassin versant de l'Ille et de la Vilaine) et la Normandie (réseau hydrographique du bassin versant du Couesnon). Ce bassin versant expérimental de taille modeste est spécifiquement agricole, ce qui permet de montrer les relations directes qui existent entre les modifications de pratiques agricoles, d'aménagement du paysage et la restauration de la qualité des eaux.

La Fontaine du Theil est un ruisseau de 2 km de long marquant les limites entre les trois communes de Saint-Léger-des-Prés, Marcillé-Raoul et Noyal-sous-Bazouges. La Fontaine du Theil coule depuis l'altitude de 87 m et la station principale de mesure est située en amont du bourg de Saint-Léger-des-Prés à une altitude de 49 m.

La pluviométrie moyenne annuelle est voisine de 780 mm dans une région où le bocage, bien que très variable, est présent à des degrés divers sur ce territoire composé d'environ 70 parcelles culturales. Vingt exploitations agricoles sont impliquées dans l'expérimentation ce qui représente une quarantaine d'agriculteurs et agricultrices avec une proportion importante de formes associatives. La surface moyenne des exploitations est de 60 ha environ avec un chargement proche de 1,8 UGB/ha. L'activité agricole est orientée principalement vers l'élevage à dominante bovin avec la présence de céréales à paille. Un élevage de truies et de porcs charcutiers est également présent. La surface agricole se répartit en 1998 entre 38% de céréales à paille, 27% de prairies, 26% de maïs et 3.5% de zones humides.

1.2 Le projet expérimental

L'action mise en œuvre sur ce Bassin Versant expérimental, intitulée "Pratiques agricoles durables et qualité des eaux" est une action pluriannuelle impliquant des compétences pluridisciplinaires. Elle concerne l'ensemble des intrants agricoles. L'objectif du projet, simple à énoncer n'en demeure pas moins très ambitieux : lutter contre les sources ponctuelles et diffuses de contamination du milieu, en mettant en œuvre les recommandations du Corpen.

Cette action a ainsi fédéré les compétences du Groupe de Travail Eaux-Sols de l'UIPP auquel participent les instituts techniques du maïs et des céréales (AGPM-TECHNIQUE et ITCF), les collectivités territoriales de Bretagne (mairies, conseil général d'Ille-et-Vilaine et conseil régional), la Chambre d'Agriculture d'Ille-et-Vilaine et la Chambre Régionale, les scientifiques représentés par l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Rennes, le CEMAGREF, l'Institut National de la Recherche Agronomique, le Service Régional de la Protection des Végétaux et d'autres acteurs locaux. La maîtrise d'ouvrage est confiée à AGPM-TECHNIQUE.

Le programme d'étude a été élaboré en plusieurs étapes afin d'évaluer le niveau de contamination des eaux, c'est à dire :

- le recensement des pratiques agricoles,
 - l'identification des sources de contamination,
 - l'élaboration de techniques à mettre en œuvre pour réduire la contamination,
 - l'évaluation de l'efficacité des mesures prises,
- l'ensemble devant être réalisé à un coût généralisable et acceptable pour l'agriculteur.

2. Le diagnostic du bassin versant

La démarche de diagnostic des risques de pollution par les produits de protection des plantes à l'échelle du territoire vise à proposer des stratégies d'action pour limiter la contamination de la ressource. Elle consiste à analyser avec les élus, les agriculteurs et l'ensemble des acteurs concernés (propriétaires, pêcheurs...) les causes d'un état non satisfaisant pour construire ensemble des solutions adaptées susceptibles d'améliorer la situation.

L'unité d'investigation est la parcelle agricole (lieu d'application des techniques et des intrants) et ses abords, bords de clôture, haies, talus... (lieu d'intervention et d'applications ponctuelles d'intrants phytosanitaires).

Le diagnostic fut la première étape de la démarche conduite par AGPM-TECHNIQUE en collaboration avec la Chambre d'Agriculture d'Ille et Vilaine. Il s'est appuyé sur les observations de terrain, la connaissance des milieux, la circulation des eaux et la prise en compte des pratiques sur l'ensemble du territoire. La réalisation d'un inventaire du milieu (pédologie, hydrogéologie avec

recensement des chemins de l'eau, cartographie), le recensement du parc de pulvérisateurs, l'enquête sur les pratiques agricoles de chacun des agriculteurs ainsi que les mesures de la qualité des eaux en 1998 et 1999 ont permis de rassembler les principaux éléments pour établir un état des lieux du milieu et des pratiques phytosanitaires au départ de l'action.

Une autre étape a ensuite été réalisée pour identifier le degré de risque de chacune des parcelles du bassin en visant particulièrement à l'identification de la circulation de l'eau dans la parcelle (ruissellement et drainage) et à son écoulement vers le ruisseau. Cette phase intègre dans son application non seulement l'évaluation du niveau de risque des parcelles et la mise en évidence des pratiques à risque mais elle propose également les aménagements indispensables dans le bassin pour reconquérir la qualité de l'eau.

La connaissance des voies de circulation privilégiée des eaux sur le territoire est un préalable indispensable à la mise en œuvre des moyens pour limiter les risques de transfert des produits (C GUYOT, 1999). Les observations au champ de la circulation de l'eau se réalisent à deux périodes critiques :

- l'hiver et le début de printemps, particulièrement au moment des pluies abondantes et avec une réserve utile proche de la saturation (ruissellement hivernal) ;
- le printemps et le début de l'été où se produisent des pluies orageuses (ruissellement de surface).

Cinq voies de circulation des eaux ont été recensées et cartographiées sur le bassin versant :

- une infiltration assez lente du fait de la nature des sols de schistes briovériens
- un ruissellement de surface important dans les sols particulièrement battants
- un ruissellement surtout hivernal par refus d'infiltration dans les sols saturés hydromorphes situés le long du ruisseau
- des écoulements hypodermiques suite à la circulation latérale des eaux sur un horizon plus argileux, sur les schistes altérés ou bien sur une semelle de labour ; phénomène particulièrement prononcé dans ce contexte
- des transferts par drainages mis en place en zones hydromorphes dans les années 1970.

La prise en compte de l'impact des talus, haies et abords de parcelles sur la circulation des eaux fait partie du diagnostic. La présence fréquente de rupture de perméabilité dans le profil des sols (*semelle de labour, horizon plus argileux, présence de schistes altérés*) sur les schistes briovériens du bassin versant conduit à des phénomènes importants de circulation sub-superficielle débouchant par la suite dans les fossés circulants, chemins creux ou directement dans le ruisseau. Selon l'agencement du paysage autour de la parcelle, la pente, les haies, talus et fossés accentuent ou diminuent le caractère hydromorphe de certaines d'entre elles et conditionnent le mouvement de l'eau des parcelles vers le ruisseau.

Les parcelles à risque comportent en général une connexion hydraulique directe avec le réseau hydrographique (*ruisseau, fossé circulant ou à écoulement temporaire*). L'existence de circulations latérales de l'eau à de faibles profondeurs ainsi que localement la réalisation de réseau de drainage renforcent les risques de contamination diffuse dans ces parcelles à risque.

Trois périmètres d'observations avec des écosystèmes variés ont ainsi été répertoriés :

- en amont, un écosystème bocager avec trois sources, deux étangs, une friche, un réseau de fossé et de chemins creux.
- au centre, un paysage très ouvert avec une grande sensibilité vis-à-vis des risques de transfert de produits phytosanitaires
- à l'aval, un paysage semi-bocager avec de moyennes parcelles coexistant avec des prairies, un bois et des chemins creux.

3. Le volet phytosanitaire du plan d'action

Après l'inventaire (connaissance des sols, inventaire des exploitations et des pratiques agricoles) et l'état des lieux (mesures des débits et prélèvements continus à l'exutoire) débutés en 1998, les actions préventives et correctives concernant l'utilisation des produits phytosanitaires ont été considérées comme prioritaires (J THIERRY, 2000).

C'est en totale adhésion avec les agriculteurs que ce plan d'actions a été mis en œuvre sur le bassin versant de la Fontaine du Theil avec notamment le lancement des actions prioritaires suivantes :

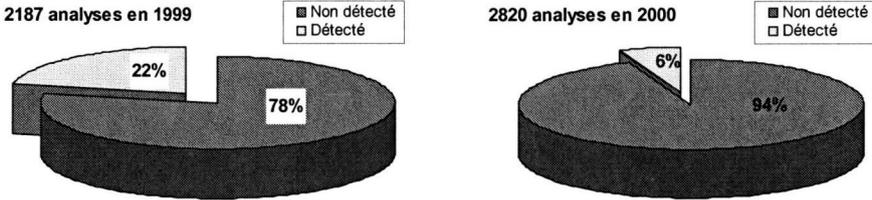
- mise en conformité des pulvérisateurs,
- installation de cuves de rinçage,
- premières mesures d'aménagement de l'espace,
- initiation d'une réflexion sur le raisonnement des pratiques culturales intégrant l'"arrêté atrazine" (Arrêté du 31/03/98).

Celui-ci indique que toute parcelle dont une partie vient à moins de 15 m d'un cours d'eau ou d'un point d'eau ne doit pas recevoir d'atrazine. Cette interdiction est valable même s'il s'agit d'un cours d'eau intermittent (visible en trait plein ou pointillé sur carte IGN au 1/25000). Elle peut toutefois être levée s'il existe une bande enherbée permanente sur toute la longueur de la parcelle, une jachère ou encore une zone boisée, séparant la parcelle de la ressource en eau avec une distance minimale de 15 m. Cette dérogation ne vaut pas pour les parcelles drainées.

Les mesures de qualité de l'eau réalisées à l'exutoire du bassin ont porté sur un total de 23 matières actives pour les 3 années de mesure (1998-2000) ; plus de 500 prélèvements ont été réalisés et analysés sur la période, représentant un total de plus de 6000 échantillons étudiés.

4. Les résultats

Les résultats montrent que, dans une grande majorité des cas (94% des échantillons en 2000), les produits phytosanitaires ne sont pas détectés au delà de la limite de quantification de 0,05 µg/l à laquelle les performances analytiques actuelles nous permettent d'accéder (*Graphique n°1*).



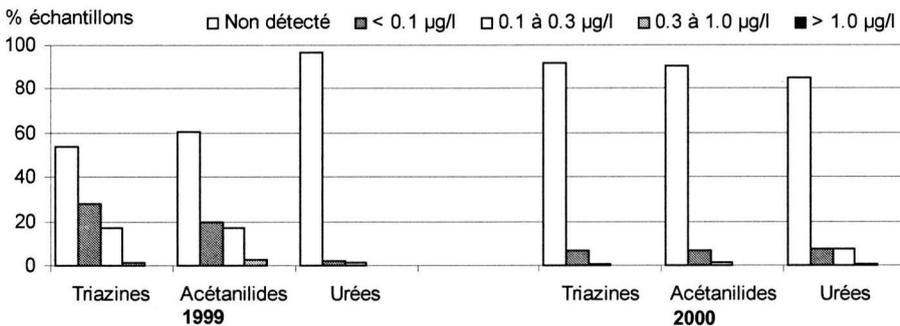
Graphique n° 1 : Evolution des détections 1999-2000

Toutefois pour assurer une meilleure lisibilité, l'analyse des résultats s'est concentrée sur les 3 familles chimiques les plus utilisées sur le bassin (désherbage des céréales et du maïs) : les triazines (atrazine et métabolites), les urées substituées (isoproturon) et les acétanilides (alachlore, métolachlore, diméthénamid).

4.1 En terme de concentrations

Les données 1998 bien que disponibles ne sont pas présentées par souci de cohérence puisque cette année-là, la limite de quantification n'était pas fixée à 0,05µg/l pour toutes les substances actives.

Il apparaît (*Graphique n°2*) entre 1999 et 2000 une diminution des détections en fréquence et en niveaux à l'exception des urées pour lesquelles il faut mentionner un effet assolement (+10% surfaces d'utilisation). Ainsi, le taux de non détection est passé de 55 à 90% pour les triazines et de 60 à 90% pour les acétanilides. De même, pour ces 2 familles, les valeurs supérieures à 0.3 µg/l ont disparu.



Graphique n° 2 : Fréquences et taux de détections sur la période 1999-2000

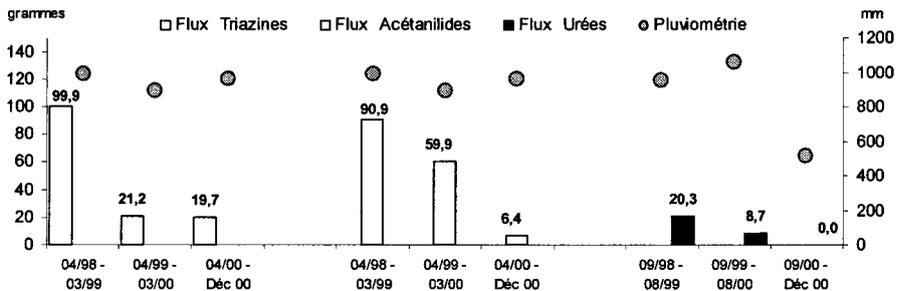
Le constat que l'on peut porter aujourd'hui indique que d'autres molécules ont pu être retrouvées dans les eaux à l'exutoire comme le fluoxypyr, le trichlopyr, le bromoxynil, la bentazone, la pendiméthaline, le glyphosate, le 2,4-D ou le MCPA. Elles apparaissent de façon épisodique et semblent globalement corrélées à des utilisations ponctuelles (désherbage de bordures de parcelles par exemple) et à des pratiques liées à la substitution d'autres substances actives.

Il s'agit notamment d'herbicides non sélectifs utilisés sur bordures de parcelles ou encore d'herbicides dont l'apparition est liée aux modifications des stratégies de désherbage (par exemple, désherbage anti-dicotylédones en post-levée pour pallier à la suppression de l'atrazine en pré-levée).

Ce constat illustre les limites du principe de substitution de substances actives lorsque celle-ci ne s'inscrit pas dans une démarche globale déclinant un ensemble de solutions correctives.

4.2 En terme de flux

Pour les 3 principales familles chimiques, les flux exportés (*Graphique n°3*) montrent une tendance marquée à la décroissance sur les 3 ans en dépit d'une pluviométrie plus élevée en 1999 et 2000 (près de 1000 mm contre environ 780 mm en moyenne).

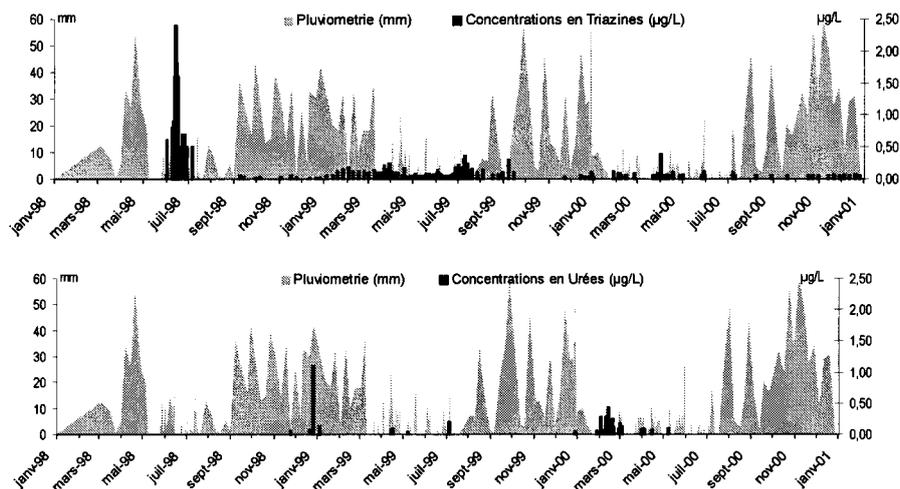


Graphique n° 3 : Flux moyens à la campagne culturale

Les quantités totales ayant pu fuir hors des parcelles et du bassin versant ont été divisées par 5 pour les triazines entre 1998 et 2000 et ont également connu une forte décroissance pour les acétanilides et les urées. Ces transferts restent extrêmement faibles puisqu'ils ne représentent à la sortie du Bassin Versant que des pourcentages infimes, inférieurs à 0.2% des quantités apportées sur le bassin en triazines, urées ou acétanilides.

Notons par ailleurs que le graphique n°3 présente des résultats incomplets pour la campagne 2000-2001 et qu'il existe un effet non négligeable de l'assolement sur ce bassin versant.

En terme de saisonnalité des détections, les triazines ont été présentes de façon étalée dans le temps à l'exception de l'année 1998 où elles ont été détectées de façon ponctuelle (*Graphique n°4*) ; leur fréquence d'apparition en 2000 est beaucoup plus erratique. Pour les acétanilides, il est observé un phénomène similaire à celui des triazines, quant aux urées, leur présence n'est notable qu'autour des périodes de traitement.



Graphique n°4 : saisonnalité des flux de triazines et des urées

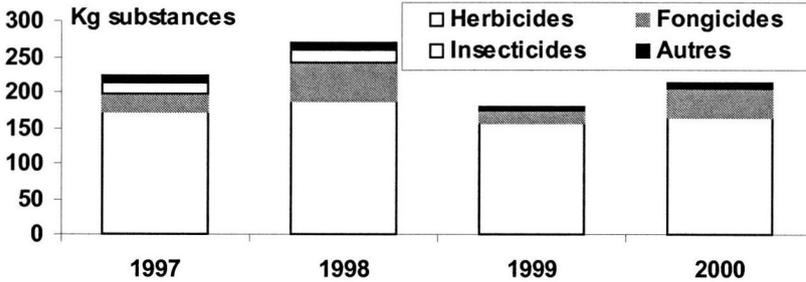
5. Comment expliquer ces résultats ?

La mise en place du plan d'action a permis de faire évoluer positivement les résultats en luttant à la fois contre les sources ponctuelles et les sources diffuses de contamination des eaux.

L'adhésion de l'ensemble des acteurs et des élus a permis une mobilisation et une dynamique autour d'actions concrètes, dans le cadre de la réglementation existante. Transparence, volontariat et solidarité sur un territoire sont les principes de base des actions menées dans le cadre de cette expérimentation.

5.1 Modification des pratiques

Des réunions d'information et de sensibilisation ont accompagné les opérations de diagnostic des pulvérisateurs. Les thèmes abordés en salle et sur le terrain ont concerné entre autre l'utilisation des produits phytosanitaires, l'importance des pratiques culturales, les modes de désherbage du maïs et des céréales, les modalités d'application de l'"arrêté atrazine", l'entretien du bocage et la gestion des bords de parcelles.

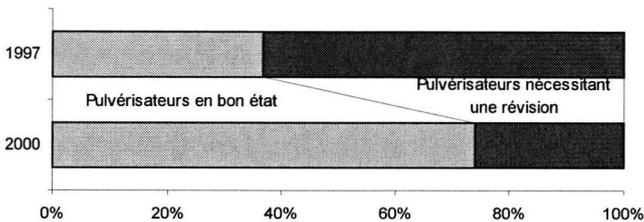


Graphique n° 5 : Evolution des quantités de substances utilisées sur le Bassin

L'ampleur de cette sensibilisation des agriculteurs s'est traduite notamment par une meilleure gestion des quantités de matières actives utilisées sur le Bassin Versant (Graphique n°5). Sur ce graphique, les années sont comparables deux à deux du fait des assolements. Ainsi, les années 1997 et 1999 sont à dominante maïs alors que les années 1998 et 2000 sont plutôt des années "blé".

5.2 Amélioration du parc matériel

Demandé par les agriculteurs, le diagnostic des pulvérisateurs a démarré dès l'année 1998. Il a été réalisé selon un protocole établi par le CRODIP (Comité Régional d'Organisation des Diagnostics de Matériel de Protection des Cultures). Le travail de mise en conformité du parc matériel, sous l'égide de l'ITCF et de la FDCUMA a débuté en 1999 et s'est poursuivi en 2000. L'implication des agriculteurs est forte : 19 des 20 pulvérisateurs utilisés sur le bassin versant ont fait l'objet d'une visite de diagnostic depuis le début de l'action.



Graphique n° 6 : Evolution du parc matériel

A ce jour, la situation se présente de la façon suivante (Graphique n°6) :

- 7 pulvérisateurs sont en état de fonctionnement correct et ont été diagnostiqués en bon état de fonctionnement dès les premières visites.
- 6 pulvérisateurs ont été diagnostiqués en bon état de fonctionnement lors des secondes visites.

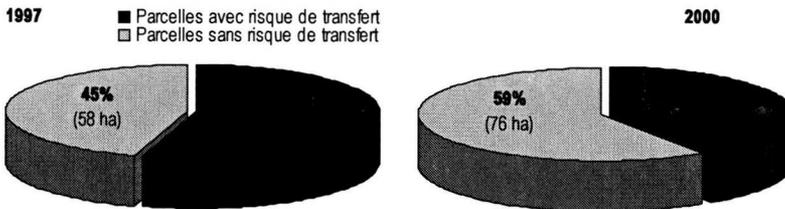
L'installation de cuves de rinçage sur les pulvérisateurs a également été considérée comme prioritaire. La mise en œuvre de ces installations a progressé en 2000 : 7 pulvérisateurs sont aujourd'hui équipés d'une cuve de rinçage.

5.3 Aménagement de l'espace

Les risques de contamination par pollution diffuse mettent en œuvre des mécanismes complexes. Les caractéristiques du milieu (*topographie, battance, hydromorphie, profondeur et nature des sols*) et les caractéristiques culturelles (*couverture et travail du sol*) jouent un rôle important dans les transferts de produits phytosanitaires. La circulation de l'eau dans le sol et sur le territoire est le vecteur principal de transfert des produits appliqués. Le comportement des produits n'est pas déterminé uniquement par leurs caractéristiques mais aussi leurs interactions avec le milieu.

C'est la zone centrale du bassin versant qui présente la plus grande vulnérabilité. Elle cumule en effet la proximité des cultures vis à vis de l'eau, un paysage ouvert avec de grandes parcelles et la présence de circulations latérales d'eau à faible profondeur mais aussi localement de réseau de drainage. C'est dans cette zone que les premières actions correctives ont été mises en œuvre dès 1999. Aujourd'hui, les aménagements concernent 9 bordures de parcelles et 6 agriculteurs. Ils se sont concrétisés par la création de 5 zones tampons enherbées, l'installation de 2 haies et l'adoption du désherbage mécanique des bords de clôture et bords d'étang. L'arrêté préfectoral concernant l'utilisation de l'atrazine s'est appliqué en 1999 sur les parcelles concernées dans le bassin versant expérimental (arrêté du 31 Mars 1998).

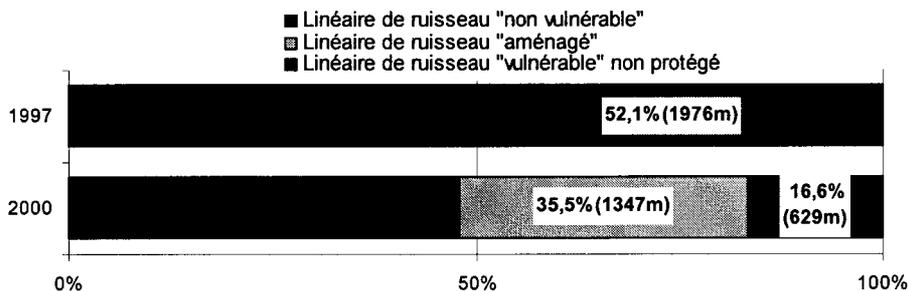
Poursuivant l'objectif prioritaire de reconquête de la qualité de l'eau et suite au diagnostic initial, une décharge sauvage a été éliminée. De plus certaines parcelles identifiées comme "à risque" ont été aménagées notamment pour faire barrière au ruissellement ce qui a permis leur reclassement (*Graphique n°7*). Ainsi, entre 1997 et 2000 on passe de 45% à près de 60% du parcellaire sans risque de transfert.



Graphique n° 7 : Evolution du niveau de risque des parcelles du Bassin Versant

Cela revient à dire que l'aménagement des rives du ruisseau, qui au départ de l'action ne possédait aucune protection, a été repensé sur toute sa longueur (*Graphique n°8*). De ce fait, sur les 1976 mètres de ruisseau identifiés

comme "vulnérables", 1347 mètres ont été "aménagés" pour réduire ce caractère de vulnérabilité.



Graphique n° 8 : Evolution de la vulnérabilité du ruisseau La Fontaine du Theil

Conclusions et perspectives

Cette action pluriannuelle lancée pour 5 ans n'est pas encore arrivée à son terme. Elle s'inscrit dans une perspective démarrée avec la prise en considération des zones les plus sensibles (de la partie centrale du bassin) ce qui a doré et déjà conduit à une amélioration nette de la qualité des eaux à l'exutoire du bassin. Elle doit se poursuivre par l'extension à l'ensemble du bassin des démarches engagées sur ces zones les plus sensibles.

D'autres actions restent à réaliser comme par exemple :

- l'aménagement plus général du paysage avec la reconstitution des talus et des haies en accord avec les acteurs locaux,
- la recherche de techniques appropriées pour entretenir les rives et talus,
- la gestion et l'utilisation des produits de protection des plantes au siège de l'exploitation (création de locaux stockage et d'aires de remplissage par exemple).

Le succès de la démarche CORPEN n'est pas seulement dans l'obtention de bons résultats sur une période courte mais aussi dans la mise en place de mesures conservatoires aptes à reconquérir la qualité de l'eau de façon durable. Ce projet montre la faisabilité des recommandations élaborées par le CORPEN dans la mesure où les agriculteurs s'approprient cette démarche de progrès avec le soutien de la profession agricole. Toutefois, tout utilisateur potentiel de produits de protection des plantes doit y souscrire sous peine de remettre en cause la qualité et la pérennité des résultats obtenus.

Cette démarche porte en elle l'assurance du développement de l'agriculture durable et raisonnée à laquelle AGPM-TECHNIQUE, la profession agricole dans son ensemble et bien sûr l'UIPP apportent leurs soutiens et leurs actions. Elle semble pouvoir être généralisée à d'autres régions tout en devant être adaptée aux conditions locales d'exploitation.

Un des enseignements de cette étude réside dans la mise en évidence du succès possible d'actions pratiques et concrètes appuyées sur une connaissance scientifique et technique importante des molécules phytosanitaires et du milieu. Toutefois, une meilleure compréhension des mécanismes d'interactions entre les substances actives et l'environnement dans lequel elles évoluent permettrait d'anticiper les phénomènes de comportement des produits dans le milieu et ainsi d'en optimiser l'utilisation.

Bibliographie

CORPEN :

Protection des cultures et prévention des risques de pollution des eaux par les produits phytosanitaires en Agriculture – Recommandations générales (Groupe Phytoprat, juin 1995).

Techniques d'application et de manipulation des produits phytosanitaires utilisés en Agriculture – Eléments pour prévenir les risques de pollution des eaux (Groupe TAM, octobre 1996).

Dispositifs enherbés : un moyen de lutte contre la pollution des eaux par les produits phytosanitaires (Groupe Dispositifs enherbés, 1998).

Désherbage – Eléments de raisonnement pour une maîtrise des adventices limitant les risques de pollution des eaux par les produits phytosanitaires (Groupe Phytoprat, juin 1999).

GUYOT Christian, **FAGOT** Marc, **GRIL** Jean-Joël, **MICHEL** Philippe, **REAL** Benoit, **THIERRY** Joël, **TOURNAYRE** Jean-Claude, Le petit bassin versant expérimental : un outil pour comprendre et maîtriser la pollution des milieux aquatiques par les produits phytosanitaires, XXIXe congrès du Groupe Français des Pesticides, Mai 1999, pages 144 à 149.

THIERRY Joël, La mise en œuvre d'une démarche de diagnostic parcellaire et territorial sur le bassin versant expérimental de la Fontaine du Theil, Colloque AFPP "Qualité des eaux et produits phytosanitaires : Les actions pour la protection des eaux", Mars 2000.

PREFECTURE de l'Ille-et-Vilaine, arrêté relatif à l'utilisation des produits antiparasitaires à usage agricole contenant de l'atrazine, Rennes, le 31 mars 1998.

Adaptation d'une méthode de diagnostic phytosanitaire à la région Poitou-Charentes

Fany BOMBARDE

Direction Régionale de l'Agriculture et de la Forêt

Service de la Protection des Végétaux - 13, route de la Forêt

86 580 BIARD

Tél. : 05.49.62.98.25 – Fax : 05.49.62.98.26

e-mail : fany.bombarde@agriculture.gouv.fr

Juin 2001

Résumé : Face aux demandes croissantes d'outils de diagnostic des risques de pollution des eaux par les produits phytosanitaires, le GRAP Poitou-Charentes (Groupe Régional d'Actions contre la Pollution par les produits phytosanitaires) a décidé de doter la région d'outils de diagnostic phytosanitaire.

Sous maîtrise d'ouvrage FREDEC Poitou-Charentes, l'étude d'adaptation de la méthode de diagnostic phytosanitaire a été suivie par un comité regroupant les différents membres du GRAP concernés par le sujet : administrations, chambres d'agriculture, instituts techniques agricoles, distribution, UIPP...

Le GRAP a choisi d'orienter dans un premier temps l'étude au niveau parcellaire ; le niveau territorial sera étudié ultérieurement. La démarche CORPEN a été retenue, en particulier du fait de la prise en compte à la fois du milieu et des pratiques, et de l'implication de l'agriculteur.

La phase d'adaptation de cette démarche est passée par la rédaction de documents permettant la réalisation du diagnostic au niveau d'une exploitation agricole : guide méthodologique, documents de saisie et de compte-rendu... Ces documents ont été testés sur vingt exploitations agricoles, représentatives des systèmes de production et des types de sols présents dans la région. D'autres manuels seront rédigés afin de faciliter le diagnostic : guide pédologique, grille de solutions...

Mots-clés : diagnostic, produits phytosanitaires, CORPEN, GRAP Poitou-Charentes, exploitation agricole.

Introduction

Depuis une dizaine d'années, la recherche dans les eaux, des substances actives composant les produits phytosanitaires, s'est largement développée en Poitou-Charentes. On aboutit ainsi à un constat de la dégradation de la qualité de l'eau, les dépassements des normes eau potable devenant de plus en plus fréquents. La mise en place de plans d'actions de reconquête de la qualité de l'eau devient donc urgente. Cependant, avant de se lancer dans l'élaboration de ces plans d'actions, il est nécessaire de comprendre quelles sont les causes de la pollution, afin de pouvoir proposer les solutions les plus adaptées. Pour cela, la mise au point d'une méthode de diagnostic, applicable en Poitou-Charentes, est nécessaire.

1. La méthodologie régionale de diagnostic

1.1 Le GRAP Poitou-Charentes

Le Groupe Régional d'Action contre les Pollutions par les produits phytosanitaires a été créé le 13 mai 1997 par le Préfet de la Région Poitou-Charentes. Le GRAP est animé par le Directeur Régional de l'Agriculture et de la Forêt ; son secrétariat est confié au Service Régional de la Protection des Végétaux.

Le GRAP Poitou-Charentes s'est donné pour objectifs l'observation des phénomènes de pollution de la ressource et des milieux aquatique, la compréhension des mécanismes mis en jeu et la définition d'une stratégie corrective appropriée.

Pour ce faire, il associe très largement les divers organismes et administrations de la région concernés par la pollution des eaux.

Le programme arrêté par les membres du GRAP comporte trois axes de réflexion et d'action. Le premier porte sur l'analyse du risque et le suivi des contaminations, le deuxième sur le diagnostic et le troisième traite des actions à promouvoir auprès des divers opérateurs, après adaptation locale et validation, pour limiter les pollutions ponctuelles et diffuses.

Le diagnostic représente la priorité actuelle du GRAP. En effet, il constitue l'élément indispensable entre la surveillance et l'évolution des pratiques. C'est lui qui doit permettre d'orienter et de proposer des solutions aux éventuels problèmes rencontrés sur le territoire.

La mise en place d'une démarche régionale est indispensable avant la conduite des diagnostics.

1.2 La démarche de diagnostic retenue

La démarche régionale proposée par le GRAP Poitou-Charentes se décompose en trois étapes successives et peut se traduire par : observer – comprendre – agir.

1.2.1 Observer

Au niveau régional, le réseau de surveillance phytosanitaire a été configuré en 1999. Sa mise en place a été effective pour les eaux superficielles en juin 2000 ; la partie eaux souterraines doit débuter mi 2001. Ce réseau a pour objectif l'appréciation de la nature et de l'importance des pollutions phytosanitaires des eaux à l'échelle régionale, afin de déterminer des zones prioritaires. Sur ces territoires, des investigations complémentaires et une sensibilisation des acteurs locaux devront aider à la mise en place d'actions correctives.

Parallèlement à l'acquisition de données grâce au réseau de surveillance, le GRAP permet la mise en commun de tous les résultats d'analyses d'eau concernant les produits phytosanitaires au niveau régional (mesures conduites par les DDASS (contrôle sanitaire), par la DIREN et les Agences de l'Eau (surveillance des milieux aquatiques), par la Région (réseau régional de surveillance de la qualité des nappes)...). Toutes ces données permettront d'affiner la définition des zones les plus sensibles, sur lesquelles il sera nécessaire de conduire des plans d'actions.

1.2.2 Comprendre

La mise en évidence de contaminations des eaux par les produits phytosanitaires conduit à la réalisation d'un diagnostic, permettant de définir le contenu du plan d'actions.

Le diagnostic phytosanitaire constitue un moyen d'identification du risque environnemental lié à l'utilisation des produits phytosanitaires. Sa mise en œuvre peut être déclinée en deux phases, en fonction de l'échelle considérée.

L'échelle territoriale relative aux bassins versants et aux zones d'alimentation des aquifères représente l'unité géographique sur laquelle il convient de comprendre et de localiser l'origine de la pollution. L'échelle de l'exploitation agricole, quant à elle, permet d'affiner le diagnostic phytosanitaire en identifiant les situations à risque sur les parcelles agricoles et au niveau des pratiques de l'agriculteur. C'est à ce niveau que des mesures correctives seront envisagées.

1.2.3 Agir

Selon les résultats des diagnostics (territorial et parcellaire), des propositions d'actions seront faites aux agriculteurs concernés : aménagement du territoire (dispositifs enherbés, talus, haies...), changement de pratiques (techniques alternatives de désherbage...), substitutions de substances... Ces propositions devront prendre en compte à la fois les préoccupations environnementales et les préoccupations économiques des agriculteurs.

2. L'étude d'adaptation d'une méthode de diagnostic

2.1 Le choix de l'échelle de travail

Face aux demandes croissantes d'outils d'évaluation des risques de pollution des eaux par les produits phytosanitaires, le GRAP a confié l'étude d'adaptation d'une méthode de diagnostic à la fédération régionale de défense contre les ennemis des cultures (FREDEC Poitou-Charentes). Un groupe de suivi, dont la composition est large (Agences de l'Eau Adour-Garonne et Loire-Bretagne, AGPM, Agrotransfert, BNIC, Cetiom, Chambres d'Agriculture départementales et régionale, DIREN, DRAF, DRASS, Conseil Régional, FRCA, fédération régionale

du négoce, ITCF, UIPP, UNCAA), a été constitué. Il a pour mission d'encadrer et d'orienter le travail conduit par la FREDEC.

Devant le faible nombre de méthodes recensées concernant l'échelle territoriale, le groupe de suivi a décidé d'axer dans un premier temps le travail de la FREDEC sur l'échelle parcellaire. L'approche territoriale sera étudiée ultérieurement, dans le cadre d'une autre étude.

2.2 La démarche CORPEN

La démarche proposée par le CORPEN (brochure désherbage, éléments de raisonnement pour une maîtrise des adventices limitant les risques de pollution des eaux par les produits phytosanitaires, groupe Phytopratt, juin 1999) a été retenue par le groupe de travail du GRAP car elle présente un certain nombre d'avantages :

- Elle émane d'une instance nationale, où presque tous les organismes présents au sein du GRAP Poitou-Charentes ont un représentant.
- Elle prend en compte à la fois les eaux superficielles et les eaux souterraines, ce qui est intéressant par rapport au contexte de la région, où les deux types de ressource sont présents.
- Elle a une approche à double entrée : prise en compte à la fois des caractéristiques du milieu et de celles des produits phytosanitaires utilisés.
- Elle est adaptable dans la mesure où on peut choisir les paramètres qu'on veut suivre.
- Elle intègre à la fois les pollutions ponctuelles et les pollutions diffuses.
- Elle est mise en œuvre sur le terrain.
- Elle implique l'agriculteur.

Les deux derniers critères sont parmi les plus importants dans le choix de la démarche CORPEN. En effet, il semblait primordial au groupe de suivi que les agriculteurs participent activement à ce diagnostic, donnent leur avis... afin qu'ils puissent se sentir effectivement concernés.

3. Le guide de diagnostic

3.1 La composition du guide

La FREDEC Poitou-Charentes a rédigé un guide permettant de mettre en œuvre dans une exploitation agricole la démarche de diagnostic CORPEN. Ce guide a pour objectif de faciliter la réalisation du diagnostic, en faisant remarquer à l'agriculteur et au technicien conduisant le diagnostic, les points à noter.

Le guide de diagnostic comprend plusieurs parties, traitant des pollutions ponctuelles ou des pollutions diffuses.

Au niveau de l'exploitation agricole, le système de production, les grands types de sols, les pratiques culturales (travail du sol, traitements phytosanitaires...) et les modalités de mise en œuvre des traitements sont recensés. Ensuite, pour chaque parcelle, les caractéristiques précises du sol, l'environnement de la parcelle et la circulation de l'eau sont identifiés.

3.2 La phase de test

Afin de voir si le document réalisé s'applique réellement aux différentes contraintes du terrain, une phase de test sur des exploitations agricoles a été lancée.

Coordonnée par la FREDEC et la chambre régionale d'agriculture, cette phase de test s'est déroulée sur 20 exploitations agricoles de la région. Ces exploitations ont été choisies en fonction de leur système de production et du type de sol sur lequel elles se trouvent. Ainsi, le guide a pu être testé sur les différents systèmes de production existant dans la région Poitou-Charentes (céréalière, viticulteur, éleveur, maraîcher...) et sur les principaux types de sol présents (terres de groies, terres rouges à châtaignier...).

Conduits par différents organismes (AGPM, CETIOM, chambres d'agriculture, coopérative agricole, FREDEC, ITCF, SRPV, UIPP...), ces tests ont eu lieu en trois phases. Deux premières, respectivement sur 4 et sur 8 exploitations agricoles, ont été réalisées en binôme, afin de faire participer un maximum d'intervenants et de pouvoir faire évoluer au mieux le document de diagnostic. La troisième phase de 8 diagnostics a été menée en conditions réelles, c'est-à-dire par un intervenant unique.

Entre les différentes phases, le guide de diagnostic a été modifié et adapté aux contraintes rencontrées sur le terrain. Il a ainsi considérablement évolué entre le premier et le dernier diagnostic test.

3.3 La forme actuelle du guide

Actuellement, le guide comporte 4 parties (la dernière réunion, suite à la troisième phase de test, n'a pas encore eu lieu) :

- description de l'exploitation agricole et des pratiques de l'agriculteur (généralités, fiches descriptives par îlot et par itinéraire technique...);
- éléments de synthèse ;
- ensemble des propositions pouvant être faites à l'agriculteur ;
- liste des propositions acceptées par l'agriculteur avec motivation d'éventuels refus.

D'autres documents sont en cours de réalisation afin d'aider le technicien conduisant le diagnostic. Ainsi, un document méthodologique pour la réalisation du diagnostic, une grille des solutions pouvant être proposées, des fiches d'aide (sur le pulvérisateur, les couleurs de buses...), un guide pédologique... pourront être proposés pour faciliter le diagnostic.

Conclusion

L'adaptation d'une méthode de diagnostic phytosanitaire à la région Poitou-Charentes s'est traduite par la réalisation d'un guide permettant la conduite du diagnostic, selon la démarche CORPEN, au niveau d'une exploitation agricole. Un certain nombre de points restent à étudier : qui fera ces diagnostics ? Dans quel cadre ? Comment former les techniciens à cet outil ?... Autant de questions auxquelles il faudra répondre concernant le diagnostic au niveau de l'exploitation agricole avant de passer à la mise en place d'une méthode de diagnostic territoriale. Cependant, toutes ces études ne doivent pas nous faire oublier le véritable objectif du travail du GRAP Poitou-Charentes qui est la mise en place de plans d'actions de maintien ou de reconquête de la qualité de l'eau sur des territoires sensibles, contaminés effectivement ou potentiellement par des produits phytosanitaires.

La méthode de diagnostic parcellaire du risque de contamination des eaux superficielles par les produits phytosanitaires en Bretagne : fondements et mise en œuvre.

The diagnosis of the risk of pesticides transfer in superficial waters : the bases and the implementation of the method developed in Bretagne Region (France)

Florence LAUBIER
Service Régional de la Protection des Végétaux (S.R.P.V.)
280, rue de Fougères - B.P. 60116
35 701 RENNES CEDEX 7
Tél. : 02.99.87.45.87
Fax : 02.99.38.89.41
E-mail : srpv.draf-bretagne@agriculture.gouv.fr

Résumé : La présence de pesticides dans les cours d'eau bretons est mise en évidence par les travaux de la CORPEP dès 1990. Cette contamination se révèle vite persistante, atteignant des concentrations élevées en particulier pour les désherbants des grandes cultures (atrazine et isoproturon).

Au moment où le CORPEN élabore une démarche parcellaire de réduction du risque de transfert des pesticides dans l'eau, la CORPEP met au point une méthode de diagnostic parcellaire du risque de transfert applicable aux bassins du programme « Bretagne Eau Pure II ».

Construites sur une même base scientifique, les deux méthodes ne s'opposent pas. La méthode CORPEP est spécifique. Sa spécificité est liée au contexte hydrogéologique particulier de la Bretagne d'une part, à l'ampleur du territoire sur lequel elle s'applique d'autre part. Cette spécificité s'exprime à la fois à travers la construction de la méthode et par le choix des facteurs.

Les éléments justifiant des choix opérés dans la construction de la méthode sont précisés. La réalisation du diagnostic ainsi que son état d'avancement à grande échelle sont présentés.

Abstract : *The presence of pesticides in the rivers of Bretagne Region (France) has been underlined at the beginning of the nineties by the CORPEP works.*

This pollution turned out to be persistent and likely to reach high levels, especially for a few herbicides used on grain crops (atrazine and isoproturon).

As the CORPEN developed a plot scale method to minimize the transfer risk of pesticides in water, the CORPEP finalized a specific method intended to the watersheds of the « Bretagne Eau Pure » program, but with the same object. The two methods, however, have the same scientific basis. The CORPEP method is specific to the region, in relation to its hydrological and geological characteristics, and the large area of its application.

The construction of the CORPEP method and the factors selection are explained. The implementation of the diagnostic is described and a progress report of the method in Bretagne region is given.

Mots clés : pesticides, CORPEP, désherbants, atrazine, isoproturon, démarche parcellaire, risque de transfert, Bretagne .

Keywords : pesticides, Bretagne, CORPEP, atrazine, isoproturon, plot scale method, transfer risk .

MAITRISE DU RISQUE DE TRANSFERT DES PRODUITS PHYTOSANITAIRES DANS LES EAUX SUPERFICIELLES :

LA METHODE DE DIAGNOSTIC PARCELLAIRE ADOPTEE EN BRETAGNE

En Bretagne, la contamination des cours d'eau par les produits phytosanitaires est analysée et suivie rigoureusement depuis plus de dix ans. C'est en particulier le cas au travers des études de la CORPEP¹⁴, groupe régional chargé de la lutte contre la pollution des eaux par les produits phytosanitaires mis en place en 1990 par le Préfet de Région.

Mise en évidence en 1990, la présence de pesticides dans les eaux s'est rapidement révélée persistante, atteignant pour certaines substances actives des niveaux élevés de concentration. Dans le même temps, des travaux sur les mécanismes de transfert et leur impact à différentes échelles (parcelle, bassin versant) étaient menés au sein de la CORPEP. La méthode de diagnostic à la parcelle du risque de transfert des produits phytosanitaires est issue de ces travaux.

Au moment où la « méthode CORPEP » était adoptée en Bretagne, des travaux sur le risque parcellaire étaient conduits par le CORPEN¹⁵. Ces travaux aujourd'hui publiés présentent une démarche basée sur l'établissement d'un risque parcellaire par rapport à la contamination des eaux. Intégrant le risque agronomique et transposable à des contextes locaux variés, la démarche du CORPEN est aujourd'hui préconisée au niveau national. Les deux démarches ne s'opposent pas. Mais l'application à grande échelle de la « méthode CORPEP » en Bretagne et l'obtention de premiers résultats encourageants justifient de poursuivre sa mise en œuvre au niveau régional.

14 CORPEP : Cellule d'Orientation Régionale pour la Protection des Eaux contre les Pesticides.

15 CORPEN : Comité d'Orientation pour la Réduction de la Pollution des Eaux par les Nitrates, les phosphates et les produits phytosanitaires provenant des activités agricoles.

1. Deux polluants majeurs des cours d'eau visés : L'atrazine et l'isoproturon

1.1 L'atrazine, polluant le plus fréquemment retrouvé dans l'eau depuis 1990

Parmi les multiples substances actives présentes dans les eaux superficielles de Bretagne, l'atrazine, désherbant de base du maïs, constitue la substance active la plus fréquemment retrouvée. Elle est aussi la plus suivie. Les premiers travaux de la CORPEP ont très rapidement révélé sa présence possible dans l'eau à tout moment de l'année.

Année	Nombre de recherches	Nombre de détections/nombre de recherches (%)	Nombre de détections > 0,1 µg/l / nombre de recherches (%)	Maximum relevé
1990	28	93%	79%	6,8 µg/l (25/06)
1991	20	80%	70%	3,1 µg/l (09/07)
1992	24	88%	83%	14,7 µg/l (01/07)
1993	15	100%	100%	14,8 µg/l (10/06)
1994	24	88%	79%	11 µg/l (18/07)
1995	17	100%	88%	5 µg/l (03/07)
1996	63	94%	86%	8,4 µg/l (17/05)
1997	51	100%	96%	29 µg/l (16/06)
1998	62	94%	81%	4,1 µg/l (10/06)
1999	70	93%	66%	6,3 µg/l (19/05)
2000	77	94%	60%	11,1 (10/05)

Tableau n° 1 : Atrazine : résultats réseau CORPEP eaux brutes

Le tableau 1 fournit les résultats des études de la contamination des eaux superficielles de Bretagne par les produits phytosanitaires menées dans le cadre de la CORPEP depuis 1990. Les chiffres parlent d'eux-mêmes. Chaque année, l'atrazine est détectée dans plus de 80% des prélèvements effectués dans les rivières, les valeurs maximales atteignant parfois plusieurs microgrammes par litre (prélèvements réalisés après des précipitations supérieures à 10mm cumulés sur 24 heures). Ces résultats soulignent la nécessité de mettre en œuvre des traitements spécifiques pour fournir une eau conforme aux limites réglementaires en vigueur (voir tableau 2).

Pour les eaux brutes utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine, il n'existe de valeur réglementaire que pour trois substances : parathion, HCH et dieldrine (voir annexe I.3 et annexe III du décret n°89-3 du 03/01/89).

Les limites réglementaires appliquées aux eaux distribuées (eaux destinées à la consommation humaine) sont :

✓ Une valeur de 0,1µg/l fixée par substance individualisée, à l'exception de l'aldrine, de la dieldrine (0,03µg/l chacune) et de l'heptachlore et de l'époxyde d'heptachlore (0,01µg/l chacun).

✓ Une valeur de 0,5µg/l pour le total des substances mesurées.

Des contrôles sanitaires sont conduits en particulier par les DDASS pour s'assurer de la conformité des eaux traitées avant distribution.

Précisons que des concentrations maximales admissibles sont établies par l'OMS. Elles sont calculées à partir de résultats d'études toxicologiques sur mammifères. Elles n'ont pas de valeur réglementaire.

Tableau n° 2 : Limites réglementaires pour les pesticides dans l'eau¹⁶

1.2 L'isoproturon sur les traces de l'atrazine

En 1995, une étude CORPEP met pour la première fois en lumière une contamination des eaux par l'isoproturon, désherbant de base des céréales dans la région.

Année	Nombre de recherches	Nombre de détections/nombre de recherches (%)	Nombre de détections > 0,1µg/l /nombre de recherches (%)	Maximum relevé
1990	0	/	/	/
1991	0	/	/	/
1992	19	47%	26%	0,4µg/l (03/06)
1993	15	67%	33%	0,4µg/l (26/03)
1994	6	100%	50%	0,4µg/l (20/05)
1995	15	80%	53%	0,3µg/l (17/05)
1996	30	83%	77%	1,7µg/l (26/02)
1997	19	89%	63%	0,5µg/l (23/12)
1998	60	63%	35%	5,4µg/l (04/03)
1999	40	75%	58%	7,7µg/l (09/02)
2000	77	31%	27%	0,8µg/l (07/07)

Tableau n° 3 : Isoproturon : résultats réseau CORPEP eaux brutes

¹⁶ Décret n° 89-3 du 3 janvier 1989 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales naturelles (J.O. du 4 janvier 1989).

Le tableau 3 montre que le milieu des années 90 constitue une période charnière. La présence de l'isoproturon dans l'eau des rivières est dès lors régulièrement confirmée. Les fréquences de détection de la molécule resteront à des niveaux élevés les années suivantes. Les valeurs maximales peuvent atteindre, là encore, plusieurs microgrammes par litre, sans toutefois dépasser la valeur-guide OMS de 9 µg/l.

1.3 Deux principaux désherbants sur les deux cultures les plus implantées en Bretagne

	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Maïs	23,4	24,8	25,6	25,9	26,6	24,4	25,3	24,7	24	23,4
Céréales	20,5	21,2	23,6	20,6	19,4	21,4	22,2	23,3	23,9	23,8
Total	43,9	46	49,2	46,5	46	45,8	47,5	48	47,9	47,2

*Tableau n°4 : Bretagne, utilisation du territoire
(en % de la Superficie Agricole Utilisée)*

Le tableau 4 donne les proportions respectives du maïs (maïs fourrage + maïs grain) et des céréales (hors maïs grain) dans la superficie agricole utilisée de 1990 à 1999 (source : Agreste – Statistique Agricole Annuelle). L'ensemble maïs et céréales représente suivant les années de 44 à 48% de la superficie agricole autorisée. La place significative occupée par ces deux cultures contribue à accroître le risque de présence des herbicides dans les eaux superficielles (MICHEL, 2001).

En Bretagne, l'atrazine et l'isoproturon restent les principaux désherbants du maïs et des céréales respectivement. Concernant l'atrazine, malgré des évolutions récentes, une étude conduite par le Service Régional de la Protection des Végétaux de la DRAF de Bretagne en 2000 fait apparaître qu'elle est utilisée sur plus de 75% des parcelles, à la dose moyenne de 750 g/ha.

1.4 L'orientation retenue pour la région : prendre en compte l'aspect parcellaire du risque

Pour améliorer la qualité des eaux brutes vis-à-vis de certains produits phytosanitaires qui posent problème, deux solutions sont envisageables : interdire leur utilisation par arrêté préfectoral, ou cadrer leur utilisation en évitant les usages à risque.

En Bretagne, le choix s'est porté sur la gestion des itinéraires de désherbage en fonction du risque de transfert du produit appliqué à la parcelle. A partir d'une meilleure connaissance des mécanismes de transfert, une méthode de diagnostic parcellaire du risque de transfert des produits phytosanitaires a été mise au point.

Ajoutons que cette orientation se retrouve dans la réglementation locale. Les projets d'arrêtés préfectoraux applicables aux usages du dinoterbe intégraient dès 1997 le risque de transfert spécifique aux parcelles en bordure de cours d'eau. Des arrêtés pris dans les quatre départements bretons et actuellement en vigueur réglementent les usages de l'atrazine en fonction d'un risque parcellaire lié à la proximité au cours d'eau (interdiction de l'usage de l'atrazine dans les parcelles situées à moins de 15 mètres du cours d'eau).

2. Une méthode qui privilégie les mécanismes de transfert rapide

Les travaux du CEMAGREF et de l'INRA sur le bassin versant du Coët-Dan en Bretagne montrent que les voies de transfert de la substance active vers le cours d'eau diffèrent selon la situation : en crue ou hors crue (CANN, 1995 ; GASCUEL et MOLENAT, 2000).

Hors des périodes de crue, l'atrazine est détectée dans l'eau à de faibles concentrations (maximum : 0,3µg/l). Elles correspondent au transfert dans le sol par lessivage de la molécule jusqu'à la nappe et à la vidange de la nappe relativement superficielle qui alimente le débit de base du cours d'eau.

En période de crue, les concentrations en atrazine mesurées dans l'eau sont fonction de la proximité des dates de traitements. Les pics de concentration les plus élevés (plusieurs dizaines de µg/l) sont évidemment mesurés lors des crues survenant quelques jours après les traitements. Ces très fortes concentrations résultent à la fois du ruissellement se produisant à la surface du sol, des écoulements par les eaux de drainage et des écoulements par les nappes superficielles (quelques dizaines de mètres maximum). Les transferts par lessivage sont alors négligeables.

La méthode de diagnostic du risque de transfert des produits phytosanitaires à la parcelle vise avant tout à écriéter des pics de concentration de plusieurs µg/l. Elle a pour objectif la limitation du risque de transfert rapide des produits phytosanitaires dans l'eau. Elle privilégie donc les voies de transfert suivantes : ruissellement, écoulements par les drains naturels et artificiels, écoulements par les nappes superficielles.

3. Travailler à l'échelle de la parcelle : un choix délibéré

D'emblée, l'outil de diagnostic a été conçu de façon optimale. Il ne s'agissait pas de proposer des contraintes nouvelles sur l'ensemble des surfaces agricoles mais bien de cibler les modifications de pratiques sur les secteurs les plus contributifs à la contamination du cours d'eau.

Les secteurs contributifs peuvent être abordés à différentes échelles. Un classement des bassins versants de Bretagne Eau Pure a ainsi été proposé (AUROUSSEAU et *al.*, 1996). Considérant que l'application de la méthode à un bassin versant donné du programme Bretagne Eau Pure peut être limitée à un sous bassin versant de quelques centaines d'hectares, c'est l'échelle parcellaire qui semblait la plus pertinente.

Les travaux de la CORPEP ont montré que le risque de contamination des eaux par les produits phytosanitaires dépendait des caractéristiques de mobilité et de persistance des substances actives d'une part, de propriétés intrinsèques aux parcelles d'autre part (GILLET, CLEMENT et *al.*, 1995). Les expérimentations conduites par le Service Régional de la Protection des Végétaux de la DRAF sur le bassin versant expérimental du Pouliou dans les Côtes d'Armor, mettent en évidence la contribution particulière de quelques parcelles à la contamination de l'eau par l'isoproturon et l'atrazine à l'exutoire du bassin (GILLET, 1999).

Dès lors, c'est une méthode de diagnostic parcellaire du risque de transfert des produits phytosanitaires qui est choisie.

4. Une méthode conçue pour l'action à grande échelle

La mise au point de la méthode de diagnostic et le choix des indicateurs ont été confiés à un groupe de travail constitué à l'initiative de la commission transfert de la CORPEP, rassemblant des compétences techniques et des acteurs de terrains.

La méthode, conçue pour être appliquée dans le cadre d'un programme de très grande ampleur (Bretagne Eau Pure II¹⁷), répondait à cinq impératifs, rappelés dans le tableau ci dessous. Ces impératifs ont conditionné les choix opérés par la suite, directement issus d'une simplification de la méthode proposée par P. AUROUSSEAU et *al.* (1998).

17 Le programme Bretagne Eau Pure II a été initié sur une partie du territoire breton au titre du Contrat de Plan 1994-1999. Il couvre 12% du territoire mais 1/3 de la production d'eau potable régionale. Son objectif est d'améliorer rapidement la qualité de l'eau vis-à-vis des nitrates et des pesticides en particulier, à travers des actions volontaires.

IMPERATIFS	IMPLICATIONS
Etre applicable à l'échelle d'une vingtaine de bassins versants bretons aux caractéristiques hydrogéologiques spécifiques connues, de l'ordre de quelques centaines de km ²	⇒ Le contexte breton privilégie les mécanismes de transfert rapides (ruissellement, écoulements par les drains ou les nappes superficielles) ⇒ Les facteurs climatiques et géologiques, variables à l'échelle de la région mais considérés comme homogènes sur le bassin versant, n'ont pas été retenus : nombre moyen de jours séparant le traitement du premier épisode pluvieux ruisselant, nature du substrat géologique, teneur en matière organique du sol
Etre facilement mise en œuvre par un nombre important de techniciens	⇒ Le nombre de facteurs a été limité à 5, chaque facteur se déclinant en critères à classer sur le terrain
Etre indépendante de la culture en place et de l'état sanitaire de la parcelle	⇒ Les facteurs agronomiques liés aux itinéraires techniques ne sont pas retenus dans la méthode (structure, rugosité et recouvrement du sol, salissement de la parcelle,...)
Evaluer le degré de connexion hydrologique de la parcelle au cours d'eau	⇒ Nécessite obligatoirement de visualiser sur le terrain les chemins de l'eau depuis la parcelle jusqu'au réseau hydrographique en présence
Favoriser une appropriation de la démarche par l'agriculteur	⇒ Le diagnostic est réalisé avec l'agriculteur. Ce dernier fournit une partie des informations nécessaires au classement. Il prend connaissance des fondements de la méthode. Il s'approprie les résultats de son classement et peut ainsi les faire évoluer

Tableau n°5 : Les impératifs de la méthode et leurs conséquences

5. Cinq facteurs pour un rang final

5.1 Le choix des facteurs

Au final, les facteurs retenus caractérisent la localisation et la topographie de la parcelle ainsi que les aménagements agricoles ou paysagers qui ont été opérés. La hiérarchie a d'abord retenu des facteurs physiques intervenant dans l'écoulement de surface (distance et pente) puis de subsurface (drainage). Les facteurs anthropiques ont été considérés ensuite (longueur de la pente et dispositif tampon), ces facteurs pouvant être modifiés et venant ainsi moduler les facteurs physiques.

Facteur	Critère	Définition annexe	Classes
Distance	La distance au cours d'eau est celle qui, sur le chemin de l'eau, sépare le point le plus en aval de la parcelle du réseau hydrographique circulant.	Le réseau hydrographique inclut le réseau naturel (rivières et cours d'eau à écoulement permanent ou intermittent) ainsi que le réseau de fossés. Un fossé est dit circulant s'il coule au moins trois mois dans l'année.	3 classes : <20m de 20 à 200m >200m
Pente	La valeur à retenir est la pente existant entre le point haut et le point bas de la parcelle dans le sens des écoulements.	Dans le cas où la mesure conduit à un seuil de classe, l'accentuation ou l'atténuation de la pente à l'aval de la parcelle permet de trancher : une accentuation conduit à une valeur supérieure au seuil, une atténuation à une valeur inférieure au seuil.	3 classes : <3% de 3 à 5% >5%
Drainage	Drainage agricole souterrain de la parcelle		2 classes : Présence Absence
Longueur	La longueur de pente est la distance séparant le point haut du point bas de la parcelle dans le sens des écoulements de l'eau.		3 classes : <50m de 50 à 150m >150m
Protection aval	Présence d'une protection continue et durable à l'aval de la parcelle, empêchant tout transfert direct	Bandes boisées ou enherbées destinées à rester en place plus de 5 ans, d'une largeur supérieure à 20m. Talus, avec ou sans haie.	2 classes : Présence Absence

Tableau n°6 : Facteurs, hiérarchie, critères et classes pris en compte dans l'indicateur

Le tableau 6 définit, pour chaque facteur, le critère mesuré sur le terrain et les différentes classes distinguées sur ce critère. C'est là encore à la lumière des connaissances sur les mécanismes de transfert que les classes ont été définies par le groupe de travail de la CORPEP (GASCUEL-ODOUX et AUROUSSEAU, 1999).

5.1.1 La distance au réseau d'écoulement semi-permanent

Plus cette distance est faible, plus les transferts rapides vers le cours d'eau sont importants. Le réseau d'écoulement prend en compte le réseau hydrographique naturel et les fossés circulants. L'évaluation de cette distance nécessite un repérage préalable des chemins de l'eau et des exutoires de la parcelle.

5.1.2 La pente

Plus la pente est importante, plus les transferts rapides sont importants :

- par entraînement des substances actives en solution (par ruissellement) ou adsorbées sur les particules de sol (par érosion) ;
- par contribution de la nappe.

5.1.3 La présence éventuelle d'un drainage agricole

L'existence d'un drainage agricole constitue une voie de transfert rapide des eaux provenant des horizons superficiels du sol.

5.1.4 La longueur de la pente

Plus la longueur de la parcelle est importante et :

- plus les écoulements sont rapides et érosifs,
- plus la surface contributive à l'écoulement ayant reçu un traitement est élevée.

5.1.5 L'existence d'une protection aval

La protection aval continue constitue un obstacle physique au ruissellement favorisant l'infiltration des produits phytosanitaires dans le sol.

5.2 La combinaison des facteurs

La méthode de combinaison des facteurs retenue est la méthode SIRIS, employée par les ministères en charge de l'Environnement, de l'Agriculture et de la Santé pour le classement des molécules (VAILLANT et *al.*, 1995). Cette méthode permet de hiérarchiser les facteurs et d'aboutir à un rang pour la parcelle, ce dernier pouvant varier de 0 à 115. Les rangs sont ensuite ramenés de 0 à 100 pour faciliter la lisibilité du classement. Par la suite, trois classes de risque (fort, moyen, faible) sont définies en fonction des rangs par le groupe de travail de la CORPEP : plus le rang est important, plus le risque parcellaire de transfert des produits phytosanitaires est élevé. Les grilles présentées (figure 1 et figure 2) sont l'instrument permettant une détermination rapide du niveau de risque de transfert de la parcelle. Deux grilles ont été conçues, l'une pour les parcelles drainées, l'autre pour les parcelles non drainées. La lecture en ligne ou en colonne est

possible, un procédé d'élimination permettant d'aboutir au rang final, et donc au niveau de risque de la parcelle.

parcelle drainée		distance								
		> 200 mètres			de 20 à 200 mètres			< 20 mètres		
protection aval	Longueur pente	pente			pente			pente		
		<3 %	3 à 5 %	> 5 %	<3 %	3 à 5 %	> 5 %	<3 %	3 à 5 %	> 5 %
présence	< 50 m	6	13	20	22	31	41	38	50	63
	50 à 150 m	9	17	24	27	37	48	46	59	72
	> 150 m	11	20	29	32	43	55	54	68	82
absence	< 50 m	9	17	26	30	41	52	51	65	79
	50 à 150 m	12	22	31	36	48	60	60	75	90
	> 150 m	16	26	37	42	55	68	69	84	100

Tableau n°7 : Grille de détermination des rangs SIRIS pour les parcelles drainées.

6. Un outil pédagogique, un levier pour modifier les pratiques

Le renseignement des facteurs se déroule sur le terrain, en présence de l'agriculteur. Chacune des parcelles de l'exploitation agricole est visitée et analysée en vue du diagnostic¹⁸. En premier lieu, le technicien repère les chemins de l'eau et les exutoires de la parcelle. Des chemins de l'eau divergents obligent à effectuer autant de diagnostics qu'il existe de cheminements différents, le rang final attribué à la parcelle étant le plus pénalisant.

A l'issue du diagnostic, le technicien et l'agriculteur possèdent tous deux une carte colorée du parcellaire de l'exploitation en fonction du niveau de risque des parcelles : vert pour un risque faible, jaune pour un risque moyen et rouge pour un risque fort de contamination des eaux superficielles par les produits phytosanitaires. Sur cette carte, les éléments ayant prévalu au diagnostic (parcellaire, drainage, réseau hydrographique circulant, zones tampons, sens des écoulements au sein des parcelles,...) sont figurés.

Tout au long de ce travail, les fondements de la démarche sont rappelés et les modifications de pratiques sont envisagées. En présence d'une parcelle à risque, le technicien propose des solutions limitant les transferts à court terme (substitution) ou à plus long terme (aménagement de dispositifs tampon). Les

¹⁸ Notons que les prairies permanentes ne sont pas classées puisque, par définition, elles ne sont jamais cultivées. Les prairies temporaires sont classées.

modifications adoptées résultent à la fois des caractéristiques du parcellaire et des contraintes de l'exploitant.

Mise en œuvre à grande échelle depuis 1998 sur les bassins versants du programme Bretagne Eau Pure 2, la méthode CORPEP a permis de classer près de 30 000 hectares à ce jour. Une formation définie au niveau régional par le CRPO19 garantit un nombre suffisant de techniciens pour la réalisation du diagnostic (environ 300, des chambres d'agriculture, des coopératives et du Négoce, des ADASEA, des bureaux d'étude, etc.). Aujourd'hui, diagnostic parcellaire et modification des pratiques de désherbage sont rendus obligatoires dans les contrats individuels du programme Bretagne Eau Pure 2000-200620 et dans les Contrats Territoriaux d'Exploitation.

Adoptée en 1998, la méthode CORPEP a des limites inhérentes à sa conception, liées notamment au choix des paramètres retenus ; elle est néanmoins opérationnelle et évolutive en fonction des acquis de terrain et de l'état des connaissances. D'autres régions développent des démarches globales d'évaluation et de maîtrise du risque parcellaire de transfert des pesticides, incluant notamment un volet agronomique plus étoffé. Construites selon les principes du CORPEN, elles se déclinent de façon spécifique sur des bassins versants ayant fait l'objet d'un diagnostic préalable.

Mais d'une région à l'autre, la réduction des transferts de pesticides dans l'eau demeure l'objectif premier des méthodes de diagnostic parcellaire.

Bibliographie

AGRESTE, La statistique agricole – Tableaux de l'agriculture bretonne, résultats années 1990 à 1999 (numéros des années 1991 à 2000), Direction Régionale de l'Agriculture et de la Forêt de Bretagne.

Aurousseau P., Gascuel-Odoux C., 1998 - Un indicateur de risque parcellaire de contamination des eaux superficielles par les produits phytosanitaires, *Contrat Bretagne Eau Pure - Etude CORPEP 98/3* 40p.

Aurousseau P., Gascuel-Odoux C., Squidant H., 1998 - Elément pour une méthode d'évaluation d'un risque parcellaire de contamination des eaux superficielles par les pesticides, *Etude et gestion des sols*, 5, (3), 143-156.

Aurousseau P., Squidant H., Baqué M.C. et Simon F., 1996 - Analyse des facteurs de risque de transferts de pesticides dans les paysages. Etablissement d'une hiérarchie de ces risques : application au calcul d'un indice de risque par bassin versant et par parcelle, *Rapport de contrat pour l'Agence de l'Eau Loire-Bretagne*, 22 pages, 12 cartes, 12 tableaux, 6 figures.

19 CRPO : Centre Régional de Perfectionnement de l'Ouest.

20 Le nouveau programme Bretagne Eau Pure s'inscrit dans le Contrat de Plan Etat Région 2000-2006.

- Cann C., 1995** - Le transfert des triazines vers l'eau, Actes du colloque " Qualité des eaux et des produits phytosanitaires: du diagnostic à l'action " , Rennes, 27/11/1995, 107-115 .
- CORPEP**, Etudes de la contamination des eaux superficielles de Bretagne par les produits phytosanitaires, années 1990 à 2000.
- Gascuel-Oudoux C., Molénat J., 2000.** - Etude de la dynamique hydrochimique des nappes superficielles en vue de déterminer les temps de réponses des hydrosystèmes à des mesures agri-environnementales : cas des nitrates et des pesticides, Water in Celtic world : managing Resources for the 21st Century, 2nd Inter-Celtic Colloquium, University of wales aberystwyth, 3-7 July 2000 : *BHS Occasionnal Paper*, 11, 311-318.
- Gillet H., Clement M., Choisy A.M., Seux R., 1995** - Evaluation du niveau de contamination des eaux de surface par les produits phytosanitaires, *J. Eur Hydrol* tome 26, fasc 1.1995.p5 à 82 .
- Gillet H., Ferron O., Bazile E., Clisson O., Carrel V., 1999** - Transfert de produit phytosanitaires à l'échelle d'un bassin versant : le Pouliau, in : *actes du programme Systèmes Terre et Eau 1994-1999*, 107-111
- Michel O., 2001** – Désherbage du maïs en Bretagne : herbicides utilisés et efficacité comparée des programmes avec et sans atrazine, *Rapport de synthèse, campagne 2000, FEREDDEC Bretagne*, 47 pages.
- Vaillant M. et al, 1995** - A multicriteria estimation of the environmental risk of chemicals with the SIRIS method, *Toxicology modeling*, 1 (1), pp 57-72 .

Actions pour réduire la pollution des eaux par les produits phytosanitaires en Bretagne et résultats obtenus

Actions to reduce the water pollution by phytosanitaires products in Brittany (France) and obtained results.

Olivier FERRON

Bretagne Eau Pure
4, cours Raphaël Binet
35 000 RENNES
Tél. :02.99.67.50.43
Fax :02.99.31.99.10
E-mail : bretagne.eau.pure@wanadoo.fr

Résumé : Parce que la qualité de l'eau est un enjeu patrimonial de première importance, la Bretagne poursuit et renforce son action pour la reconquête de la qualité de l'eau. Sa dégradation en matière de nitrates et de produits phytosanitaires a conduit les partenaires publics (Etat, union Européenne, Conseil Régional, Conseils généraux bretons, Agence de l'eau Loire Bretagne) à concentrer leurs moyens pour des actions volontaires sur des bassins versants sélectionnés, en partenariat actif avec le monde agricole, les coopératives et le négoce.

Au moment où le programme Bretagne Eau Pure 2000-2006 se met en place dans le cadre du nouveau Contrat de Plan, il est important de présenter les avancées les plus significatives obtenues depuis 1995.

Abstract : Like the quality of the water is a patrimonial stake in first importance, Brittany pursues and strengthens its action for the reconquest of the water quality. Its degradation in nitrates and phytosanitaires products drove the public partners (State, European Union, Regional Council, Brittany general councils, Water Agency of Loire-Bretagne) to concentrate their means for voluntary actions on watersheds selected in active partnership with the agricultural world, the cooperatives and the trade. As the "Bretagne Eau Pure" 2000-2006 program is set up within the framework of the new "Contrat de plan Etat-Région", it is important to present the most significant overhangs obtained since 1995.

Mots clés : pesticides, Bretagne Eau Pure, herbicides, atrazine, qualité de l'eau, Bretagne, évaluation du risque .

Keywords : pesticides, Pure Water Britain, hrebicides, atrazine, water quality, risk evaluation.

MAITRISE DU RISQUE DE TRANSFERT DES PRODUITS PHYTOSANITAIRES DANS LES EAUX SUPERFICIELLES :

LA DEMARCHE PHYTOSANITAIRE ADOPTEE PAR BRETAGNE EAU PURE

Le programme Bretagne Eau Pure s'est donné comme perspective de reconquérir la qualité des eaux superficielles. Ce programme vise à limiter au dessous de 0.1µg/l la présence des produits phytosanitaires dans ces eaux.

Pour répondre à cet objectif, des actions sont mises en place sur les 43 bassins versants Bretagne Eau Pure.

Les travaux de la CORPEP21 ont montré que la contamination des eaux superficielles, ressources principales dans l'Ouest pour la production d'eau potable, trouve son origine soit dans les pollutions accidentelles, soit, pour les pollutions dites diffuses, dans les pratiques de désherbage qu'elles soient agricoles ou non (communes, services publics et jardiniers).

Ces travaux ont également mis en évidence que le risque de contamination diffuse des eaux dépend à la fois des substances actives elles-mêmes (KOC, hydrosolubilité et persistance) et des conditions d'application.

La démarche agricole se déroule en 4 temps

- Diagnostic de la qualité des eaux des sous bassins versants dans l'objectif de repérer les sous bassins les plus pollués sur lesquels l'action sera concentrée.
- Diagnostic parcellaire sur les sous bassins prioritaires selon la méthodologie CORPEP.
- Mise en place d'une charte phytosanitaire fédérant l'ensemble des acteurs agricoles sur les sous bassins prioritaires pour adapter les prescriptions aux niveaux de risque.
- Evaluation de la bonne application de la charte par les agriculteurs et les distributeurs.

1. Le repérage des sous bassins à risque

Le repérage des sous bassins à risque ou prioritaires repose sur la réalisation de campagnes d'analyses des résidus de triazines et d'isoproturon sur un réseau de points de prélèvements répartis sur l'ensemble du bassin. L'atrazine et

21CORPEP : Cellule d'Orientation Régionale pour la Protection des Eaux contre les Pesticides

l'isoproturon restent les 2 matières actives herbicides les plus utilisées en Bretagne sur les 2 principales cultures : maïs et céréales.

Chaque sous bassin doit disposer d'au moins un point de prélèvement à son exutoire. D'autres points intermédiaires peuvent être judicieusement disposés le long du réseau hydrographique.

Les prélèvements doivent être réalisés au rythme de 1 par mois en période de crue c'est à dire dans les 24 heures qui suivent une pluie de 10 à 15 mm cumulée sur 24 heures. Le pluviomètre automatique et le débitmètre automatique (disposé à l'exutoire du bassin) sont 2 outils d'aide à la décision pour le déclenchement des campagnes.

La recherche des triazines et de l'isoproturon doit être entreprise avec une méthode de dosage immuno-enzymatique (ELISA) qui présente un avantage financier par rapport aux méthodes chromatographiques.

Les triazines doivent être recherchées toute l'année alors que pour l'isoproturon, la recherche est limitée aux mois de novembre à avril.

Une fois les sous bassins prioritaires définis, les analyses ELISA doivent être maintenues pendant la phase d'action. Ces analyses servent alors d'indicateurs de l'évolution des pratiques agricoles.

La détermination des sous bassins prioritaires se fait en calculant, par sous bassin, le pourcentage des analyses présentant des valeurs comprises dans chacune des trois classes suivantes :

$$\begin{aligned} &< 0,1 \mu\text{g/l} \\ 0,1 &< < 0,5 \mu\text{g/l} \\ &0,5 \mu\text{g/l} \end{aligned}$$

Les sous bassins prioritaires sont ceux pour lesquels les pourcentages de valeurs dépassant les 0.1 $\mu\text{g/l}$ sont les plus importants.

2. Le diagnostic parcellaire

Le diagnostic parcellaire doit être entrepris dans les exploitations des sous bassins prioritaires retenus et selon la méthodologie CORPEP. Pour arriver à ce classement, une méthode a été finalisée par la commission transfert de la CORPEP. Cinq facteurs de risque ont été retenus et hiérarchisés. Le choix et la hiérarchisation des facteurs sont adaptés aux conditions particulières de la Bretagne : eaux superficielles, transfert des polluants liés au ruissellement plutôt qu'au lessivage, etc.

Le classement est réalisé sur le terrain par un technicien formé à la méthodologie, choisi par l'agriculteur et en présence de l'agriculteur. Des tables reprenant le rangement SIRIS sont utilisées pour classer les parcelles et donc leur attribuer un niveau de risque.

A l'issue de la visite de terrain et du classement, il est remis à chaque exploitant agricole un plan sur lequel sont figurés les niveaux de risque de chaque parcelle. Un code en trois couleurs (vert, jaune et rouge) a été adopté pour matérialiser les trois niveaux de risque (respectivement faible, moyen et fort).

Outil pédagogique destiné aux agriculteurs, ce classement des parcelles constitue un des moyens essentiels de réduction de la pollution diffuse des eaux superficielles.

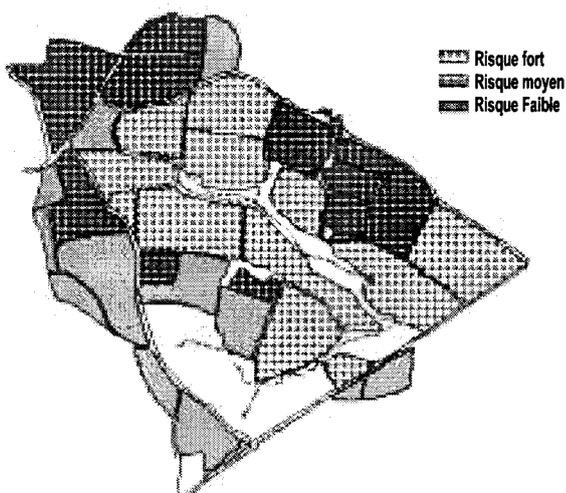


Fig. n° 1 : Exemple d'un diagnostic parcellaire

3. La charte phytosanitaire

Sur les bassins versants, des préconisations spécifiques sont consignées dans des chartes phytosanitaires (cf. Tab.1) élaborées en concertation avec l'ensemble des prescripteurs présents sur les sous bassins prioritaires. Ces préconisations sont définies en croisant les niveaux de risque parcellaire et le classement des molécules et des produits commerciaux en 3 groupes.

Groupes risques parcelaires

Groupes matières actives

	Faible	Moyen	Elevé
1	oui	oui	oui
2	oui	oui	non sauf IPU ≤500g/ha
3	oui	non sauf atrazine ≤500g/ha	non

Tableau n° 1 : Principe de la charte phytosanitaire

Classement des substances actives et produits commerciaux :

Les molécules et les produits commerciaux qu'elles composent, utilisés sur maïs et céréales, ont été classés en trois groupes suivant leur comportement de mobilité et de persistance dans les sols ainsi qu'en fonction de la dose apportée à l'hectare. Ces classements sont réactualisés chaque année et validés par la CORPEP. Le groupe 1 est composé par des produits présentant un profil environnemental favorable. Ce même profil est défavorable pour les produits du groupe 3.

La substitution des substances actives les plus fréquemment associées à des dépassements des objectifs Bretagne Eau Pure (0.1 µg/l) est apparue comme un des premiers outils à mettre en œuvre sur les bassins. Actuellement, il est possible de suivre dans les eaux la totalité des molécules de substitution qui ont été retenues dans les chartes phytosanitaires.

Ce suivi est réalisé à l'exutoire des bassins versants selon un calendrier de surveillance réactualisé chaque année et suivant des méthodes d'analyses chromatographiques. Les prélèvements doivent être asservis au débit (utilisation conseillée d'un préleveur automatique) et doivent répondre au protocole.

Au plan régional, la surveillance de ces produits de substitution s'effectue sur le réseau des rivières CORPEP. Cette veille permet des réajustements rapides des préconisations dans les chartes.

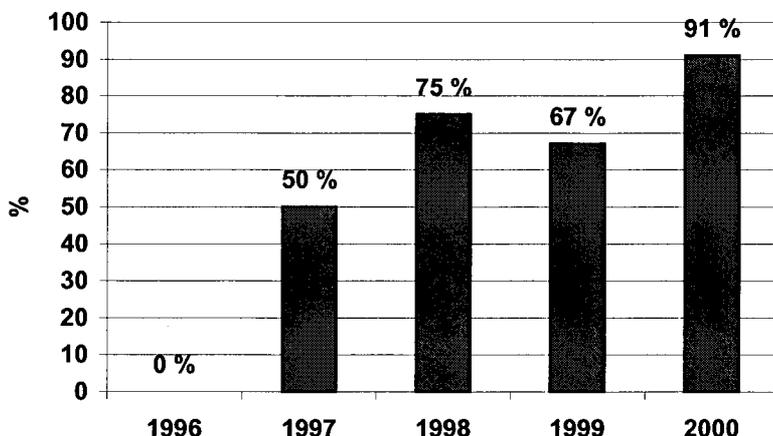
La substitution n'est pas le seul outil proposé. En effet, la réduction des transferts de produits vers les eaux peut également être la conséquence de l'utilisation de techniques alternatives (désherbeuse, herse étrille,...) ou bien d'aménagements paysagers (bandes enherbées, dispositifs haies/talus).

4. Résultats obtenus

L'évaluation de la charte phytosanitaire passe d'abord par une observation de l'évolution des concentrations en produits phytosanitaires mesurées au point où l'objectif Bretagne Eau Pure a été défini (à l'exutoire du bassin versant en général). Les indicateurs d'évolution de la qualité de l'eau sont une réduction de la fréquence des dépassements de l'objectif ainsi qu'une réduction des niveaux de pics des concentrations mesurées.

Le renseignement de ces indicateurs d'évolution de la qualité de l'eau sur les bassins versants les plus avancés permet aujourd'hui d'envisager avec espoir la reconquête de la qualité de l'eau en Bretagne.

En effet, dans l'exemple du bassin versant du Haut Guessant on observe bien sur la durée de l'action une régression progressive des pics de concentration ainsi qu'une augmentation du pourcentage du respect de l'objectif 0.1 µg/l (cf. graph.1).



Graph. n° 1 : Concentration en atrazine à l'exutoire du BV du Haut Guessant - Pourcentage de respect de 0.1 µg/l

L'implication des acteurs (agriculteurs, coopératives, négoce,...) est forte. Aussi au terme de cinq années d'effort, la démarche a apporté des résultats prometteurs en matière de restauration de la qualité de l'eau. Cependant, il a pu être constaté qu'il suffit de moins de 15 % des agriculteurs d'un bassin qui ne respectent pas les consignes de la charte pour que des dépassements soient observés. De la même façon les usages de produits phytosanitaires ne respectant pas les consignes de bonnes pratiques de désherbage (utilisation de l'atrazine sur fossés ou sur les abords de siège d'exploitation) sont source d'un non respect de l'objectif de 0.1 µg/l à l'exutoire du bassin.

Cette démarche Bretagne Eau Pure associée à la réglementation constituent un moyen de reconquérir la qualité de l'eau en région Bretagne dans le domaine phytosanitaires. Commencée avec le programme Bretagne eau Pure n°2, cette démarche est poursuivie et amplifiée dans le nouveau programme Bretagne Eau Pure 2000-2006.

Une démarche analogue est réalisée avec les utilisateurs non agricoles : communes, SNCF, DDE, jardiniers amateurs,...

Impact d'itinéraires culturaux du maïs sur les transferts d'herbicides par ruissellement

Effect of maize cultivation techniques on overland flow and herbicide transport

Djilali Heddadj
Chambre d'agriculture du Morbihan,
Station expérimentale de Kerguéhennec
56500 Bignan

Chantal Gascuel-Odoux
UMR Sol et Agronomie de Rennes-Quimper, INRA-ENSAR
65 Route de Saint Briec CS 84215
35042 Rennes Cedex

Date d'envoi : 14/05/2001

Résumé : L'incidence de différents itinéraires techniques de la culture du maïs sur les transferts d'herbicide a été analysée à l'échelle parcellaire, sur deux types de sol, sous pluies simulées et naturelles. Le désherbage mixte, comparativement à un traitement en plein, permet de réduire la concentration et les flux de matières actives pour les premières pluies ruisselantes, en relation avec la diminution de la surface traitée et le binage qui favorise l'infiltration. Les techniques culturales simplifiées basées sur l'utilisation du paraplow et du combiplot augmentent l'infiltrabilité des sols par rapport à une conduite conventionnelle. Si l'influence de ces techniques reste faible sur les concentrations, les surfaces étant traitées en plein, elle est en revanche particulièrement nette sur les flux. Ces techniques culturales, alliant une maîtrise des états de surface, montrent leur efficacité pour limiter les transferts de pesticides par ruissellement.

Abstract : *The effect of cultivation techniques for maize crop on herbicide transport at soil surface was analysed at field scale, on two sites, under natural rainfall and using rainfall simulator. The combined strategy for weed control was compared to the classical whole chemical weed control. It induced a decrease in herbicide concentrations and export on the first rainfall events, due to the lower amount spreaded and tillage that restore initial soil infiltrability. The no-till methods had no effect on concentration but on soil infiltrability and herbicide export compared to the classical tillage, due to band wise mulch planting and decompacting. These cultivation techniques, that improve soil surface conditions and infiltration of water are efficient to decrease soil surface transport and herbicide export in surface water.*

Mots-clés : herbicide, état de surface, ruissellement, désherbage mixte, technique de non-labour

Keywords : herbicide, soil surface condition, overland flow, combined strategy for weed control, no-till,

Introduction

La contamination des eaux superficielles par les pesticides est importante en Bretagne, essentiellement liée aux herbicides provenant des cultures de maïs et de céréales, ainsi qu'aux usages non agricoles. Ce problème est d'autant plus préoccupant que 80% de la ressource en eau potable provient des eaux superficielles. Cette contamination requiert une analyse des causes et la mise en place de solutions adéquates. Le ruissellement de surface semble avoir une importance déterminante sur les fortes concentrations observées en crue dans les eaux de surface, même si sa contribution au débit des rivières est faible (Cheverry, 1998). En effet, ce mode de transfert interagit fortement avec la surface du sol où sont principalement stockés les produits appliqués. Le ruissellement met en solution les matières actives et mobilise des particules de sol qui en sont également vecteurs. Au delà de sa contribution à la qualité des eaux, le ruissellement redistribue les particules le long des versants. Il peut ainsi avoir des conséquences sur la ressource en sol (Cros-Cayot, 1996). Ces transferts de surface ont lieu sur des pentes même faibles et lors de pluies d'intensité modérée. Ils sont la conséquence d'une dégradation ou d'un tassement des sols qui leur donne une faible infiltrabilité. Le ruissellement est souvent diffus, la lame d'eau de faible épaisseur, plus ou moins canalisée par la rugosité du sol liée à l'activité agricole.

Les travaux présentés ici portent sur l'incidence des itinéraires de culture du maïs sur les transferts d'herbicides par ruissellement. Le choix du maïs est lié à son importance à la fois dans les systèmes de culture bretons (450 000 ha, soit près de 25 % de la SAU) et dans la contamination des eaux, alors même qu'il constitue le pivot de l'alimentation animale, grâce à son énergie, sa facilité de conservation et sa souplesse d'utilisation. Les itinéraires de culture du maïs présentent des risques de transfert par ruissellement assez différents dans le temps. On peut repérer les périodes critiques en superposant les chroniques pluviométriques, de recouvrement végétal du sol et d'état structural du sol au cours de l'itinéraire cultural (Fig. 1) (Le Bissonnais et Gascuel-Oudou, 1999). Au début du cycle cultural, les averses de printemps sont souvent de forte intensité, le recouvrement végétal du sol nul ou faible. L'infiltrabilité des sols, forte au semis, diminue rapidement. Cette diminution dépend des caractéristiques du sol et des pratiques culturales : la diminution de l'infiltrabilité est plus rapide dans un sol très affiné. Cette période de printemps et début d'été, proche des traitements herbicides, constitue incontestablement une première période critique. Plus tard en hiver, des trains d'averses, un recouvrement végétal du sol nul en monoculture et une faible infiltrabilité des sols suite aux chantiers de récolte donnant lieu à un tassement des sols, conduisent à une seconde période critique. Cette analyse met en évidence la nécessité de rechercher des itinéraires techniques limitant le ruissellement, basés essentiellement sur l'amélioration ou la restauration de l'infiltrabilité du sol au cours de l'itinéraire technique, dans les périodes critiques grâce notamment au travail du sol et à un meilleur recouvrement végétal du sol (Monnier et al., 1991 ; Mossiman, 1991). Le désherbage mixte et les techniques culturales simplifiées répondent à

ces critères. C'est dans ce cadre qu'a été mené ce travail visant à évaluer l'incidence de ces techniques culturales sur les transferts à la surface du sol.

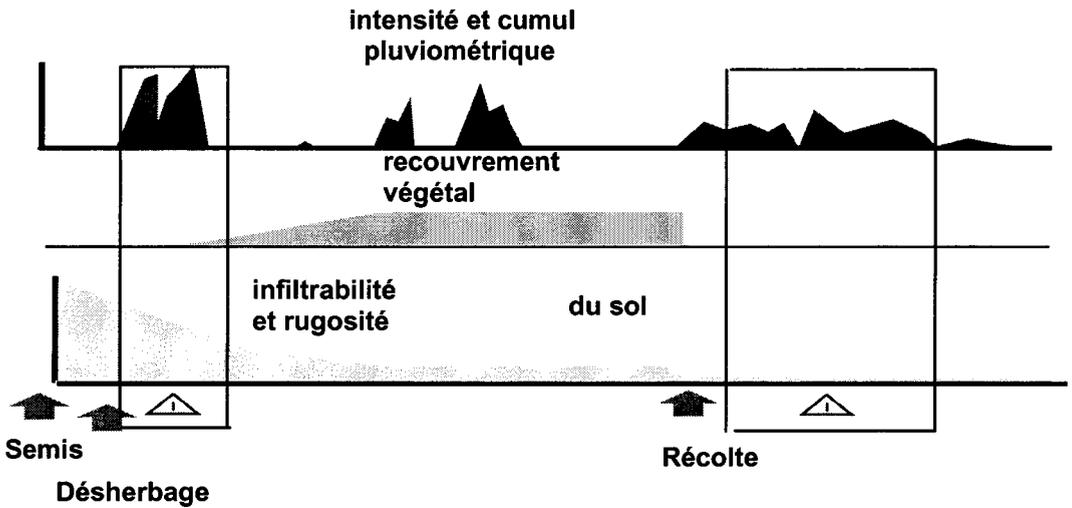


Fig. n° 1 : Périodes à risques dans l'itinéraire cultural d'une succession maïs-maïs

Nous présenterons successivement les techniques et les machines utilisées, les résultats obtenus en distinguant leur impact sur les concentrations et les flux de particules solides et d'herbicide à la surface du sol (Gascuel-Odoux et Heddadj, 1999). Deux situations expérimentales ont été considérées, celle de Rennes (domaine INRA) et celle de Kerguehennec (Chambre d'agriculture du Morbihan), ces deux situations ayant une pente assez semblable (4,8 % à Rennes contre 5,9 % à Kerguehennec), mais une pluviométrie (670 mm à Rennes contre 890 à Kerguehennec) et des sols assez différents, à plus faible stabilité structurale à Rennes qu'à Kerguehennec (13,8 % d'argile, 71,3 % de limons, 14,9 % de sables et 2 % de matières organiques à Rennes, contre 16,3 % d'argile, 52,8 % de limon, 30,7 % de sables, 3,8 % de matière organique à Kerguehennec). Dans ces deux situations, les dispositifs expérimentaux ont pris en compte un semis de maïs dans le sens de la pente.

1. Le désherbage mixte

1.1 Principe et itinéraire cultural

Le désherbage mixte associe un désherbage chimique sur le rang et un désherbage mécanique, par binage, sur l'inter-rang (Heddadj et Gascuel-Odoux, 1997 ; Heydel, 1998). Les quantités apportées de matières actives sont alors réduites de deux tiers, un tiers de la surface étant traité, les concentrations apportées restant identiques. Le désherbage mixte combine ainsi différentes stratégies : (1) une diminution des quantités de matières apportées en mettant en

œuvre une application localisée limitée à une dizaine de centimètre de part et d'autre du rang de maïs ; (2) une réduction potentielle du ruissellement durant la période de printemps-été par le binage de l'inter-rang qui permet de détruire la croûte de battance et restaurer l'infiltrabilité du sol ; (3) de manière optionnelle, une réduction potentielle du ruissellement durant la période d'interculture par l'association optionnelle d'un semis intercalaire dans l'inter-rang de maïs.

Cette technique nécessite l'utilisation d'un engin combiné comprenant : (1) une bineuse qui assure le désherbage de l'inter-rang, communément sur 4 ou 6 rangs ; (2) un pulvérisateur à jets dirigés qui réalise la pulvérisation localisée sur le rang ; (3) facultativement, un semoir centrifuge à petites graines qui permet la mise en place d'une culture intercalaire. A l'inverse, l'association du semoir sur la bineuse n'implique pas obligatoirement son utilisation.

L'itinéraire cultural prévoit classiquement deux interventions culturales. La première est réalisée dès que l'envahissement des adventices le nécessite, vers le stade 3-4 feuilles du maïs. Elle associe un binage sur l'inter-rang et une pulvérisation sur le rang. Le second passage est réalisé au stade 8 à 10 feuilles du maïs. Il se fait, sauf cas exceptionnel, sans utilisation de désherbant. Un semis simultané de ray-grass (semis à 20-25 kg/ha) peut y être associé. A ce stade, on considère que cette culture intercalaire ne concurrence pas le développement du maïs. Le ray-grass, implanté en sous étage dans l'inter-rang de maïs permet le développement d'un couvert d'interculture qui prend très rapidement le relais de la culture précédente, tout en économisant une intervention automnale. Cette culture intercalaire peut également avoir un effet bénéfique sur le bilan d'azote.

1.2 Etude sous simulation de pluie

1.2.1 Protocole expérimental

Le protocole de simulation de pluie comprend trois pluies successives d'une intensité de 40 mm/h, d'une durée d'une heure chacune, réalisées à quelques jours d'intervalle, à environ deux mois du traitement. Cette simulation de pluie a été appliquée sur des placettes de 3 m de long, sur 1,6 m de large, intégrant deux inter-rangs de 75 cm de large. Le site expérimental est celui de Rennes. Trois modalités ont été comparées : un désherbage en plein à 1000 g/ha d'atrazine ; un désherbage mixte, à la même concentration, avec deux types de binage, l'un superficiel, à 3-5 cm, l'autre plus profond, à 6-8 cm de profondeur.

1.2.2 Résultats

Le ruissellement apparaît plus tardivement quand il y a binage. Cet effet est plus marqué pour la plus grande profondeur de binage pour laquelle aucun ruissellement n'est enregistré à la première pluie. Pour le binage plus superficiel, le ruissellement apparaît lors de la première pluie mais n'atteint pas le régime stationnaire. Le binage conduit ainsi à une plus grande infiltrabilité et rugosité du

sol qui retarde le déclenchement du ruissellement et le réduit fortement lors de la première pluie par rapport à un itinéraire conventionnel. Pour les deux pluies suivantes, les temps de déclenchement et les intensités de ruissellement sont du même ordre de grandeur pour les différentes modalités. La dégradation structurale de la surface du sol, qui s'opère rapidement dans ces sols à faible stabilité structurale, limite ainsi les effets du binage à la première pluie simulée. Le binage a donc un effet temporaire sur le ruissellement.

	1ère pluie	2ème pluie	3ème pluie
Temps de déclenchement du ruissellement			
Itinéraire conventionnel	7 min 40	6 min 40	1 min 24
Désherbage mixte : binage 3-5 cm	25 min 40	8 min 10	2 min
Désherbage mixte : binage 6-8 cm	-	10 min 10	3 min
Intensité du ruissellement en régime permanent (mm/h)			
Itinéraire conventionnel	15,6	18,4	35,4
Désherbage mixte : binage 3-5 cm	-	19,4	38,8
Désherbage mixte : binage 6-8 cm	-	19,4	39
Concentration en charge solide en régime permanent (g/l)			
Itinéraire conventionnel	7,9	14,6	19,8
Désherbage mixte : binage 3-5 cm	-	21,6	18,9
Désherbage mixte : binage 6-8 cm	-	17,1	12

*Tableau n°1 : caractéristiques du ruissellement et de l'érosion
sous pluie simulée sur le site de Rennes*

L'érosion n'est présente, lors la première pluie, que sur l'itinéraire conventionnel. Cette érosion s'accroît lors des deux pluies suivantes, de manière comparable pour les différentes modalités. Lors de la seconde pluie, on note une teneur en particules solides légèrement moins importante sur le témoin que sur les inter-rangs binés, le binage le plus superficiel ayant alors la plus forte concentration en particules solides. Le binage, en favorisant la disponibilité des éléments fins, tend à accroître la charge solide des eaux de ruissellement lors du premier événement ruisselant. Malgré l'accroissement de l'intensité de ruissellement, les charges solides dans les inter-rangs binés ont globalement diminué lors de la troisième pluie.

Le transfert des herbicides par ruissellement a pris en compte l'atrazine et ses métabolites, la DEA et la DIA, en distinguant la phase soluble et la phase particulaire. On observe une diminution dans le temps des concentrations en pesticides des eaux de ruissellement, liée à un lavage progressif de la surface du sol au cours des trois pluies. Dans la phase soluble, la concentration en atrazine est 5 fois moins importante sur l'inter-rang biné que sur l'inter-rang témoin lors de la seconde pluie (2 contre 11.6 µg/l) et 2.5 fois moins importante lors du troisième pluie (2.3 contre 6.2 µg/l). Des résultats analogues sont observés pour l'atrazine

adsorbée. Les concentrations sont quatre fois moins importantes sur l'inter-rang biné que sur l'inter-rang témoin lors de la seconde pluie (65 contre 250 µg/kg) et deux fois moins importantes lors de la troisième pluie (33 contre 78 µg/kg).

Ces résultats s'expliquent par la diminution de quantités de matières actives apportées dans le cas du désherbage mixte (réduction de deux tiers par rapport à un itinéraire conventionnel), mais aussi, pour la première pluie ruisselante (ici la seconde pluie), par une dilution des eaux de ruissellement par les eaux provenant de l'inter-rang et une infiltration partielle des eaux venant du rang. Le binage, en créant une forte porosité et rugosité de surface, favorise l'infiltration et l'adsorption des molécules du rang vers l'inter-rang. Il accentue ainsi l'effet de la réduction des flux de pesticide lors de la première pluie ruisselante. Lors de la seconde pluie ruisselante (troisième pluie simulée), la concentration en atrazine sur l'inter-rang biné est trois fois moins importante que sur le témoin, selon le ratio correspondant aux quantités apportées. L'effet du binage apparaît temporaire, contrairement à celui de la réduction des apports.

Globalement, le désherbage mixte permet une diminution des transferts d'atrazine par ruissellement. Des mesures sous pluies naturelles ont confirmé ces résultats (Gascuel-Odoux et Heddadj, 1999). En effet, le désherbage mixte a permis de diminuer les flux d'un ordre de dix lors des premières pluies ruisselantes, puis d'un ordre de trois lors des pluies suivantes, selon le ratio des quantités apportées.

1.3 Etude sous pluie naturelle. Confrontation à l'efficacité de bandes enherbées.

1.3.1 Protocole expérimental

Le dispositif expérimental met en comparaison le ruissellement de surface en sortie de parcelle et après une bande enherbée de 12 mètres de long. Huit parcelles de 50 m de long sur 6 m de large ont été mises en place. Elles sont équipées de collecteurs de 600 litres reliés à une gouttière recueillant l'eau de ruissellement soit directement en sortie de parcelle (4 parcelles), soit après la bande enherbée (4 parcelles). Quatre modalités de désherbage ont été considérées, chacune étant répétée deux fois, côte à côte, correspondant respectivement à un recueil des eaux de ruissellement avant et après bande enherbée. Deux modalités (4 parcelles) prennent en compte un désherbage en plein, à 1000 g/ha d'atrazine, dont l'une avec binage de l'inter-rang (effet du binage seul). Deux modalités (4 parcelles) prennent en compte un désherbage mixte, le désherbage chimique étant réalisé à la même concentration qu'en plein (effet combiné du binage et de la réduction des apports), une modalité étant assortie d'un semis intercalaire de ray-grass. Le site expérimental est situé sur le domaine expérimental de Kerguehennec (Morbihan). Trois événements pluvieux, de cumul pluviométrique de respectivement 9, 19 et 6 mm, d'intensité maximale sur 6 mn de respectivement 38, 60 et 34 mm/h, ont été suivis au printemps et durant l'été. Le

ruissellement, les concentrations et flux de MES et d'atrazine ont été mesurés. En interculture, seul le ruissellement a été noté.

1.3.2 Résultats

Le ruissellement est réduit par le binage, cette réduction étant d'autant plus prononcée que l'averse considérée est importante et proche du binage. Le ruissellement est alors quasiment nul après la bande enherbée, sauf pour l'averse la plus importante pour laquelle il subsiste un ruissellement important après la bande enherbée.

Les flux de charge solide décroissent d'averse en averse, en relation avec la diminution de la disponibilité en particules. Ils apparaissent, de même, fortement réduits par le binage, passant de plus de 100 kg/ha en conduite conventionnelle à quelques kg/ha avec binage. Par comparaison, les flux de charge solide en sortie de la bande enherbée sont faibles dans tous les cas, comparables aux niveaux atteints par le binage.

Les concentrations en atrazine des eaux de ruissellement sont du même ordre de grandeur avec un traitement en plein, avec ou sans binage. Elles sont par contre plus faibles avec le désherbage mixte, et plus faibles encore avec une bande enherbée, quelle que soit la modalité. Lorsque l'on combine les flux d'eau et les concentrations pour calculer les flux d'atrazine, on hiérarchise trois niveaux de flux (Fig.2) : le premier, de respectivement 700 et 200 mg/ha à la première et la seconde averse ruisselante, correspondant au désherbage en plein sans binage ;

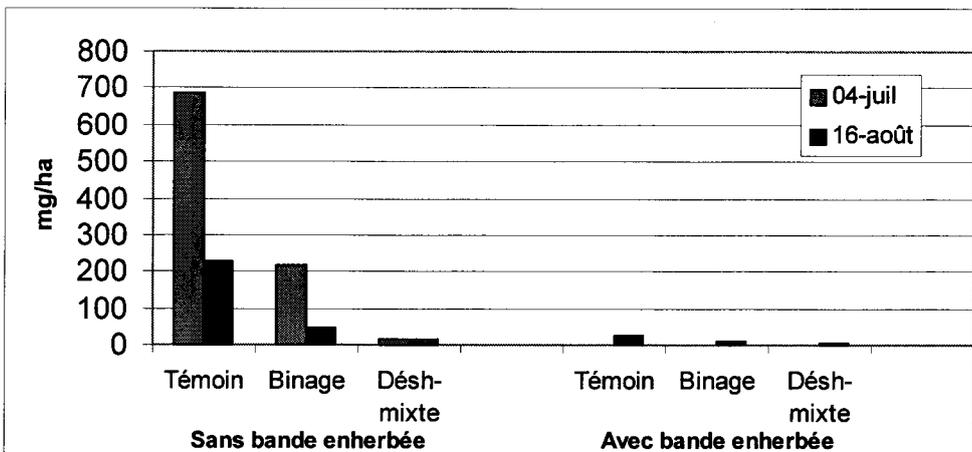


Fig. n° 2 : Flux d'atrazine selon les différentes techniques culturales

le second, de respectivement 200 et 50 mg/ha à la première et la seconde averse ruisselante, correspondant au désherbage en plein avec binage, niveau pour lequel le binage induit une réduction des flux de ruissellement particulièrement notable lors première averse ; le troisième, inférieur à 10 mg/ha, correspondant au désherbage mixte et à toutes les modalités avec bande enherbée. La bande enherbée apparaît ainsi comme la technique d'assurance, limitant les pertes par ruissellement quel que soit l'itinéraire technique de désherbage. A l'opposé, un itinéraire de désherbage mixte atteint l'efficacité d'une bande enherbée, en considérant les flux d'eau, de MES et d'atrazine à la surface du sol.

En interculture, seul l'installation d'un ray-grass intercalaire limite le ruissellement de manière comparable à une bande enherbée.

1.4 Conclusion

Ces expérimentations montrent l'intérêt environnemental du désherbage mixte combinant une stratégie de réduction des apports de désherbant et de contrôle des états de surface. Des travaux ont par ailleurs démontré la faisabilité agronomique et économique (coût, temps de travail) du désherbage mixte (Heddadj et Gascuel-Oudou, 1997). Les résultats présentés montrent que le désherbage mixte peut atteindre l'efficacité d'une bande enherbée. Ces résultats, très partiels dans leur durée et la diversité des modalités retenues, indiquent que l'amélioration des pratiques agronomiques de désherbage du maïs constitue une solution concurrentielle à des solutions d'aménagements. Ceci est d'autant plus important que les agriculteurs semblent, actuellement et pour certaines régions, relativement réceptifs à des solutions agronomiques par comparaison à des solutions d'aménagement de l'espace (Gascuel et Heddadj, 1999).

2. Les techniques culturales simplifiées

Depuis une dizaine d'années, les techniques culturales simplifiées suscitent un intérêt croissant. La motivation pour le non labour est le gain de temps, la réduction du coût d'implantation des cultures et, de plus en plus, l'amélioration de la qualité agronomique des sols. Sous le terme de simplification, des techniques très différentes sont regroupées (Monnier et al, 1991). Les outils peuvent être classés en 3 familles : (1) des outils spécifiques ne travaillant que la ligne de semis (semoirs à disques) ; (2) des outils travaillant sur toute la surface (outils rotatifs) ; (3) des outils polyvalents travaillant à profondeurs variables (outils de pseudo-labour). Ce sont des outils appartenant à cette dernière catégorie qui ont été utilisés et comparés à la conduite conventionnelle.

2.1 Les techniques culturales expérimentées

2.1.1 La conduite conventionnelle

Elle consiste en un labour à 25 cm de profondeur et un semis en deux passages (herse rotative et semoir). Cette conduite a servi de référence pour évaluer l'impact des techniques culturales simplifiées.

2.1.2 Le combiplot

Un outil combiné, appelé combiplot et dit de pseudo-labour a été utilisé. Cet outil permet d'implanter la culture en un seul passage. Il réalise trois opérations simultanées : (1) un décompactage par des dents de décompaction ; (2) un ameublissement superficiel par un rouleau cage ; (3) un semis avec un semoir monograine pneumatique.

- Les dents de décompaction sont constituées de six lames, espacées entre elles de 50 cm, alignées sur une largeur de 3 mètres et situées derrière les roues du tracteur. Ces lames sont équipées de socs à leur base. La lame et le soc de forme effilée (20 mm d'épaisseur) pénètrent facilement dans le sol. Elles ne sont pas perpendiculaires au sens de travail du sol mais plutôt incurvées vers l'intérieur. Elles permettent ainsi d'ameublir le sol par une action de soulèvement. Le travail de la lame serait efficace sur 15 à 40 cm de profondeur.

- Le rouleau cage se positionne juste derrière les lames du combiplot. Ce rouleau est équipé de quatre coutres circulaires en fer disposés entre les lames, séparés d'une distance de 0,75 cm. La fonction de ce rouleau est de niveler le sol soulevé par les lames et de briser les mottes sur les lignes de semis.

- Le semoir mono-graine pneumatique de quatre rangs présente l'inconvénient de ne pas disposer d'un outil animé servant à préparer le lit de semence avant l'implantation de la graine.

2.1.3 Le parasemis

Comme le combiplot, le parasemis est un outil combiné. Il a pour principe d'assurer le semis du maïs en un seul passage et comprend quatre outils.

A l'avant du tracteur, un épandeur permet un apport localisé d'engrais sur la bande de semis. La fumure minérale est mélangée dans le lit de semence par une houe rotative située derrière le tracteur. Derrière le tracteur, les quatre outils combinés sont situés sur une structure semi-portée.

- Les dents obliques du paraplow du tracteur n'ont pas d'ailette à la différence de celles du combiplot mais sont beaucoup plus larges. Elles ont pour fonction de décompacter le sol par une action de fissuration et de soulèvement afin de lui redonner la porosité nécessaire à une bonne circulation de l'air et de l'eau, et permettre la pénétration des racines en

profondeur. Ce soulèvement a par ailleurs pour intérêt de ne pas mélanger les couches de terre.

- Le rouleau cage sert à niveler le sol après le passage des dents.
- Le rotasemis prépare un lit de semence sur une profondeur d'environ 5 cm et une largeur de 20 cm. Cette bande de semis est située à l'aplomb du soc du paraplow, là où la porosité du sol est la plus homogène.
- Le semoir pneumatique de type monograine réalise un semis en ligne. Ce système permet d'améliorer la régularité de la profondeur du semis.

2.2 Résultats

Les résultats ont été obtenus sur les sites de Rennes et de Kerguéhennec.

2.2.1 Le ruissellement

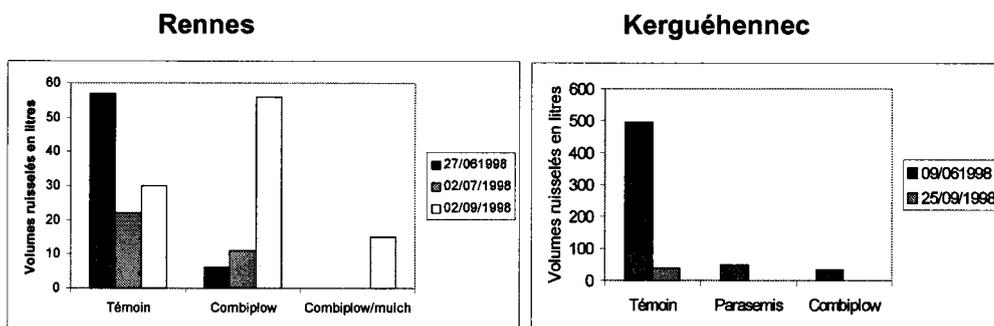


Fig. n° 3 : Volumes ruisselés selon les techniques culturales

Sur le site de Rennes, trois modalités ont été comparées : la conduite conventionnelle, le combiplow sur sol nu et le combiplow sur mulch (RGI détruit chimiquement). Trois pluies ruisselantes ont pu être observées durant cette période, les 27/06, 2/07 et 2/09/1998. Sur la conduite conventionnelle, c'est la première pluie qui provoque le plus de ruissellement malgré une hauteur de pluie relativement faible (8mm), mais une intensité maximale sur 6 mn de 24 mm/h. A l'inverse, la seconde pluie provoque le moins de ruissellement malgré une hauteur de 27 mm mais une intensité maximale sur 6 mn de 7 mm/h. Les résultats montrent que la technique du combiplow permet de limiter le ruissellement. Cette limitation est particulièrement marquée pour le premier événement pluvieux ruisselant. Cet impact semble s'atténuer au cours du temps du fait probablement d'une évolution rapide des états de surface. Le combiplow induit donc une forte infiltrabilité du sol due à la décompaction et à la forte rugosité créée en surface. La présence d'un mulch limite fortement le ruissellement lors des trois pluies.

Une simulation de pluie d'une heure à intensité constante de 30 mm/h, réalisée sur les trois modalités, a permis d'évaluer la conductivité hydraulique à saturation de

chacune d'elles. Celle-ci est respectivement de 2 mm/h, 22 mm/h et supérieure à 22 mm/h pour la conduite conventionnelle, le combiplow sur sol nu et combiplow avec mulch.

Sur le site de Kerguéhennec, trois modalités ont été également comparées : la conduite conventionnelle, le combiplow sur sol nu et le parasemis sur sol nu. La conduite conventionnelle est celle qui provoque les ruissellements les plus importants lors des deux évènements pluvieux enregistrés, caractérisés par une hauteur de pluie de 26 mm et une intensité maximale sur 6 mn de 16,5 mm/h pour le premier et une hauteur de pluie de 36.6 mm et une intensité maximale sur 6 mn de 30 mm /h pour le second. Les techniques culturales simplifiées (parasemis et combiplow) ont un effet important sur le ruissellement. L'impact de ces techniques est lié à l'amélioration de l'infiltrabilité des sols provoquée par les dents de décompaction utilisées à la fois sur le parasemis et le combiplow et à l'augmentation de la rugosité induite dans le cas seulement du combiplow.

Une simulation de pluie d'une heure à intensité constante de 40 mm/h, réalisée sur les trois modalités, a permis d'évaluer la conductivité hydraulique à saturation de chacune d'elles. Celle-ci est de 2 mm/h, 33,7 mm/h et supérieure à 40 mm/h pour respectivement la conduite conventionnelle, le parasemis et le combiplow.

Les techniques simplifiées permettent de réduire nettement le ruissellement sur les deux sites, particulièrement lors du premier évènement.

2.2.2 Les transferts d'atrazine

Le traitement herbicide est composé d'atrazine, de sulcotrione et de nicosulfuron. A Rennes, le traitement a été réalisé le 17/05/98, avec 1000 g/ha d'atrazine, 300 g/ha de sulcotrione et 40 g/ha de nicosulfuron. A Kerguéhennec, le traitement a été réalisé le 05/06/98, à la même dose d'atrazine, à des doses de respectivement 225 g/ha et 30 g/ha pour la sulcotrione et le nicosulfuron.

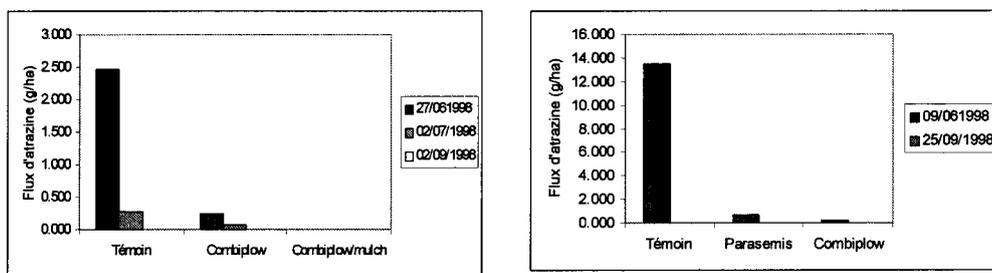


Fig. n° 4 : Transferts d'atrazine selon les différentes techniques de travail du sol

Sur le site de Rennes, les concentrations en atrazine pour le travail simplifié sur mulch sont très faibles (presque nulles) quelle que soit la pluie considérée. Par contre pour le travail simplifié sur sol nu et la conduite conventionnelle, les

concentrations en atrazine sont importantes lors de la première pluie, de 272 µg/l pour le travail simplifié sur sol nu et de 302 µg/l pour la conduite conventionnelle. Lors de la seconde pluie, les concentrations diminuent mais toujours avec des concentrations importantes, un peu moindre pour le travail simplifié sur sol nu (41 µg/l) par rapport à celles de la conduite conventionnelle (86 µg/l). Lors de la troisième pluie, les concentrations des deux modalités sont faibles et voisines (0,9 et 0,6 µg/l).

Ces résultats démontrent l'intérêt du travail simplifié sur mulch pour réduire considérablement les transferts de pesticides par ruissellement. Le mulch limite d'une manière très importante les écoulements de surface, réduisant ainsi les transports de charges solides et de pesticides. Le travail simplifié sur sol nu conduit à des concentrations un peu moins élevées que dans le cas de la conduite conventionnelle, ces concentrations restant tout de même élevées, plus élevées en tout cas que celles du travail simplifié avec mulch.

Dans les cas où les ruissellements sont importants (conduite conventionnelle et à un degré moindre le travail simplifié sur sol nu), c'est au cours de la première pluie que les départs de pesticides sont les plus marqués. Ensuite, les concentrations vont en diminuant progressivement d'une pluie à l'autre.

Sur le site de Kerguéhennec, les concentrations d'atrazine les plus élevées sont celles qui concernent le premier évènement ruisselant intervenu seulement 4 jours après le traitement. C'est sur la parcelle en conduite conventionnelle que l'on observe la plus forte concentration (817 µg/l). Pour les techniques sans labour, les concentrations sont nettement plus faibles. Elles sont de 181 µg/l pour le combiplow et de 424 µg/l pour le parasemis. Pour la seconde pluie, l'atrazine est détecté uniquement sur la conduite conventionnelle à une concentration de 1,34 µg/l. Les flux d'atrazine sont surtout liés à la conduite conventionnelle. Ils atteignent lors du premier ruissellement 13,49 g/ha. Ces flux sont respectivement de 0,20 g/ha et de 0,68 g/ha pour le parasemis et le combiplow. Pour ce premier ruissellement, les techniques simplifiées permettent globalement une réduction des flux d'au moins 95%, en référence à la conduite conventionnelle.

3. Conclusion

Des dispositifs expérimentaux ont été mis en place sur de petites parcelles pour analyser l'incidence des itinéraires de culture du maïs sur le ruissellement et les transferts d'herbicide à la surface du sol.

Le désherbage mixte, comparativement à un traitement chimique en plein, permet de réduire la concentration des matières actives dans les eaux de ruissellement. Cette réduction d'un ordre de grandeur de 75 % pour la première pluie ruisselante, est liée à la diminution de la surface traitée et à la localisation des produits sur le rang, limitant leur transfert vers l'inter-rang. En favorisant l'infiltration grâce au binage, cette technique permet de limiter les flux de manière importante (de plus

de 90 % à Kerguéhennec sur la première pluie ruisselante). Cette efficacité apparaît comparable à celle de la bande enherbée. Malgré son intérêt environnemental confirmé, cette technique demeure encore malheureusement au stade de la démonstration. Des efforts méritent d'être développés pour faire connaître cette itinéraire de désherbage et la bineuse.

Les techniques culturales simplifiées testées à la fois sur le site de Rennes et de Kerguéhennec ont porté sur l'utilisation du parasemis et du combiplot. Des résultats concordants et encourageants ont été obtenus. En effet, ces techniques sans labour ont un effet important sur l'infiltrabilité du sol. Par rapport à une conduite conventionnelle, celle-ci est multipliée, grâce au combiplot, par 10 à Rennes et par 15 à Kerguehennec et elle l'est par 3,5 pour le parasemis à Kerguehennec. Si l'influence de ces techniques sur les concentrations des eaux reste relativement limitée, les surfaces étant traitées en plein, elle est en revanche particulièrement élevée sur la réduction des flux (de l'ordre de 90 %). Comme pour le désherbage mixte, ces techniques peuvent être encouragées. Outre leur intérêt environnemental, elles permettent de réduire le temps d'implantation des cultures, à l'heure où le facteur temps au sein des exploitations devient limitant. Toutefois, des précautions sont à prendre sur les parcelles drainées ou proche de la nappe, là où l'écoulement de surface peut être relayé par des infiltrations préférentielles et des écoulements rapides de subsurface. Si ces transferts sont a priori relativement faibles en période de printemps-été, ils doivent être analysés à d'autres périodes. Ces résultats doivent ainsi être considérés comme des résultats préliminaires, d'autres références étant nécessaires pour analyser d'autres périodes que celle de printemps et d'autres outils.

Bibliographie

- Cheverry C., 1998, *Agriculture et qualité des eaux*. Le programme CORMORAN "Caractérisation, observation et modélisation de la qualité des eaux en milieu agricole intensif", INRA Edition, 297 p.
- Cros-Cayot S., 1996, Distribution spatiale des transferts de surface à l'échelle du versant. Thèse ENSA-INRA Rennes, 218 p.
- Gascuel-Odoux C., Heddadj D., 1999, Maîtrise des transferts de surface dans le contexte armoricain, 115p.
- Heddadj D., Gascuel-Odoux C., 1997, Le désherbage mixte du maïs. Synthèse régionale des expérimentations, 48 p.
- Heydel L., 1998, Diagnostic et maîtrise des contaminations des eaux souterraines par les résidus d'atrazine. Thèse de l'INPL, 160p.
- Le Bissonnais Y., Gascuel-Odoux C., 1999, *L'érosion hydrique des sols cultivés*. In : Sols, interfaces fragiles, INRA Edition, 129-144.
- Monnier G., Thevenet G., Lesaffre B., 1991, *Simplification du travail du sol*. INRA-Editions, collection "les colloques", 172 p.
- Mossiman, 1991, Lutte contre l'érosion des sols cultivés. Guide pour la conservation des sols, 187 p.

Evaluation du plan d'action sur le bassin versant céréalier d'Auradé dans le GERS

Respect d'un protocole d'observation et de raisonnement des cultures de blé et tournesol, établi par un groupe technique en fonction des pratiques locales et impact sur le suivi de la qualité des eaux au ruisseau.

Evaluation of the action on the hydrographic area of Auradé (GERS)

Enforcement of the protocol of observation and integrated protection on wheat and sunflower's crop, settled by the technical group depending on the local practices and on the stream water quality.

Aurélie GILLE - DRAF – SRPV

Cité administrative, BAT E, av Armand Duportal - 31000 TOULOUSE

06/07/2001

Résumé : L'objectif premier de cette étude était la mesure de l'impact des pratiques agricoles sur la qualité des eaux du bassin versant d'Auradé. Suite au constat de dégradation de la qualité des eaux, un plan d'action visant à reconquérir la qualité de cette ressource en eau a été mis en place. L'implantation des dispositifs enherbés et la démonstration de leur efficacité a constitué un premier pas.

L'étape suivante est l'amélioration des pratiques phytosanitaires des agriculteurs par un meilleur raisonnement des traitements et par une réflexion plus globale au niveau des rotations des cultures.

Compte tenu de la synthèse des résultats acquis depuis 1990 concernant la qualité des eaux, un groupe de travail a réfléchi sur les pratiques phytosanitaires des cultures principales du bassin : blé et tournesol. Le protocole établi indique les stratégies de désherbage à suivre, précise par ravageur ou maladie, les périodes et les méthodes d'observations, les seuils d'intervention et les produits commerciaux préconisés et évalue sur le plan technico-économique les nouveaux itinéraires proposés.

La liste des produits de substitution ou de diversification proposés aux agriculteurs a été choisie en fonction des efficacités reconnues des spécialités commerciales, des caractéristiques des matières actives et des produits phytosanitaires disponibles au niveau des deux distributeurs du bassin versant.

Le bilan de cette première campagne de mise en œuvre du protocole montre la bonne adhésion des agriculteurs. En outre, le suivi de la qualité des eaux semble mettre en évidence un moindre impact de ces nouveaux itinéraires sur la qualité des eaux.

Ces résultats sont certes encourageants, mais à vérifier lors de prochaines campagnes.

Abstract : *The first aim of this study was the evaluation of the impact of agricultural production on the stream water quality. After this first statement of the water quality degradation, an action was launched in order to recover the quality of the resource. Grassy bands devices were settled along the stream to demonstrate the efficacy of these protections in the reduction of the contamination.*

The following step is the improvement of the agricultural practices, by limiting chemicals treatments, and by a global approach on the crop rotations.

Aware of the water quality results, a technical work group thought about the practices of the main crops of the area: sunflower and wheat. The protocol indicates the appropriated strategies of weed control, specifies for each pest, the periods, observations, treatment thresholds, and appropriated chemical products, and evaluate technically and economically these new itineraries.

A list of products is proposed to the farmers in order to substitute or diversify depending of the efficacy, the characteristics of the substances, and the chemical products available on the two local merchants.

The results of the first campaign show the good enforcement of the farmers. Moreover, the measure of the water quality seems to put in evidence a lower impact of these itineraries on water quality. These results are encouraging but need to be check during the following campaigns.

Mots-clés : Bassin versant Auradé - plan d'action - bandes enherbées - protocole - agriculture raisonnée – observation - qualité des eaux

Keywords : *hydrographic area of Auradé – action - grassy bands - protocol – integrated agriculture – observation - water quality*

Introduction

Depuis 1983, la société chimique Grande Paroisse Atochem mène sur le bassin versant d'Auradé, une étude visant à diminuer la teneur en nitrates dans les ruisseaux. Le Service Régional de la Protection des Végétaux quant à lui, a lancé un suivi de la qualité des eaux à partir de 1991. L'objectif premier de cette étude était la mesure de l'impact des pratiques agricoles sur la qualité des eaux du bassin versant d'Auradé.

Suite au constat de dégradation, un plan d'action visant à reconquérir la qualité de cette ressource a été mis en place. L'implantation des dispositifs enherbés le long des cours d'eau et la démonstration de leur efficacité a constitué un premier pas.

L'étape suivante est l'amélioration des pratiques phytosanitaires des agriculteurs par un meilleur raisonnement des traitements et par une réflexion plus globale au niveau des rotations des cultures.

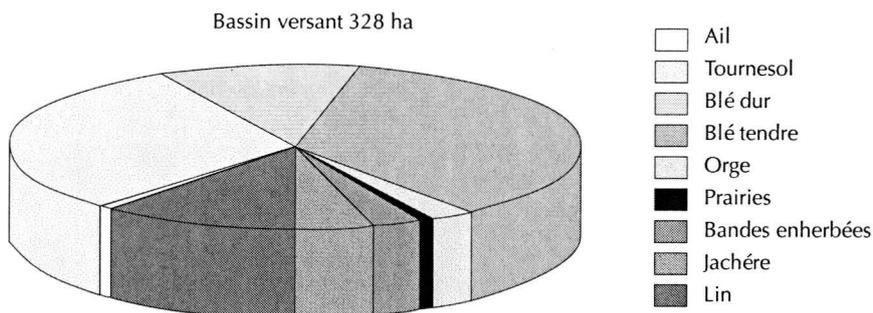
Après une rapide présentation du bassin versant et des résultats expérimentaux acquis sur ce bassin, le protocole mis en œuvre par les agriculteurs sera détaillé. Ensuite, le respect de ce protocole et l'impact des stratégies préconisées sur la qualité des eaux seront évalués.

1. Présentation du BV

1.1 Caractéristiques du bassin versant

Le bassin versant d'Auradé, d'une superficie de 2200 ha, est à vocation exclusivement agricole, céréales à pailles (blé et tournesol essentiellement). L'organisation de ce bassin permet la constitution de plusieurs sous-bassins dont notamment un bassin versant de 328 ha, sur lequel la qualité des eaux est suivie.

L'occupation du sol est la suivante :



Graphique n°1 : assolement du BV campagne 99/2000

A proximité des terrasses de la Garonne, le bassin versant d'Auradé fait partie des coteaux Est du Gers, taillés dans la molasse oligomocène, formée de dépôts lacustres et fluviaux d'origine pyrénéenne.

Cette formation géologique est dans l'ensemble imperméable de sorte que les nappes phréatiques sont rares et peu fournies. Le substratum molassique a donné naissance à des sols de type terrefort : sols lourds et argileux (36 % d'argile) généralement calcaires (pH 8).

Ce bassin est caractérisé par de fortes pentes (15 à 20 %).

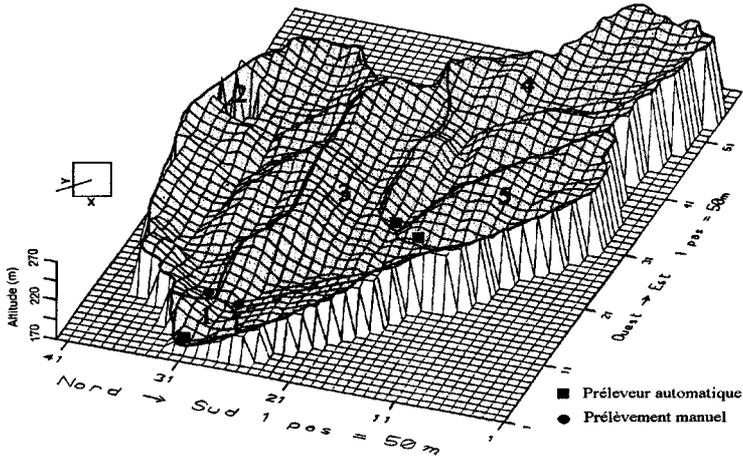


Fig. n° 1 : Représentation du BV

Dans ce milieu physique, la circulation de l'eau est essentiellement superficielle. Les phénomènes de transferts des produits phytosanitaires s'effectuent surtout par ruissellement dans les premiers décimètres du sol.

Des bandes enherbées ont été implantées en bordure des ruisseaux, pour limiter les transferts.

1.2 Synthèses des résultats expérimentaux

Sur quelques parcelles, des dispositifs expérimentaux équipés de cuve de récupération des eaux de ruissellement ont été installés en amont et en aval de la bande enherbée. Il s'agit de gouttières, pour collecter les eaux de ruissellement sub-superficiel et de tranchées drainantes, pour les eaux de ruissellement (hypodermique et superficiel). Les concentrations en produits phytosanitaires provenant des échantillons amont et aval des bandes enherbées ont été comparées.

Des études au cours de plusieurs campagnes ont permis de démontrer l'efficacité de ces bandes enherbées implantées en aval de différentes cultures (blé, tournesol) sur la réduction des concentrations en produits phytosanitaires.

Le non stockage des molécules phytosanitaires dans le sol et dans la biomasse végétale de ces dispositifs tampons a aussi été vérifié.

2. Présentation du plan d'action

2.1 Implantation des bandes enherbées

Le plan d'action sur Auradé s'est donc déroulé en deux phases : tout d'abord la généralisation de ces dispositifs enherbés situés en bordure des ruisseaux.

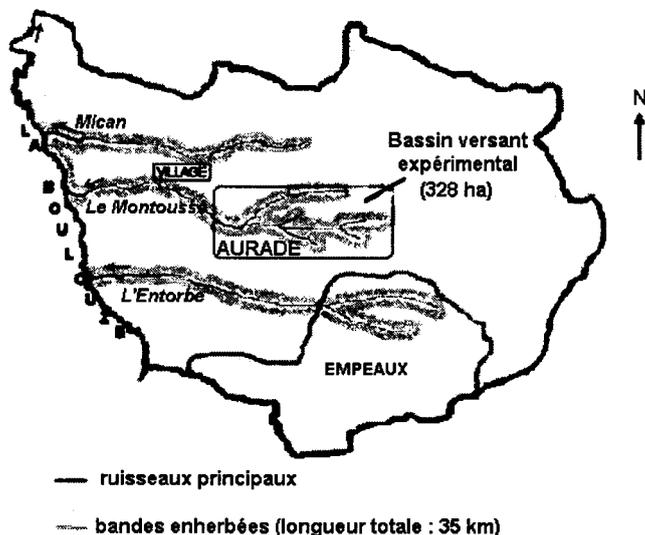


Fig. n° 2 : Représentation du BV et localisation des bandes enherbées

La deuxième phase de ce plan d'action consiste en l'amélioration des pratiques phytosanitaires des agriculteurs par un meilleur raisonnement des traitements et par une réflexion plus globale au niveau des rotations des cultures.

2.2 Modification des pratiques des agriculteurs

2.2.1 Réalisation d'un protocole

Compte tenu de la synthèse des résultats acquis depuis 1991 concernant la qualité des eaux, des rotations pratiquées sur Auradé, un groupe de travail a réfléchi sur les pratiques phytosanitaires des principales cultures du bassin : blé et tournesol.

Il est composé de :

- l'Association des Agriculteurs d'Auradé,
- la Fédération Régionale de Défense contre les Ennemis des Cultures (FREDEC) Midi-Pyrénées,
- le Service Régional de la Protection des Végétaux Midi-Pyrénées,
- la Chambre d'Agriculture du Gers,

- les instituts techniques (CETIOM, ITCF),
- les deux coopératives agricoles influentes sur le bassin (Toulousaine de céréales, CASCAP).

Ce protocole indique les stratégies de désherbage à suivre, précise par ravageur ou maladie, les périodes et les méthodes d'observations, les seuils d'intervention et les produits commerciaux préconisés, et évalue sur le plan technico-économique les itinéraires proposés.

La liste des produits de substitution ou de diversification proposés aux agriculteurs a été choisie en fonction :

- des résultats du suivi de la qualité des eaux du bassin (fréquentes détections de trifluraline, linuron, oxadiazon, fluzilazole, fenpropimorphe, imazaméthabenz, cyproconazole, tébuconazole, etc.)
- des efficacités reconnues des spécialités commerciales,
- des caractéristiques physico-chimiques des matières actives, des produits phytosanitaires disponibles au niveau des deux distributeurs du bassin versant,
- et du coût des stratégies proposées aux agriculteurs.

Les produits sont systématiquement mentionnés par ordre alphabétique.

Ce protocole concerne les 2200 ha de la commune d'Auradé et ne s'applique qu'à cette zone d'étude. Aucun avis n'est émis sur les produits non disponibles sur cette zone. Aucune extrapolation des conseils pris sur ce bassin n'est cautionnée par le groupe de travail.

2.2.2 Fondement du protocole

Il est préconisé aux agriculteurs :

1. concernant la lutte contre les adventices

- de tenir compte de la flore locale afin de choisir la stratégie la plus pertinente,
- de raisonner l'utilisation de la trifluraline (qui présente sur le bassin des taux de détections assez importants), et des urées substituées (compte tenu de leurs fréquentes détections dans le nord de la France).

Culture du tournesol

- de privilégier d'autres substances actives, de diversifier : aclonifen, fluorochloridone, glyphosate, pendiméthalin, etc.

Culture du blé tendre/blé dur

- de maintenir l'utilisation des produits de la famille des aryloxyphénoxy-propionates (« fop »),
- de réserver l'emploi d'imazaméthabenz et des urées aux parcelles présentant des situations de résistances de la folle avoine aux « fop ».

2. concernant la lutte contre les maladies
 - de raisonner le choix de la variété en fonction de la tolérance aux maladies,
 - de positionner les dates d'application des produits en fonction des préconisations locales (modélisation, avertissement agricole®, isoristiques, etc.),
 - de limiter les utilisations de triazoles qui sont fréquemment détectées.

3. concernant la lutte contre les insectes
 - de positionner les applications des produits en fonction des préconisations locales (avertissement agricole®, isoristiques, etc.),
 - de faire attention aux associations pyréthrénoïdes/triazoles (fortement toxiques pour les abeilles) - un délai supérieur à trois jours est souhaitable entre l'application de chacun de ces produits - ,
 - et positionner les traitements de préférence aux périodes de moindre activité des abeilles.

3. Evaluation du plan d'actions

Dans un premier temps, l'adhésion des agriculteurs du bassin versant au protocole de raisonnement est évaluée grâce à l'enquête exhaustive des pratiques phytosanitaires réalisée par les deux techniciennes de l'association.

Dans un deuxième temps, l'impact de ces nouveaux itinéraires sur la reconquête de la qualité des eaux du bassin a été étudié. Ces résultats ont bien sûr été mis en parallèle avec l'adoption des changements de pratiques préconisés.

3.1 Respect du protocole

3.1.1 Résultats globaux

Le tableau ci-dessous présente la synthèse des quantités de matières actives apportées, par famille et par culture, sur le bassin versant de 328 ha.

	Fongicide	Herbicide	Insecticide	Total
Blé dur	-47%	-28%	-49%	-33%
Blé tendre	-1%	-41%	-79%	-37%
Tournesol	-86%	28%		-22%
Total	-60%	-27%	-83%	-39%

Tableau n° 1 : Variation des quantités de matières actives apportées par famille et par culture sur le bassin versant de 328 ha comparaison campagne 97/98-99/2000.

Compte tenu de la rotation des cultures et des assolements, ces chiffres sont comparés à ceux de la campagne 1997/1998.

Sur le bassin versant de 328 ha, 443 kg de molécules phytosanitaires ont été employées, ce qui représente par rapport à la campagne 1997/1998 une baisse de 39 % des quantités globales utilisées ; les applications d'herbicides, fongicides, insecticides ont diminué. Seule une hausse des herbicides employés en désherbage du tournesol est observée.

Ces résultats peuvent être mis en relation avec une pression phytosanitaire assez faible, l'utilisation de molécules à plus faible dose/hectare (strobilurines par ex : krésoxim méthyl et azoxystrobine), et le raisonnement des agriculteurs.

3.1.2 Résultats tournesol

Plus de 35 % des surfaces du bassin n'ont reçu ni urée ni trifluraline. L'utilisation de la trifluraline représente 52 % des surfaces traitées et celles des urées substituées (linuron) 33 %. La quantité de trifluraline est passée de 909 g/ha lors de la campagne 1997/1998 à 507 g/ha lors de cette campagne, ce qui représente une diminution de 44 %, conforme aux préconisations du protocole.

Par contre, l'utilisation d'urée substituée employée a augmenté mais les quantités restent faibles.

La diversification des molécules employées a bien été suivie : aclonifen, flurochloridone et pendiméthaline.

Globalement l'emploi des fongicides a baissé de 86 %. L'utilisation du fluzilazole a fortement diminué passant de 72 g/ha en 1998 à 14 g/ha lors de cette campagne soit -80 %. Les agriculteurs ont choisi des variétés de semences tolérantes au phomopsis ce qui a permis, même en année favorable à cette maladie, de maintenir faible la sole traitée.

Aucune protection insecticide n'a été réalisée sur les 98 ha de tournesol lors de cette campagne tout comme lors des campagnes précédentes.

3.1.3 Résultats blé tendre

Le protocole a été bien respecté concernant le choix des produits et doses. En effet, les urées substituées n'ont pas été utilisées, et seules 16 % des surfaces de blé tendre ont reçu un traitement à base d'imazaméthabenz-méthyl, mais des cas de résistance de la Folle Avoine aux « fop » avaient été notés sur ces parcelles.

Côté fongicides, le cyproconazole n'a pas été utilisé et la quantité de tébuconazole appliqué sur blé tendre du bassin versant a diminué de 64 %. Même si les périodes de traitement semblent appropriées, des incertitudes demeurent quant au choix de la date des traitements fongicides par les agriculteurs. Une enquête plus

précise sera effectuée auprès des agriculteurs pour la prochaine campagne afin de connaître les raisons de leur traitement (contrôle visuel, seuils d'intervention avertissement agricole®, traitement préventif...).

Seulement 28 % des surfaces de blé tendre ont reçu une protection contre le puceron d'épi du 12 au 22 mai. Les produits préconisés ainsi que leur dose ont été respectés. Néanmoins, une incertitude sur le caractère systématique ou raisonné des traitements subsiste.

Dans la plupart des cas, le traitement insecticide a été fait en association avec le fongicide. Les agriculteurs n'étaient pas conscients que les cultures de blé pouvaient aussi être aussi attractives pour les abeilles. Néanmoins, la plupart des traitements insecticides ont été effectués en fin de journée, période moins préjudiciable pour les butineuses.

3.1.4 Résultats blé dur

Aucun produit à base d'imazamethabenz-méthyl ou d'urée substituée n'a été utilisé. Les produits préconisés, ainsi que leur dose ont été respectés.

Toutes les parcelles ont reçu deux protections fongicides et les préconisations concernant les produits ainsi que leur dosage ont été respectés.

Le conseil limitant l'emploi des triazoles a bien été suivi. Le cyproconazole n'est plus utilisé et l'emploi tébuconazole a diminué de 42 %.

58 % des surfaces de blé dur du bassin versant ont reçu une protection insecticide. Les surfaces traitées l'ont été conformément au protocole. Un seul dépassement de dose dû à une méconnaissance de la réglementation a été remarqué.

3.2 Résultats sur la qualité des eaux

3.2.1 Prélèvements d'eau

Les prélèvements d'eau sont effectués par un échantillonneur automatique, réglé au pas de temps de quatre heures, à l'exutoire du Bassin Versant de 328 ha. Un échantillon de 200 ml est prélevé toutes les 4 heures.

Les flacons de prélèvement sont stockés en chambre froide à 4°C. Un échantillon moyen, représentant 15 jours de surveillance, est réalisé avec ajout de 100 ml de dichlorométhane, ceci afin de stopper la dégradation éventuelle des molécules.

3.2.2 Protocole de suivi

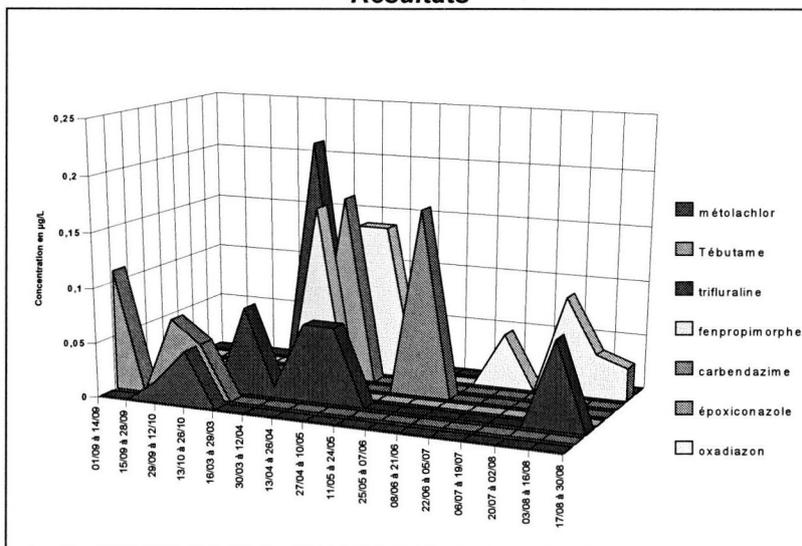
Le choix des substances actives à rechercher s'effectue selon les critères suivants:

- rang sur la liste SIRIS (comprenant les quantités de matières actives utilisées et les caractéristiques de mobilité et persistance des molécules), effectuée à l'échelle du sous bassin étudié
- résultats des années précédentes,
- possibilités analytiques des laboratoires.

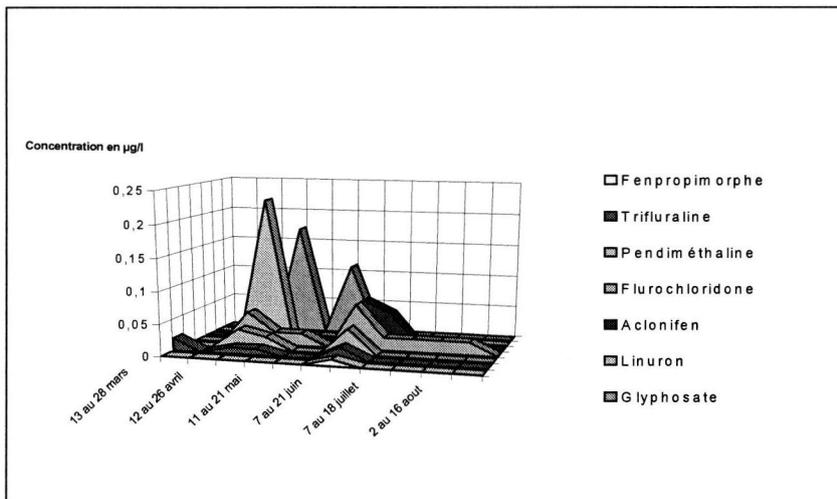
Cette année, 17 molécules différentes ont ainsi été analysées.

Pour une matière active donnée, sa période de suivi dans l'eau est fonction de sa date d'épandage. La recherche s'effectue lorsqu'il y a le maximum de risque d'apparition de la substance dans les eaux.

Résultats



Graphique n° 2 : résultats du suivi de la qualité des eaux, campagne 97/98



Graphique n° 3 : résultats du suivi de la qualité des eaux, campagne 99/2000

Une baisse globale des concentrations moyennes est observée.

Un seul fongicide, le fenpropimorphe a été détecté à une concentration qui reste faible ($0.01\mu\text{g/l}$ contre $0.17\mu\text{g/l}$ pour la campagne 97/98).

Conformément à la diminution de son emploi sur le bassin, la trifluraline est détectée à des concentrations moyennes plus faibles qu'auparavant ($0.02\mu\text{g/l}$ comparativement à $0.08\mu\text{g/l}$).

Le linuron est détecté à $0.22\mu\text{g/l}$ (plus haute concentration moyenne observée cette campagne).

Conclusion

Le plan d'action sera poursuivi en 2001, une enquête plus approfondie portera sur les pratiques des agriculteurs afin de déterminer lors de chaque traitement quel est le critère décisif dans le positionnement de l'application.

De plus, une enquête sur les utilisations de produits phytosanitaires employés en zone non agricole et sur les techniques d'application et de manipulation des produits phytosanitaires sera menée.

Le bilan de cette première campagne de mise en œuvre du protocole montre le respect du protocole par les agriculteurs.

De plus, le suivi de la qualité des eaux semble mettre en évidence un moindre impact de ces nouveaux itinéraires sur la qualité des eaux.

La forte participation de tous les acteurs sur le terrain est aussi un élément de réussite indéniable. De plus, la bonne adhésion des agriculteurs à ce programme est garantie en partie par le souci du groupe de travail de vouloir toujours garder associé les aspects techniques, économiques, aux préoccupations environnementales.

Ces résultats sont certes encourageants, mais à vérifier lors de prochaines campagnes.

Liste bibliographique

- Impact des pratiques phytosanitaires sur la qualité des eaux dans un bassin versant céréalier (Auradé – Gers) : Efficacité des dispositifs enherbés dans le transfert des molécules phytosanitaires vers le milieu aquatique superficiel ; Etude de l'impact de nouvelles pratiques agricoles sur la qualité de l'eau des ruisseaux (BV Auradé)– Rapport de campagne 1999/2000. FREDEC/SRPV Midi-Pyrénées, 2001.
- Qualité des eaux d'un bassin versant céréalier (Auradé – Gers). Efficacité des dispositifs enherbés dans les eaux de ruissellement et hypodermiques. Rapport de campagne 1998/1999. FREDEC/SRPV Midi-Pyrénées, 2000.
- Qualité des eaux d'un bassin versant céréalier (Auradé – Gers). Efficacité des dispositifs enherbés dans les eaux de ruissellement. Rapport de campagne 1997/1998. FREDEC/SRPV Midi-Pyrénées, 1999.
- La pollution diffuse par les produits phytosanitaires en milieu agricole – Etude sur le BV d'Auradé (1991/1996) - Plaquette de présentation. FREDEC/SRPV Midi-Pyrénées, 1997.
- Qualité des eaux d'un BV céréalier – Campagne 1993/1994. FREDEC/SRPV Midi-Pyrénées, 1995.
- Pratiques phytosanitaires et qualité des eaux d'un BV céréalier (synthèse de 3 années d'étude – 1991 à 1993). FREDEC/SRPV Midi-Pyrénées, 1994.

Réduction de la présence de résidus de produits phytosanitaires dans un petit bassin agricole belge

Reduction of the presence of crop protection products in a small agricultural basin in Belgium

Sabine Beernaerts, Philippe Debongnie, Carl De Vleeschouwer, Alain Delvaux et Luc Pussemier

Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA) –
Ministère des Classes Moyennes et de l' Agriculture
Leuvensesteenweg, 17 -3080 Tervuren – Belgique
Tél : + 32 2 769 22 46 – Fax : + 32 2 769 23 05 - Mél : s.beernaerts@var.fgov.be

Résumé : Durant les printemps 1998 et 1999, la réalisation d'un bilan de masse sur un petit bassin agricole belge, le Nil (32 km²), a permis de mettre en évidence la prépondérance des pertes ponctuelles dans la charge totale du cours d'eau en atrazine, isoproturon, chloridazon et lénacil.

Suite à ce constat, un projet-pilote de réduction de la présence de produits phytosanitaires dans ce bassin a été mis en place en janvier 2000. La stratégie adoptée est d'une part d'informer les quelques 50 agriculteurs actifs sur le site quant au problème des pertes ponctuelles, et d'autre part de les conscientiser et de les conseiller pour tenter de modifier leurs pratiques phytosanitaires dans le sens d'une diminution des pertes ponctuelles.

Après un an, une réduction de 75 % de la charge de certains herbicides dans le cours d'eau a été obtenue.

Une action a également été menée auprès de la commune pour en vue de réduire utilisation de diuron en désherbage des voiries.

Abstract : *During the springs 1998 and 1999, a mass balance on a small catchment in Belgium, the Nil (32 km²), shows the dominance of point losses in the total load of the river for atrazine, isoproturon, chloridazon and lenacil.*

Following these results a pilot-project was started in 2000 with the aim to reduce the crop protection products loads in the Nil catchment. The strategy adopted is first to inform the 50 farmers working on the site about the point sources problem and second to give them advice on the handling of the products in order to reduce the point losses.

After one year, a load reduction of 75 % was obtained for some herbicides in the river.

An action was also carried out by the municipality in order to reduce their use of diuron on roads.

Mots-clés : pesticides, sources ponctuelles, charge, encadrement des agriculteurs, réduction des émissions

Keywords : *pesticides, point sources, load, stewardship, reduction of emissions*

Introduction

De nombreux monitoring en Europe mettent en évidence la présence de produits phytosanitaires d'origine agricole et non agricole dans les cours d'eau (Horth, 1998). La majorité des études réalisées jusqu'à présent visaient à quantifier l'importance des sources diffuses (dépôt via le nuage de pulvérisation, drainage et ruissellement et érosion) dans la charge en produits phytosanitaires des eaux de surface (Burgoa and Wauchope, 1995 ; Bromilow et al., 1998 ; Fisher, 1996 ; Bach, 1996 ; Seel et al., 1994 ; Ganzelmeier et al., 1996). Cependant ces dernières années, les sources de pollution ponctuelle ont été mises en évidence et il semble que leur contribution à la charge totale serait dominante par rapport aux sources diffuses (Fisher et al., 1996 ; Fisher et al., 1998 ; Carter, 1999). Les pertes ponctuelles (ou pertes directes) résultent non pas du traitement proprement dit mais des manipulations qui sont réalisées avant et après le traitement : évacuation des fonds de cuve, rinçage du pulvérisateur, nettoyage du pulvérisateur, rinçage des bidons, débordement lors du remplissage, éclaboussures de produit commercial concentré lors de la préparation de la bouillie, non respect des bonnes pratiques agricoles... Ces manipulations sont en général localisées dans la cour de la ferme sur des surfaces imperméables (surfaces « en dur » telles que le béton et le macadam), ces surfaces sont très sensibles au ruissellement (quelques millimètres sont suffisants) (Shepherd, 2000) et, lorsqu'elles sont connectées à un fossé ou au réseau d'égout, le produit arrive rapidement dans les cours d'eau.

Les objectifs de cette étude sont de déterminer la part de l'apport des sources ponctuelles dans la charge totale d'un cours d'eau en produits phytosanitaires et, par la suite, en fonction de ce diagnostic, de déterminer et mettre en place des solutions correctives raisonnées et efficaces.

1. Matériel et méthodes

Le bassin du Nil est situé au centre du pays dans la province du Brabant Wallon sur le commune de Walhain-Saint-Paul (figure 1). Sa superficie totale est de 32 km², la longueur du réseau hydrographique est de 14,10 km.

Le sol est limoneux et le drainage artificiel est très peu pratiqué. Environ 50 agriculteurs sont actifs dans le bassin.

Le choix de ce bassin repose sur un certain nombre de critères :

- 1) activité agricole intense
- 2) temps de réponse de 24 heures
- 3) répartition homogène dans l'espace des événements pluvieux
- 4) période de traitement phytosanitaire assez limitée dans le temps pour chaque produit

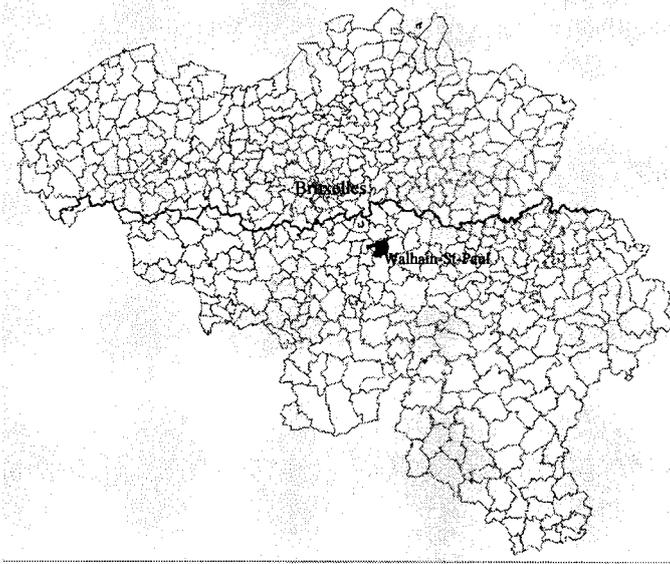


Fig. n° 1 : Localisation géographique du bassin du Nil

La figure 2 présente l'occupation du sol et permet de vérifier que le premier critère de sélection est bien rempli. En effet, 76 % de la surface totale du bassin sont occupés par les cultures saisonnières, 12% par les prairies permanentes, 5 % par les forêts et les 7 % restants sont les zones habitées. Les cultures majoritaires sont les céréales (principalement le froment d'hiver et l'escourgeon) et les betteraves (essentiellement sucrières).

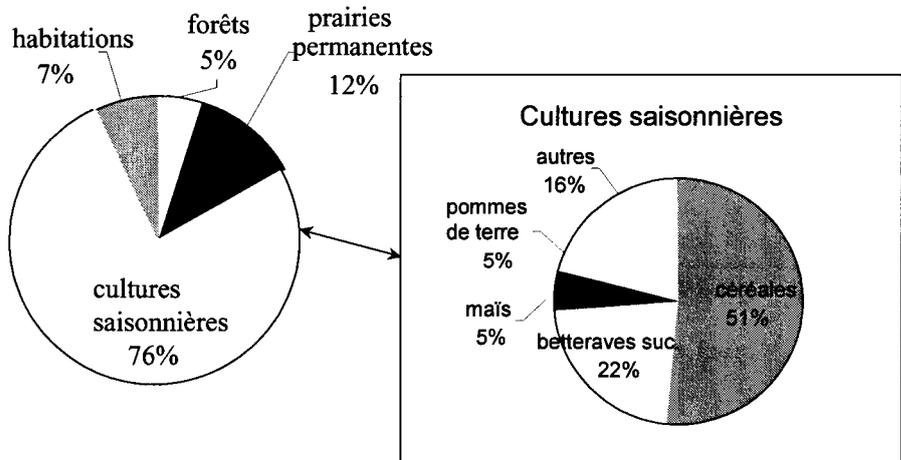


Fig. n° 2 : Occupation du sol dans le bassin versant du Nil.

La figure 3 présente l'évolution du débit moyen journalier et la pluviométrie pour une des années de suivi du bassin, 1998. Le deuxième critère de sélection est rempli car par exemple, après la pluie du 7 avril, le maximum de débit est observé le 8 avril.

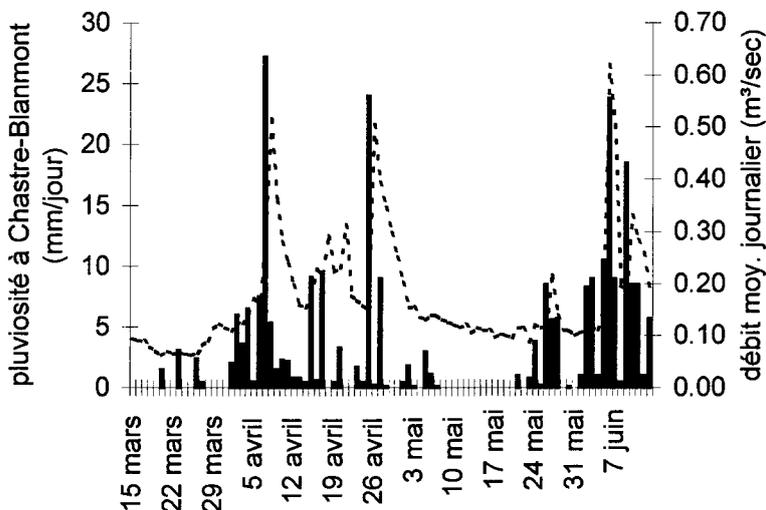


Fig. n° 3 : Evolution du débit moyen journalier (en pointillés) et pluviométrie (bâtonnets) pour la période du 15 mars au 15 juin 1998

Les critères 3 et 4 sont importants pour permettre une interprétation claire des résultats, ils sont remplis en sélectionnant un bassin de petite taille et des produits donc l'usage est bien délimité dans le temps (cas des herbicides agricoles).

Le bassin est légèrement vallonné. Le tableau 1 montre que 65 % de la surface totale du bassin est de pente inférieure à 1 % et 95 % de la surface est de pente inférieure à 3 %.

Pente	Pourcentage de la surface totale	Pourcentage cumulé de la surface totale
0-1 %	63	63
1-2 %	23	86
2-3 %	9	95
3-4 %	3	98

Tableau n° 1 : Topographie du bassin du Nil.

22 Sources : Institut Royal Météorologique (IRM, pour la pluviométrie) et Direction Générale des Ressources Naturelles et de l'Environnement (DGRNE, pour le débit) – Division de l'Eau – Direction Générale des Ressources Naturelles et de l'Environnement – Ministère de la Région wallonne

Les concentrations en matières actives ont été mesurées quotidiennement sur la période de mi-mars à mi-juin durant les années 1998 (15 mars au 13 juin), 1999 (10 mars au 22 juin) et 2000 (1 mars au 20 juin).

Les matières actives suivies sont des herbicides clés du schéma phytosanitaire des grandes cultures belges ainsi que 2 molécules utilisées dans le secteur non agricole (commune, particuliers et entrepreneurs de jardin) (tableau 2).

Matières actives	Application
Isoproturon	Céréales
Chloridazon	Betteraves
Lénacile	Betteraves
Atrazine	Maïs
Diuron	Usage non agricole
Simazine	Usage non agricole

Tableau n° 2 : Matières actives suivies lors du monitoring du bassin du Nil et utilisation

2. Résultats et discussion

2.1 Méthode d'interprétation des résultats : exemple de l'isoproturon en 1998.

L'exemple de l'isoproturon en 1998 est développé en détails pour illustrer la méthode de travail (figure 4).

La figure 4 rassemble :

- les concentrations mesurées (bâtonnets, $\mu\text{g/l}$),
- le débit moyen journalier (ligne en pointillées, m^3/sec , voir axe figure 3), il permet de voir à quelles dates un débit d'eau de ruissellement s'ajoute au débit de base des sources et permet d'estimer la charge (charge = concentration * débit),
- les périodes de traitement (flèches horizontales : du 15 au 31 mars et du 22 au 24 avril),
- la charge cumulée (ligne pleine, kg)

Dans cet exemple, la charge est d'environ 10 kg c'est-à-dire que 10 kg d'isoproturon ont été transporté par le cours d'eau durant la période de suivi.

En ce qui concerne les concentrations, il est à remarquer que

- durant la période de traitement 2 pics de plus de 200 $\mu\text{g/l}$ ont été détectés et cela en l'absence de pluie (pas d'augmentation du débit)

- pour la période s'étendant du 24 mars au 7 avril, une période avec des événements pluvieux très faibles (augmentation modérée des débits), les concentrations sont comprises entre 10 et 70 µg/l
- entre le 8 et 20 avril, quelques événements pluvieux importants sont survenus (augmentation importante de débit), les concentrations détectées sont inférieures à 10 µg/l.

Les analyses ont été poursuivies jusqu'à la mi-juin, et seules de faibles concentrations en isotroturon ont encore été détectées.

La relation inverse entre la concentration et le débit n'est pas qu'un simple phénomène de dilution comme le montre l'évolution de la charge cumulée.

Celle-ci augmente le plus pendant et juste après les traitements, sans qu'il y ait de ruissellement aux champs et donc d'augmentation importante de débit (3 + 1.6 kg du 15 mars au 6 avril et 3.4 kg du 22 au 24 avril). Ces 8 kg retrouvés dans le cours d'eau proviennent principalement des pertes directes (pertes ponctuelles). La contribution de la dérive du nuage de pulvérisation est probablement peu importante, la plupart des champs étant séparés du cours d'eau par des pâtures.

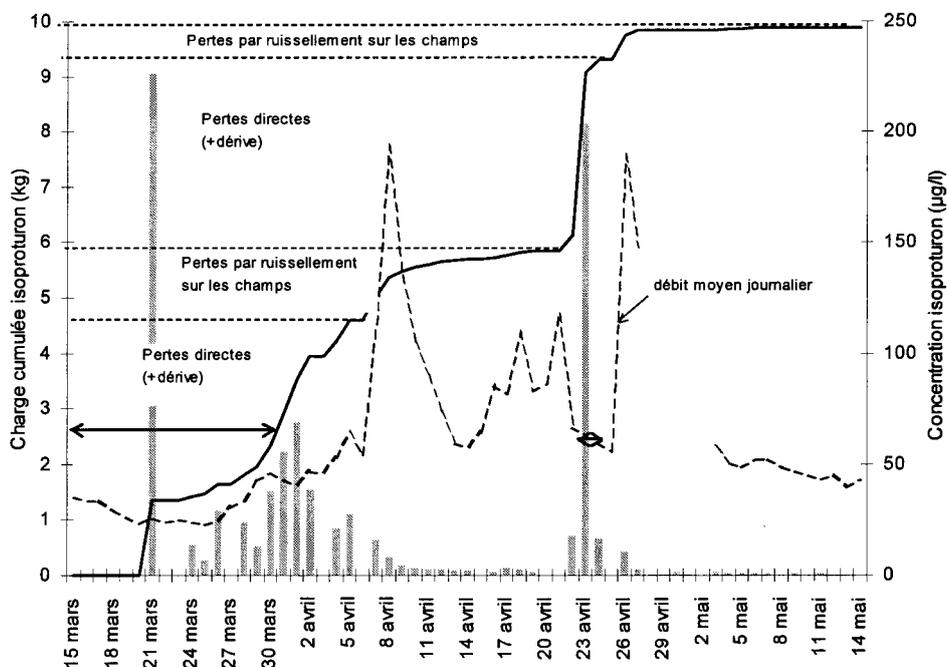


Fig. n° 4 : Concentration en isotroturon (bâtonnets), charge en isotroturon (ligne) et débit moyen journalier (en pointillés) du 15 mars au 15 juin 1998. La période de traitement est mentionnée par les flèches : du 15 au 30 mars et les 23 et 24 avril.

Pendant les périodes au cours desquelles des pluies intenses entraînent du ruissellement et de l'érosion aux champs, la charge ajoutée est relativement plus faible : 1.2 kg du 7 au 22 avril et 0.6 kg du 25 au 15 mai.

Au total pour cet exemple, la charge du Nil résulterait pour 80 % des pertes directes et pour 20 % des pertes par ruissellement et érosion aux champs.

Des enquêtes auprès des agriculteurs révèlent que la quantité totale d'isoproturon appliquée s'élève pour cette année 1998 à 1077 kg, la quantité retrouvée dans les eaux du Nil (9.9 kg) représente donc 0.9 % de ce total appliqué.

2.2 Détermination de l'importance des pertes directes (résultats des années 1998 et 1999).

Les 6 produits suivis ont été détectés à différentes concentrations durant la période du monitoring (mi-mars à mi-juin) 1998 et 1999.

L'approche décrite au point 2.1 a été appliquée à toutes les molécules suivies. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

	1998			1999		
	Quantité totale appliquée (kg)	Quantité retrouvée dans l'eau (kg)	Fraction retrouvée*	Quantité totale appliquée (kg)	Quantité retrouvée dans l'eau (kg)	Fraction retrouvée*
Atrazine	85	2.2	2.6	90	1.8	2.0
Isoproturon	1077	9.9	0.9	1082	8.8	0.8
Lénacile	112	2.4	2.1	108	2.2	2.0
Chloridazon	613	3.8	0.6	611	3.2	0.5
Diuron	40	6.2	15.5 ^b	53.4	10.3	19.3 ^b
Simazine	concentrations < 1 µg/l					

* quantité retrouvée dans le Nil (charge cumulée)/quantité totale appliquée

^b quantité totale diuron = quantité appliquée par la commune **uniquement**

Tableau n° 3 : Quantité totale appliquée, quantité et fraction retrouvées dans les eaux du Nil pour les molécules suivies dans le monitoring du Nil pour la période du 15 mars au 13 juin 1998 et pour la période du 10 mars au 22 juin 1999.

La fraction de la quantité totale appliquée retrouvée dans les eaux (tableau 3) varie entre 0.5 et 2.6 % pour les molécules à usage agricole. Pour une même molécule, cette fraction varie très peu d'une année à l'autre car les pratiques phytosanitaires des agriculteurs ne se modifient guère d'une année à l'autre.

Pour le diuron (usage non agricole), cette fraction s'élève à 15.5 % en 1998 et 19.3 % en 1999. Cependant, il faut préciser que dans ce cas, seules les quantités appliquées par la commune ont été prises en compte. La quantité totale appliquée est dès lors probablement sous-estimée car les usages des particuliers et des

entreprises de jardinage ne sont pas inclus, et la fraction retrouvée dans le Nil peut dès lors être sur-estimée. Pour la simazine, qui n'a pas été appliquée par la commune, les concentrations mesurées sont beaucoup plus faibles que pour les autres molécules. Pour ces deux molécules, les quantités appliquées par les autres utilisateurs potentiels (particuliers, entreprises de jardinage) ne sont pas connues.

L'attribution des émissions aux différentes voies d'entrée des produits phytosanitaires vers les eaux, par la mise en relation des quantités émises avec la période d'application et la pluviosité, a permis de mettre en évidence la dominance des pertes directes pour les molécules utilisées dans le secteur agricole. La contribution des pertes directes à la charge totale du ruisseau varie entre 50 et 80 % selon les molécules (figure 5). Pour le diuron, les pertes résultent à 100 % du ruissellement sur les trottoirs et les rigoles où le produit a été appliqué par les services communaux.

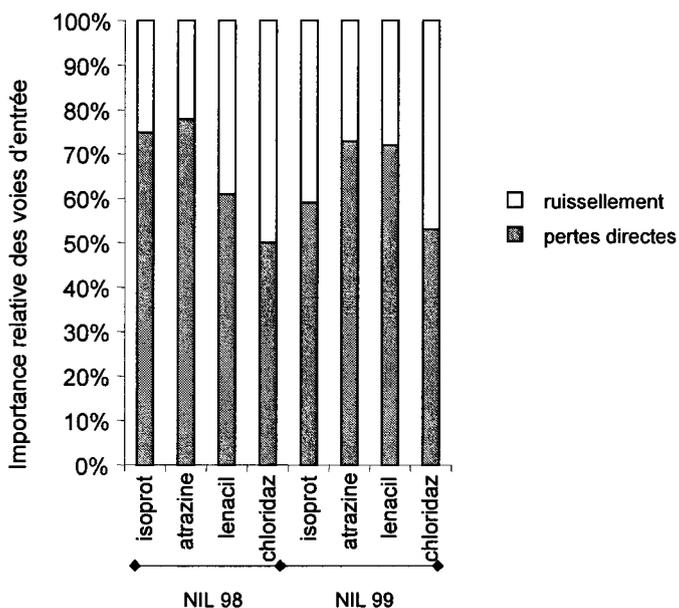


Fig. n° 5 : Importance relative des pertes directes et des pertes par ruissellement et érosion aux champs pour les années 1998 et 1999

D'autres études ont également mis en évidence la prépondérance des pertes directes comme voies d'entrée des produits vers les eaux superficielles, en Allemagne (Fisher et al., 1996 et Fisher et al., 1998) et au Royaume Uni (Carter, 1999).

2.3 Projet-pilote pour la réduction des pertes ponctuelles dans le bassin du Nil (résultats après un an de concertation avec les agriculteurs – année 2000)

Suite aux résultats des années 1998 et 1999, un projet-pilote a été initié pour tenter de réduire la charge en produits phytosanitaires dans le cours d'eau du Nil. Les pertes directes provenant de la manipulation des produits, une diminution de la présence de résidus de produits phytosanitaires passe nécessairement par la sensibilisation des agriculteurs.

Dans un premier temps, une réunion générale d'information des agriculteurs a été organisée dans le but d'une part, d'informer les agriculteurs des résultats obtenus lors des années 1998 et 1999 (point 2.2) et d'autre part, de présenter le projet-pilote de réduction et de conseiller en matière de manipulations des produits et de respect des bonnes pratiques agricoles.

Par la suite, un technicien a rendu visite à chaque agriculteur personnellement pour, d'une part, récolter des informations sur leurs schémas phytosanitaires (produits et quantités appliqués et période d'application) et, d'autre part, analyser leurs pratiques et chercher avec eux des solutions raisonnées et applicables à long terme pour réduire les pertes lors de la manipulation des produits.

Le parc de pulvérisateurs du site est composé de 47 pulvérisateurs personnels (hors entreprises agricoles) : 51 % des pulvérisateurs ont plus de 10 ans, 19 % ont entre 5 et 10 ans et 30 % ont moins de 5 ans. Ils ont une capacité de moins de 1000 litres pour 43 % d'entre eux, de 1000 à 2000 litres pour 34 % et de plus de 2000 litres pour 23 %.

Dans 70 % des cas, les pulvérisateurs ne possèdent aucun équipement permettant de réduire les pertes ponctuelles (par exemple cuve d'eau claire, trémie de remplissage ou rince-bidon). Dans les pulvérisateurs les plus récents (achetés dans les 5 dernières années), un peu moins de la moitié dispose de ce type d'accessoires mais rarement des 3 à la fois. Ce matériel ne constitue donc pas une priorité lors de l'achat d'un nouvel appareil. Mentionnons cependant que actuellement les producteurs de pulvérisateurs vendent en général la machine toute équipée d'office.

Des enquêtes sur les pratiques phytosanitaires il résulte que :

- dans 90 % des cas, le remplissage du pulvérisateur a lieu sur une surface « en dur » type béton et pavés
- dans 42 % des cas, la surface de remplissage est en liaison directe avec le réseau d'égouts
- dans 88 % des cas, la surface de remplissage est également la surface de rinçage et de nettoyage
- dans 48 % des cas, le fond de cuve est compris entre 10 et 20 litres, il est de 30 litres dans 10 % des cas et de 50 litres dans 16 % des cas.

Suite à la sensibilisation des agriculteurs, une réduction de la présence de produits phytosanitaires a été obtenue déjà après un an. La figure 6 montre les charges cumulées obtenues au cours des années 1998 et 1999 (sans concertation – valeurs des colonnes 3 et 6 du tableau 3) et celle de 2000 (première année de concertation). La quantité transportée par le cours d'eau a diminué de manière importante pour l'isoproturon (-7.1 kg), le lénacile (-1.8 kg) et le diuron (-10 kg). Elle a également diminué mais plus faiblement pour le chloridazon. Par contre pour l'atrazine, une augmentation est observée (+ 0.9 kg).

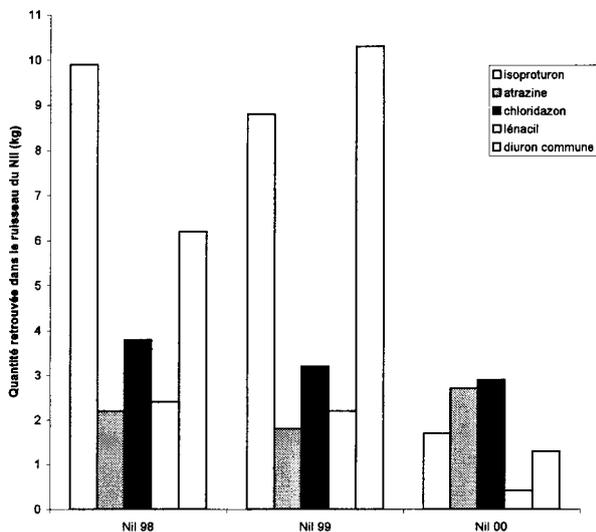


Fig. n° 6 : Quantité de matières actives retrouvées dans les eaux du Nil (charge cumulée) pour les périodes de suivi de 1998 (15 mars au 13 juin), 1999 (10 mars au 22 juin) et 2000 (1 mars au 20 juin).

Les tendances à la réduction sont confirmées par l'évolution du rapport établi entre la quantité retrouvée dans le cours d'eau et la quantité totale appliquée (figure 7) :

- pour l'isoproturon et le lénacile, les fractions retrouvées dans les eaux diminuent en 2000 de 76 et de 78 % respectivement,
- pour l'atrazine, par contre, une augmentation des pertes (de 30 %) est mise en évidence en 2000. Il est probable que les usages illégaux comme herbicide total soient responsables de cet échec. En effet, certaines concentrations en atrazine sont déjà détectées avant même que les agriculteurs ne sèment leur maïs.
- pour le chloridazon, la réduction est faible (9 %) : la contribution des pertes directes à la charge totale du cours d'eau était déjà plus faible pour cette molécule (figure 5).

Une étude allemande a été menée sur le bassin de Hesse avec le même but que ce projet-pilote : réduire la charge d'un cours d'eau en produits phytosanitaires en conseillant les agriculteurs sur la manipulation des produits. Cette étude a également abouti à un résultat positif : diminution de 50 à 80 % de la quantité d'isoproturon retrouvée dans le cours d'eau (Frede et al., 1998 ; Fisher et al., 1998b).

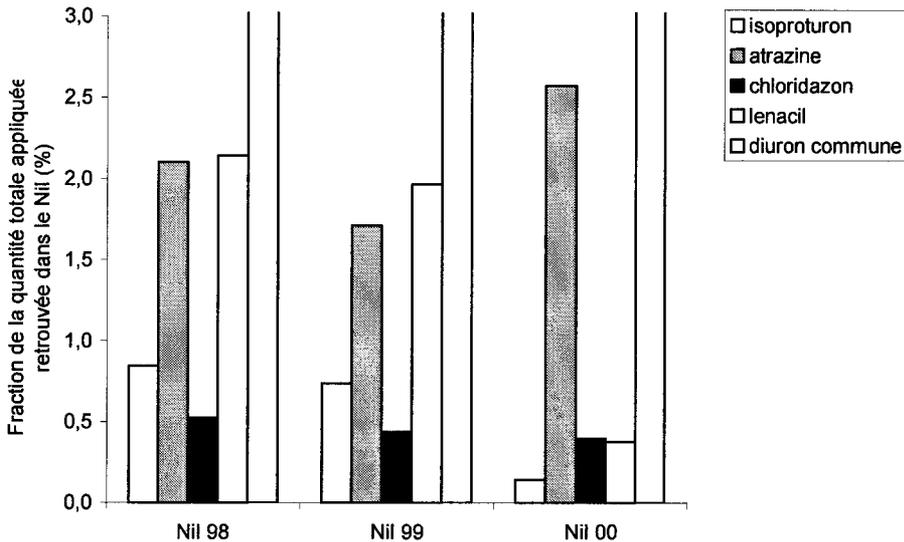


Fig. n° 7 : Fraction de la quantité totale appliquée retrouvée dans le Nil pour les 3 années de suivi : 1998 (15 mars au 13 juin), 1999 (10 mars au 22 juin) et 2000 (1 mars au 20 juin).

Si l'échelle de la figure 7 est adaptée de manière à visualiser les résultats du diuron (figure 8), la confirmation est faite (point 2.2) que la fraction perdue pour le diuron (usage non agricole) reste très élevée en comparaison avec les produits à usage agricole et cela malgré une réduction conséquente de la quantité retrouvée dans le cours d'eau (voir figure 6). En fait, la réduction de la quantité retrouvée dans le ruisseau est une réponse directe à la diminution de la quantité appliquée par la commune (10.7 kg en 2000 contre 40 kg en 1998 et 53.4 kg en 1999), elle ne résulte donc pas clairement d'une amélioration des pratiques.

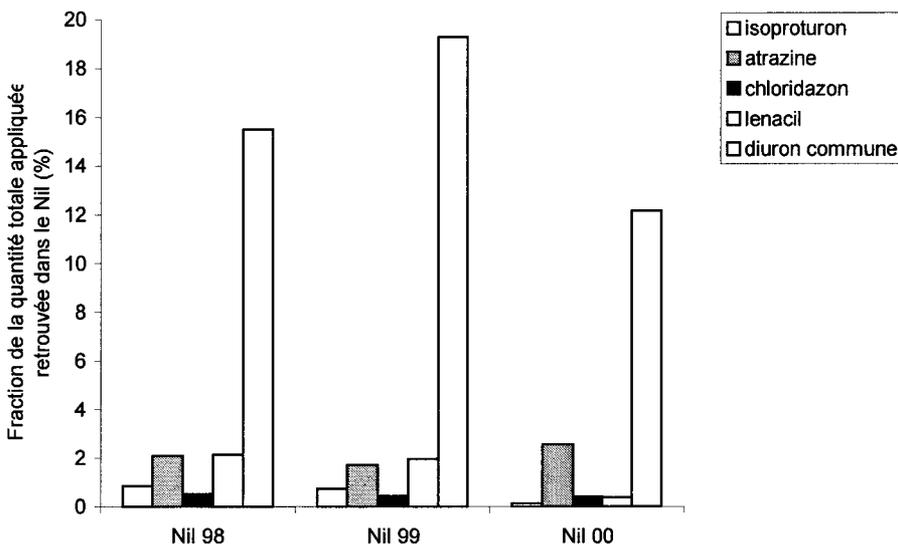


Fig. n° 8 : Fraction de la quantité totale appliquée retrouvée dans le Nil pour les 3 années de suivi : 1998 (15 mars au 13 juin), 1999 (10 mars au 22 juin) et 2000 (1 mars au 20 juin) (idem figure 7 mais à une échelle différente)

Conclusions

Il a été démontré dans ce cas précis que les pertes directes contribuent majoritairement (pour 50 à 75 %) à la charge totale du Nil en produits phytosanitaires. Dans les conditions agronomiques belges, il est probable que ce constat puisse être généralisé. En effet, la Belgique ne présente pas de conditions pédologiques dans lesquels les pertes par drainage seraient prépondérantes (mise à part la région des Polders). Et dans les régions avec de fortes pentes (Ardennes), l'élevage est prédominant et les cultures très faiblement développées minimisant ainsi le problème du ruissellement et de l'érosion.

Ce problème des pertes ponctuelles étant peu lié à la nature et aux propriétés physico-chimiques de la molécule, il est probable que les résultats obtenus puissent s'extrapoler à tous les produits phytosanitaires. En effet, quelques précautions plus particulières peuvent être prises avec certains produits mais, de manière générale, un agriculteur effectuera les mêmes gestes (d'évacuation de fonds de cuve, de rinçage et de nettoyage du pulvérisateur) à chaque traitement.

Une réduction de la charge du cours d'eau parfois très importante a été obtenue dès la première année (environ 75 % pour le lenacil et l'isoproturon) en sensibilisant les agriculteurs au problème. Dans la plupart des cas, les agriculteurs

ignorent les conséquences de certaines manipulations sur la concentration d'un cours d'eau. Il est nécessaire de les informer.

Les usages illégaux probables de l'atrazine comme herbicide total donnent une image faussée de son impact sur l'environnement puisque les concentrations ne proviennent pas uniquement de l'utilisation en cultures de maïs.

La campagne 2001 est actuellement suivie pour confirmer ou infirmer les tendances à la réduction obtenue lors de la première année de concertation avec les agriculteurs.

L'expérience devrait être répétée sur plusieurs autres bassins pour vérifier la possibilité réelle de sensibiliser les agriculteurs à grande échelle.

Remerciements

Cette étude a été financée à 50 % par la Division de l'Eau de la Direction Générale des Ressources Naturelles et de l'Environnement du Ministère de la Région Wallonne et pour les 50 % restants par la Recherche subventionnée (DG 6) du Ministère des Classes Moyennes et de l'Agriculture, l'Association belge de l'industrie des produits de protection des plantes (Phytophar) et les firmes phytopharmaceutiques Aventis et Syngenta.

Références

- Bach M., 1996. Diffuse Stoffeinträge in Fließgewässer in Deutschland. Vom Wasser, 87, 1-13.
- Bromilow R.H., Graham L.H. and Mason D.J. (1998). Pesticides, Drainage and Drinking Water – The Brimstone farm experiments. Pesticide Outlook, April 1998, 25-29.
- Burgoa B. and Wauchope R.D. (1995) Pesticides in run-off and surface waters. Environmental Behaviour of Agrochemicals, Edited by T.R. Roberts and P.C. Kearney, John Wiley & Sons Ltd, Chapter 5, 221-255.
- Carter A. (1999). Point sources of contamination-how important are they ?. 3rd International Conference on Pesticides and their Impact on Surface Waters, IBC Conference, 18 & 19 March, London, UK.
- Fisher P., (1996). Quantifizierung der Eintragspfade für Pflanzenschutzmittel in Fließgewässer, Boden und Landschaft, Schriftenreihe zur Bodenkunde, Landeskultur und Landschaftsökologie, Band 12, 180 p.
- Fisher P., Bach M., Burhenne J., Spiteller M. und Frede H.-G. (1996). Pflanzenschutzmittel in Fließgewässern-Teil 3 : Anteil diffuser und punktueller Einträge in einem kleinen Vorfluter. Dtsch. Gewässerkundl. Mitt., 40, 68-173.
- Fisher P., Hartmann H., Bach M., Burhenne J., Frede H.-G. und Spiteller M. (1998). Gewässerbelastung durch Pflanzenschutzmittel in drei Einzugsgebieten. Gesunde Pflanzen, 50. Jahrg., Heft 5, 142-147.

- Fisher P., Hartmann H., Bach M., Burhenne J., Frede H.-G. und Spittler M. (1998b). Reduktion des Gewässereintrags von Pflanzenschutzmitteln aus Punktquellen durch Beratung. *Gesunde Pflanzen*, 50. Jahrg., Heft 5, 148-152.
- Frede H.-G., Fisher P. and Bach M. (1998). Reduction of herbicide contamination in flowing waters. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, 161, 395-400.
- Ganzelmeier H., Rautmann D., Spangenberg R., Streloke M., Herrmann M., Wenzelburger H.-J. and Walter H.-F. (1995). Studies on the spray drift of plant protection products. In : *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, Heft 305, Blackwell Wissenschafts-Verlag GmbH, Berlin/Wien.
- Horth H. (1998). Review of Pesticides in Water Sources in Europe. *Pesticides Residues in Water*, 9th and 10th July 1998, IBC Conference, Vienna, Austria.
- Kreuger J. (1998). Pesticides in stream water within a agricultural catchment in southern Sweden, 1990-1996. *The Science of the Total Environment*, 216, 227-251.
- Seel P., Knepper T.P., Gabriel S., Weber A und Haberer K. (1994). Einträge von Pflanzenschutzmitteln in ein Fließgewässer – Versuch einer Bilanzierung. *Vom Wasser*, 83, 357-372.
- Shepherd A.J. (2000) The fate and behaviour of herbicides applied to hard surfaces. Seminar on Glyphosate and water – 19 and 20 September – Brussels. Monsanto Food-Health-Hope.

Le programme AQUAE : Rôle des aménagements d'origine anthropique (zones enherbées et fossés) dans le transfert et la rétention des produits phytosanitaires

The AQUAE program : Effects of rural planning (grass cover and ditches) on the transport and retention of pesticides

R. Moussa¹, P. Ackerer⁶, V. Adamiade², P. Andrieux¹, E. Barriuso³, P. Benoit³, G. Bourrié⁵, N. Carluer², M.P. Charnay³, C. Chaumont⁴, Y. Coquet³, A. Dutertre⁷, G. Coulouma¹, J.C. Fabre¹, C. Garon-Boucher², J.P. Gillet⁷, V. Gouy², J.J. Gril², C. Kao⁴, P. Lagacherie¹, S. Le Forner¹, F. Lehmann⁶, X. Louchart¹, I. Madrigal³, Y. Nédélec⁴, V. Pot³, B. Réal⁷, J.M. Robbez-Masson¹, C. Souiller², F. Trolard⁵, M. Voltz¹

¹ INRA, UMR Sol et Environnement, 2 Place Viala, 34060 Montpellier. Tel : 04 99 61 24 56 ; Fax : 04 67 63 26 14 ; e-mail : moussa@ensam.inra.fr

² Cemagref, UR Qualité de l'Eau et Prévention des Pollutions, 34bis Quai Chauveau, 69336 Lyon. Tel : 04 72 20 87 12 ; Fax : 04 78 47 78 75 ; e-mail : nadia.carluer@cemagref.fr

³ INRA, UMR Environnement et Grandes Cultures, 78850 Thiverval-Grignon. Tel : 01 30 81 54 04 ; Fax : 01 30 84 53 96 ; e-mail : benoit@grignon.inra.fr

⁴ Cemagref, UR Ouvrages pour le Drainage et l'Etanchéité, Parc de Tourvoie, 92163 Antony. Tel : 01 40 96 62 23 ; Fax : 01 40 96 62 70 ; e-mail : cyril.kao@cemagref.fr

⁵ INRA, UR Géochimie des Sols et des Eaux, CEREGE, BP 80, 13545 Aix-en-Provence. Tel : 04 42 97 16 59 ; e-mail : trolard@aix.inra.fr

⁶ IMF, URA CNRS 854, 2 Rue Boussingault, 67000 Strasbourg. Tel : 03 88 41 65 50 ; Fax : 03 88 61 43 00 ; e-mail : ackerer@imf.u-strasbg.fr

⁷ ITCF, Service Techniques de Production, 2, Chaussée Brunehaut, 80200 Estrées-Mons. Tel : 03 22 85 75 61 ; e-mail : breal@itcf.fr

Résumé : Ce programme fait partie de l'action structurante AQUAE (2000-2003) entre le Cemagref et l'INRA et a pour objectif de comprendre et quantifier les phénomènes de rétention, de dégradation ou de transfert subis par les produits phytosanitaires entre la parcelle agricole et le milieu aquatique. L'étude porte notamment sur les discontinuités hydrologiques que constituent les fossés et les dispositifs enherbés ou boisés. Ces structures font l'objet de suivis en continu et d'expériences spécifiques, afin d'analyser le devenir des produits phytosanitaires en leur sein, sur deux bassins versants aux caractéristiques différentes : La Jaillière (44) et Roujan (34). Les facteurs déterminant leur

efficacité tampon sont étudiés, qu'il s'agisse des conditions hydrométéorologiques, de leurs positions géomorphologiques, des caractéristiques du sol ou de la végétation, et de l'alternance des conditions d'oxydo-réduction. Une typologie de ces différents types de discontinuités est établie sur une grande gamme de bassins versants sur lesquels les équipes participantes travaillent ou ont déjà travaillé. Cette typologie a permis de caractériser les principales situations existantes ou envisageables, afin d'assurer (la généralisation ou l'extrapolation) des résultats obtenus sur les bassins versants expérimentaux. Enfin, une approche de modélisation hydrologique distribuée (le modèle MHYDAS : Modélisation Hydrologique Distribuée des AgroSystèmes) des transferts d'eau et de polluants à l'échelle du versant, intégrant les principaux mécanismes observés sur les discontinuités hydrologiques, est en phase avancée de développement. Les premiers tests du modèle ont permis de simuler les hydrogrammes de crue en différents points du réseau de fossés et les ordres de grandeur des flux de pesticides à l'exutoire du bassin versant.

Abstract : *This program is part of the common research action AQUAE (2000-2003) between Cemagref and INRA. It aims at understanding and quantifying the mechanisms of retention, degradation and transport of pesticides at the field and the catchment scales. The study relates in particular to man-made impact causing hydrological discontinuities such as ditches network and grass and wooded cover zones. Experiments were undertaken on two catchments with different geomorphological and climatic characteristics, La Jaillière (44) and Roujan (34), in order to analyse the contamination of water by pesticides. The factors determining the efficiency of these man-made hydrological discontinuities are extensively studied : hydrometeorological conditions, geomorphological position, soil characteristics; land-use, vegetation cover classes, and the oxydo-reduction conditions. A typology of these various types of discontinuities is established on a great range of catchments, in order to characterise the various experimental situations and to ensure the applicability of the results on un-gauged catchments. Finally, a distributed hydrological modelling approach (the model MHYDAS : Modélisation Hydrologique Distribuée des AgroSystèmes = Distributed Hydrological Modelling of AgroSystems) of water and pollutant transfer, integrating the principal mechanisms observed on hydrological discontinuities in farmed catchments, is conceived and is in an advanced phase of development. The first tests of the model at the catchment scale enable the simulation of hydrograph and pesticides concentrations at various locations of ditches network. Furthermore, it enables the testing of various scenarios of land management and the impact of man-made planning on water and pesticides fluxes.*

Mots-clés : Hydrologie, pesticides, fossé, zone enherbée, rétention, bassin versant, modélisation distribuée

Keywords : *Hydrology, pesticides, ditch, grass zones, retention, catchment, distributed modelling*

Introduction

En milieu agricole, les aménagements anthropiques, tels les dispositifs enherbés (ou boisés) et les fossés, constituent des discontinuités hydrologiques susceptibles d'influer sur le devenir des produits phytosanitaires entre la parcelle et le milieu aquatique. A l'échelle locale, les travaux déjà réalisés sur les dispositifs enherbés ont clairement mis en évidence le rôle épurateur de ces structures vis-à-vis des produits phytosanitaires présents dans les eaux de ruissellement (Patty, 1997 ; Mersie et al., 1999). A l'échelle locale aussi, les fossés peuvent jouer des rôles

divers sur les pertes en phytosanitaires qui peuvent, suivant les conditions hydrologiques, diminuer dans un rapport de 1 à 10 entre la parcelle (centaines de m²) et l'exutoire d'un bassin d'une dizaine d'hectares (*Voltz et al., 1996 ; Lennartz et al., 1998*). La compréhension des mécanismes hydrologiques et hydrochimiques, à l'échelle locale, et le passage de l'échelle locale à l'échelle du versant ou du bassin versant passe par une modélisation (*ex. CREAMS, Knisel, 1980 ; HSPF, Donigian et al., 1983 ; OPUS, Ferreira et Smith, 1992*) mais la plupart de ces modèles hydrologiques ne sont pas adaptés aux spécificités des bassins anthropisés (*Carluer, 1998*). De nombreuses questions demeurent sans réponse : Quelles sont les différentes situations de discontinuités hydrologiques qu'on rencontre sur le terrain ? L'enherbement des parcelles de vigne, équivalent méditerranéen de la mise en place de bandes enherbées est-il également efficace pour réduire les quantités de phytosanitaires exportés ? Comment généraliser le fonctionnement hydrochimique d'une bande boisée ou d'un tronçon de fossés à l'ensemble des structures analogues sur un bassin versant ? Et comment ensuite valider ces hypothèses de fonctionnement en les confrontant aux résultats expérimentaux obtenus au laboratoire et dans les bassins versants par une approche de modélisation ?

Dans ce contexte général, notre projet s'insère dans le cadre de l'action structurante AQUAE entre le Cemagref et l'INRA et propose trois axes de travail, destinés à lever certains des points de blocage signalés ci-dessus, et menés simultanément :

- Axe 1 : Elaborer une typologie des discontinuités hydrologiques, en se limitant aux fossés.
- Axe 2 : Analyser le fonctionnement hydrologique et hydrochimique des discontinuités hydrologiques : bandes enherbées et fossés.
- Axe 3 : Modéliser le rôle des discontinuités hydrologiques au sein du bassin versant sur le transfert et la dissipation des polluants de la parcelle à l'exutoire du bassin versant.

Les travaux sont menés sur les deux bassins versants expérimentaux de La Jaillière (5 km² à l'ouest d'Angers géré par l'ITCF et le Cemagref-Lyon) et de Roujan (0.91 km² à l'ouest de Montpellier géré par l'INRA-Montpellier), dans des conditions climatiques et culturelles différentes.

Le projet a démarré en 2000 et se poursuivra jusqu'à 2002. Dans la suite, nous présenterons la méthodologie suivie, le dispositif expérimental et les premiers résultats obtenus. Outre des crédits propres à l'action structurante AQUAE entre l'INRA et le Cemagref, ce projet bénéficie d'une subvention dans le cadre de l'appel d'offres « Pesticides » du Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, ainsi que de ressources propres aux équipes.

1. Axe 1 : Typologie des discontinuités hydrologiques : les fossés

1.1 Démarche

Il s'agit de déterminer sur le terrain des systèmes types des différentes discontinuités hydrologiques (interaction fossé - zone tampon - nappe) et de les caractériser par les descripteurs nécessaires pour la compréhension et la modélisation des mécanismes hydrologiques et hydrochimiques. La démarche suivie comporte trois étapes :

- Mise en place d'une terminologie et définition de paramètres simples de description.
- Inventaire des données sur les sites. En plus des deux bassins de La Jaillière et de Roujan, l'étude sera réalisée sur quatre autres bassins versants sur lesquels les équipes participantes ont déjà travaillé : le Cétrais en Loire-Atlantique (34 km²), la Morcille dans le Beaujolais (4,5 km²), La Peyne dans l'Hérault (80 km²) et l'Orgeval et ses sous-bassins dans la Brie (7 à 106 km²).
- Identification des principaux types de situations fonctionnelles. Cette analyse permettra de juger de la représentativité des résultats obtenus sur les structures servant de base aux expériences, et d'identifier les caractéristiques influant principalement sur leur comportement (axe 2). Elle permettra ensuite d'extrapoler les résultats expérimentaux acquis localement à l'ensemble des structures équivalentes présentes sur un bassin versant, en vue d'une modélisation à l'échelle du bassin (axe 3).

1.2 Premiers résultats

Lors de la première année du projet, deux étapes ont été abordées : i) mise en place d'une terminologie et définition de paramètres simples de description et ii) inventaire des données sur les sites.

1.2.1 Mise en place d'une terminologie et définition de paramètres simples de description

Des concertations entre les équipes participantes ont permis de poser les bases d'une description commune des réseaux d'écoulement anthropiques. Les principaux résultats sont les suivants : i) la définition de l'objet d'étude : où commence et où finit le réseau à décrire ? ; ii) les modalités de découpage du réseau d'écoulement en biefs caractérisés par le voisinage d'une parcelle et d'une seule ; iii) une liste de descripteurs des biefs a été établie en relation avec les grands types de processus hydrologiques affectant le devenir des pesticides dans le réseau : transport d'eau, échanges de surface parcelles-biefs, échanges nappes-biefs, processus de fixation-relargage des pesticides.

1.2.2 Inventaire des données sur les sites

La méthodologie de prospection de terrain a été appliquée sur deux bassins :

- Cétrais (463 ha), situé en climat océanique, 87 biefs représentant 9.5 km de linéaire.
- Roujan (91 ha), situé en milieu méditerranéen viticole, 256 biefs représentant un linéaire de 11 km.

Les principaux enseignements sur la méthode utilisée sont :

- L'avantage majeur de la méthode suivie est de pouvoir caractériser le comportement d'un réseau à partir d'un nombre restreint de données nécessitant peu de moyens techniques.
- Un certain nombre de paramètres, tels que la rugosité et l'encombrement du fossé, sont subjectifs, c'est-à-dire que leur valeur est susceptible de varier en fonction de la personne qui fait les relevés de terrain. C'est pourquoi, sur une même zone d'étude, les relevés doivent être réalisés par une seule personne. Cette difficulté souligne la nécessité de normer et calibrer des paramètres.
- La prospection de terrain donne l'image du réseau à un moment donné. Or certains paramètres sont variables dans le temps du fait de l'entretien du réseau notamment.

2. Axe 2 : Fonctionnements hydrologique et hydrochimique

2.1 Démarche

Il s'agit d'aborder le couplage entre la dynamique de l'eau et les phénomènes de rétention, de biodégradation, et d'accumulation des produits phytosanitaires et de leurs résidus dans deux systèmes différents, les fossés et les zones enherbées et boisées, sur les deux bassins de La Jaillière et de Roujan.

Une démarche d'expérimentation, sur le terrain et au laboratoire, a été adoptée pour étudier : i) l'hydrologie générale des bassins versants : les deux sites expérimentaux n'ayant pas la même ancienneté (le bassin de Roujan étant équipé depuis 1992), la première étape consistait à installer un équipement hydrologique sur le site de La Jaillière ; ii) les dispositifs enherbés et boisés par la mise en place de dispositifs expérimentaux sur deux systèmes enherbés (un à La Jaillière et un à Roujan) et sur des placettes expérimentales de saules à La Jaillière iii) le rôle des fossés par la mise en place de protocoles expérimentaux sur trois fossés, deux à La Jaillière et un à Roujan ; iv) les mécanismes géochimiques d'acquisition de la composition chimique des eaux et les conditions d'oxydo-réduction sur les deux bassins expérimentaux (étude menée par l'INRA-Aix-en-Provence) ; v) le fonctionnement physico-chimique (rétention) et biologique (dégradation) des discontinuités étudiées (zones enherbées et fossés) pour comprendre les

couplages avec le fonctionnement hydrologique ; pour cela une démarche expérimentale au laboratoire (INRA-Grignon) est mise en œuvre en fonction des conditions d'oxydo-réduction.

Sur les deux bassins, les dispositifs expérimentaux visent à établir un bilan hydrologique et hydrochimique et serviront ensuite, dans l'axe 3, comme données d'entrée et de validation à la modélisation. Deux échelles de temps sont étudiées : l'événement pluvieux et le cycle cultural. Les molécules étudiées sont le Diuron sur les deux sites de La Jaillière et de Roujan, et le Diflufenicanil et l'Isoproturon (ou l'Atrazine) sur La Jaillière.

2.2 Premiers résultats

Les dispositifs expérimentaux n'ont pas la même ancienneté sur les deux bassins de La Jaillière et de Roujan, c'est pourquoi l'état d'avancement des expérimentations n'est pas identique sur les deux sites.

2.2.1 Comportement général du bassin versant

Sur le bassin de La Jaillière, l'essentiel du travail a consisté jusqu'à présent au choix du versant expérimental et à son équipement avec des piézomètres. L'acquisition automatique des données de piézométrie a commencé en décembre 2000, les prélèvements d'échantillons dans la nappe pour estimer les concentrations en produits phytosanitaires démarreront à l'automne 2001. Les travaux de synthèse sur le fonctionnement hydrologique de La Jaillière est en cours sur la base des travaux antérieurs menés par l'ITCF et le Cemagref (*Arlot, 1999*).

Sur le bassin de Roujan, le dispositif expérimental de base installé en 1992, a été maintenu pour le suivi en continu des données météorologiques, des précipitations, des flux d'eau, des concentrations en Diuron et en carbone organique à l'exutoire du bassin versant. Depuis mars 2000, une vingtaine d'événements de crues ont été mesurés à l'exutoire. L'analyse des échantillons d'eau montre que les concentrations en Diuron diminuent de 500 µg/l juste après application des produits phytosanitaires au printemps à 1 µg/l à la fin de l'été. En plus du dispositif de base, deux suivis expérimentaux ont été réalisés sur le bassin versant :

- Suivi de la rétention des pesticides au fond des fossés : Les premières analyses indiquent des concentrations moyennes en Diuron de l'ordre de 35 µg/kg sur les parois et de 41 µg/kg sur le fond des fossés ; ces concentrations correspondent aux concentrations résiduelles déjà mesurées en 1997 et 1998 à la surface du sol des parcelles, six mois après la date d'application du Diuron.

- Suivi de la variabilité spatio-temporelle des propriétés géochimiques et des concentrations de la nappe en Diuron : Les premiers résultats indiquent : i) qu'il existe une forte variabilité de concentrations moyennes en Diuron qui peut s'échelonner de moins de 0.1 µg/l à 36 µg/l sur des sites à 300 m de distance ; ii)

que les sites qui présentent des concentrations élevées montrent aussi une forte variabilité verticale.

2.2.2 Rôle des dispositifs enherbés et boisés

Sur le bassin de La Jaillière, le simulateur de ruissellement a été utilisé pour caractériser le fonctionnement hydrodynamique des zones tampons (enherbées et boisées) et leurs capacités de rétention. Les essais consistent à faire ruisseler, sur le dispositif enherbé expérimental, une solution de produits phytosanitaires et de recueillir les échantillons à l'aval. Les résultats ont permis d'évaluer l'efficacité d'un dispositif enherbé en conditions hivernales (février et mai 2000) et de la comparer à celle observée en conditions estivales au même endroit (en juillet 1999). Ils ont montré notamment qu'en hiver, la capacité d'infiltration des bandes enherbées était légèrement inférieure à celle observée en été. En revanche, la capacité de rétention de ces dispositifs semble nettement moins efficace en février qu'en juillet. Ces conclusions nous invitent à étudier de façon plus approfondie le rôle de la matière organique au sein des dispositifs et l'évolution de ses caractéristiques au cours d'une année. Parallèlement aux simulations de ruissellement, les propriétés d'infiltration des bandes enherbées ont été caractérisées à l'aide de l'infiltromètre à disques (TRIMS). Les résultats montrent des différences significatives entre les capacités d'infiltration des surfaces enherbées et des horizons racinaires à 5 cm de profondeur. La surface enherbée, correspondant à une litière, montre des vitesses d'infiltrations nettement supérieures au sol sous-jacent. On observe également des plus grandes conductivités hydrauliques en mai qu'en janvier.

2.2.3 Rôle des fossés

Sur le bassin de Roujan, une expérimentation sur le terrain a été effectuée sur un tronçon de fossé de 10 m de long bouché des deux côtés. A l'état initial, le fossé était à sec, le niveau de la nappe était à 2 m de la surface du sol et à 1m du fond du fossé. Dix mètres cubes d'eau contenant du bromure (comme traceur) ont été déversés dans le fossé. On a suivi le rabattement de la nappe et les concentrations en bromure sur un transect perpendiculaire au milieu du fossé. Les premiers tests de modélisation ont permis de simuler l'avancement du bulbe de saturation du fossé vers la nappe ainsi que les mécanismes de diffusion du bromure dont la concentration maximale est mesurée dans la nappe 4 heures après le début de l'expérience.

2.2.4 Mécanismes géochimiques d'acquisition de la composition chimique des eaux

Les travaux effectués par l'INRA-Aix-en-Provence en 2000 concernent le site de Roujan et les données acquises (potentiel d'oxydo-réduction, pH, Fe(II)) indiquent une "ambiance" géochimique spécifique avec des eaux carbonatées et contenant sur certains sites des teneurs très élevées en sulfates. Il en résulte que certains protocoles analytiques (notamment les mesures de Fe(II) par le DPKBH, et les formes de S) doivent être recalibrés et l'acquisition de données affinée sur les

éléments chimiques pouvant interagir avec la dynamique du Diuron et de ses métabolites.

2.2.5 Mécanismes de rétention et de dégradation

Ce volet concerne des études menées au laboratoire par l'INRA-Grignon et le Cemagref-Lyon visant à décrire les mécanismes de dissipation des produits phytosanitaires dans les fossés et les zones enherbées ou boisées.

Sous zone enherbée, l'adsorption de l'isoproturon dans le sol enherbé est beaucoup plus élevée que dans le sol cultivé. Plus élevée dans les premiers 2 cm, l'adsorption décroît avec la profondeur corrélativement avec une baisse de la teneur en C dans le profil. La comparaison, entre horizons superficiels, fait apparaître des capacités de rétention beaucoup plus élevées pour le sol sous forêt que pour le sol enherbé.

Un canal expérimental de 8 m de long et 40 cm de large a été construit au Cemagref de Lyon en 2000. L'objectif principal est de comparer le pouvoir de rétention de différents types de substrats bien identifiés (sédiments, feuilles mortes, végétaux verts), en conditions dynamiques se rapprochant d'un écoulement en fossé agricole naturel. En parallèle, des études en laboratoire sont menées afin d'approfondir les connaissances sur la relation produit/substrat : i) caractérisation des substrats en relation avec leur capacité d'adsorption, ii) essais d'adsorption/désorption en conditions normalisées ; iii) études de désorption pour différents temps de contact préalables.

3. Axe 3 : Modélisation

3.1 Démarche

Le modèle déjà développé à l'INRA de Montpellier (Moussa et al., 2001) est utilisé pour la modélisation des mécanismes hydrologiques lors des événements de crue en prenant en compte les particularités du milieu agricole (parcellaire, réseau de fossés, pratiques culturales). Cependant, certains modules de ce modèle sont à base empirique et ne simulent pas convenablement certains processus : i) l'interaction entre fossés et nappes ; ii) les mécanismes de ruissellement non-hortonien observés sur le bassin de La Jaillière ; iii) le transfert de produits phytosanitaires. La démarche adoptée comporte :

- Couplage du modèle hydrologique de l'INRA-Montpellier à un modèle tridimensionnel de transfert d'eau en milieu non-saturé et saturé.
- Etablissement de fonctions simples de rétention et de dégradation des produits phytosanitaires à partir des résultats expérimentaux de l'axe 2 et couplage au modèle de transfert d'eau déjà développé.
- Validation de l'approche de modélisation en s'appuyant sur les résultats expérimentaux de l'axe 2 à l'échelle d'un fossé ou d'une zone enherbée et boisée.

- Tests de différents scénarios correspondant aux différents types de situations fonctionnelles établies dans l'axe 1.

3.2 Premiers résultats

Les travaux de modélisation s'inscrivent dans la continuité des travaux réalisés par l'INRA-Montpellier et concernent : i) le test du modèle bidimensionnel de transfert d'eau dans le sol Hydrus 2D ; ii) le développement d'un module tridimensionnel d'échange nappe-fossés.

3.2.1 Tests du modèle bidimensionnel d'échanges nappes-fossés HYDRUS-2D

Les résultats concernent l'analyse de sensibilité du modèle aux différents paramètres du milieu de Roujan : les conditions initiales de niveau de nappe (nappe haute, nappe basse) ; les conditions aux limites ; les propriétés hydrodynamiques du milieu et le découpage du milieu en mailles élémentaires. Un maillage lâche économise les temps de calcul mais ne simule pas correctement les mécanismes physiques ; le résultat inverse est obtenu avec un maillage fin. Les résultats montrent qu'un maillage optimal minimisant les temps de calcul tout en simulant correctement les mécanismes physiques existe. Cette approche de maillage en 2D sera généralisée au cas de la modélisation 3D en cours. Par ailleurs, ces tests de modélisation réalisés en parallèle avec la mise en place de l'expérimentation terrain serviront à mieux préparer les futurs protocoles expérimentaux.

3.2.2. Développement d'un module tridimensionnel d'échange nappe-fossés

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la thèse de Le Forner (2001) à l'INRA-Montpellier en collaboration avec l'IMF. Ce module comporte une méthode automatique de découpage du milieu en tétraèdres élémentaires pour les besoins du modèle tridimensionnel d'écoulement en milieu non-saturé et saturé SWMS-3D. Le développement de ce type d'outil s'imposait pour pouvoir prendre en compte la variabilité spatiale et les discontinuités hydrologiques dans le milieu agricole. Les résultats de tests de sensibilité réalisés par le modèle bidimensionnel Hydrus-2D servent à guider le choix du maillage optimal du module tridimensionnel très consommateur en temps de calcul. Les premiers tests de validation sur la zone centrale du bassin versant de Roujan ont permis de simuler les flux d'eau écoulés à travers le réseau de fossé ainsi que les flux échangés entre les fossés et la nappe. Dans la suite, ce modèle sera couplé à un modèle de transfert de produits phytosanitaires et sera utilisé d'une part pour valider les hypothèses hydrologiques et hydrochimiques de fonctionnement des bassins tests et d'autre part pour tester l'incidence de différents scénarios d'aménagements en milieu agricole sur les flux d'eau et de polluants.

Conclusion

Le programme AQUAE entre le Cemagref et l'INRA a débuté en 2000 et le rendu final est prévu en 2002. Il vise à étudier le rôle des aménagements anthropiques (les bandes enherbées et les fossés) dans le transfert et la rétention des produits phytosanitaires.

Le projet est structuré autour de trois axes : i) définitions d'une typologie des discontinuités hydrologiques, ii) analyse du fonctionnement hydrologique et hydrochimique des discontinuités hydrologiques et iii) modélisation du rôle des discontinuités. La première année de travail a permis de coordonner les travaux entre les équipes du Cemagref et de l'INRA et de mettre au point une méthodologie commune de travail qui a été présentée dans ce papier ainsi que les premiers résultats obtenus.

Bibliographie

- Arlot M.P., 1999, Nitrate dans les eaux : Drainage acteur, Drainage témoin ? Les enseignements d'une approche hydrologique et hydraulique, Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI, 445 p. et annexes.
- Carluer N., 1998, Vers une modélisation hydrologique adaptée à l'évaluation des pollutions diffuses : prise en compte du réseau anthropique, application au bassin versant de Naizin (Morbihan), Thèse de l'Université Pierre et Marie Curie/Cemagref, 320 pp. + annexes.
- Donigian A.S., Imhoff J.C., Bicknell B.R., 1983, Predicting water quality resulting from agricultural nonpoint source pollution via simulation- HSPF, In Agricultural Management and Water Quality, ed. Schaller, F.W. and G. W. Bailey, State Univ. Press, Ames Iowa, p. 200-249.
- Ferreira, V.A, Smith R.E., 1992, OPUS : an integrated Simulation Model for Transport of Nonpoint-Source Pollutants at the Field Scale, Volume II, User manual, Ars-98.
- Knisel W., 1980, CREAMS : A Field-Scale Model for Chemicals, runoff and Erosion from Agricultural Management Systems, Conservation research report n° 26.
- Le Forner S., 2001, Modélisation hydrologique des échanges surface-souterrain avec réseau de fossés en milieu agricole méditerranéen, Thèse de doctorat de l'Université Montpellier II.
- Lennartz B., Louchart X., Voltz M., Andrieux P., 1998, Diuron and simazine losses to runoff water in Mediterranean vineyards as related to agricultural practices, Journal of Environmental Quality, 26, p.1493-1502.
- Louchart X., Voltz M., Andrieux P., Moussa R. 2001, Herbicides transport to surface waters at field and watershed scales in a Mediterranean vineyard area, Journal of Environmental Quality, 30, p. 982-991.
- Mersie W., Seybold C.A., Mc Namee C., Huang, J., 1999, Effectiveness of switch grass filter strips in removing dissolved atrazine and metolachlor from runoff, Journal of Environmental Quality, 28, p. 816-821.

- Moussa R., Voltz M., Andrieux P., 2001, Effects of spatial organization of agricultural management on the hydrological behaviour of farmed catchment during flood events, *Hydrological Processes*, Special issue "The future of distributed hydrological modelling" Ed.by K. Beven and J. Feyen (sous presse).
- Patty L., 1997, Limitation du transfert par ruissellement vers les eaux superficielles de deux herbicides (isoproturon et diflufenicanil). Méthodologie analytique et étude de l'efficacité des bandes enherbées, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph-Fourier Grenoble, 217 pp.
- Voltz M., Lennartz B., Andrieux P., Louchart X., Roger L., Luttringer M., 1996, Transfert de produits phytosanitaires dans un bassin versant cultivé méditerranéen : analyse expérimentale et implications pour la modélisation, In: Actes du Séminaire National Hydrosystèmes Processus de transfert des produits phytosanitaires et modélisation dans les bassins versants (eds R. Belamie, V. Gouy & J.L. Verrel), CEMAGREF Antony, Nancy, 22-23 Mai 1996, p. 116-126,

Etudes comparées du devenir de l'atrazine et l'isoproturon dans des sols de zones tampon : influence des conditions d'oxydo-réduction sur la dissipation

Compared studies of atrazine and isoproturon behavior in buffer zones : influence of redox conditions on dissipation

M.-P. Charnay, S. Koçak, I. Madrigal, P. Benoit, H. Jean-Jacques, V. Etievant
UMR I.N.R.A. - I.N.A.-PG, Unité Environnement et Grandes Cultures, BP 01,
78850 Thiverval – Grignon
Tél 01 30 81 54 06 Fax 01 30 81 53 96 email : charnay@grignon.inra.fr

Résumé : Pour évaluer le rôle que peuvent jouer certaines zones tampons (zones humides, bandes enherbées...) dans la dissipation des produits phytosanitaires, il est primordial de quantifier les phénomènes de rétention, de biodégradation et d'accumulation. Les conditions d'oxydo-réduction régnant dans les sols et leurs variations saisonnières liées au fonctionnement hydrologique sont des paramètres importants à prendre en compte pour évaluer le comportement des produits phytosanitaires atteignant ces zones d'interface. Une approche expérimentale a été mise en œuvre sur plusieurs dispositifs pour caractériser au laboratoire l'influence des conditions d'oxydo-réduction sur le comportement de deux herbicides marqués au carbone 14: l'atrazine et l'isoproturon dans des échantillons de sol. Les résultats des incubations sol-herbicides montrent que non seulement les conditions d'oxydoréduction ainsi que les conditions pédologiques influencent la rétention et la dégradation des pesticides. Quant au degré de transformation des molécules en conditions anaérobies, il est variable selon la nature et la structure des molécules. Toutefois, la minéralisation complète de ces polluants est souvent très faible, voire inexistante alors qu'elle est souvent plus importante en conditions oxydantes. La dégradation modifie la structure et la nature chimique de la molécule initiale et donc sa stabilisation ultérieure dans le sol.

Abstract : For an evaluation of the role of buffer zones like wetlands, grassed buffer strips in dissipation of pesticides, it is important to quantify sorption, biodegradation and accumulation phenomenon. Redox conditions in soil and their seasonal variations linked to the hydrology, are important parameters to evaluate the behaviour of pesticides in these interface zones. An experimental laboratory approach was conducted to characterize the influence of redox conditions on sorption and degradation of atrazine and isoproturon ¹⁴C labelled in different soil samples. Incubations of soil-herbicides show that redox and pedological conditions influence their sorption and their biodegradation. This study shows that soil buffer zone microflora may be effective at least to reduce pesticide contamination. In anaerobic conditions, the soil microflora degraded the two tested pesticide without complete mineralization. Biodegradation modify the initial structure of the molecule and consequently its stabilisation in soil.

Mots Clés : atrazine, isoproturon, rétention, dégradation, oxydo-réduction

Keywords : atrazine, isoproturon, sorption, degradation, redox conditions

Introduction

La mise en place de zones tampons fait partie des solutions proposées pour lutter contre les pollutions d'origine agricole. Les zones tampons sont des zones d'interface entre les parcelles agricoles et les eaux de surface opérant à l'échelle du versant comme des zones de rupture des transferts et pouvant jouer un rôle déterminant dans le contrôle et l'atténuation des impacts environnementaux de nombreux polluants.

Concernant la protection des eaux contre les pollutions par les produits phytosanitaires, ce sont jusqu'à présent les dispositifs enherbés qui ont été les plus étudiés (Gril et al., 1997). Les travaux menés jusqu'à présent montrent que l'enherbement des sols limite efficacement le transfert de pesticides par ruissellement d'une part (Réal et al., 1997; Patty et al., 1997; Lecomte et al., 1997; Mersie et al., 1999a;) et contribue d'autre part à augmenter les potentialités d'adsorption et de dégradation de certains pesticides (Mersie et al., 1999b; Benoit et al., 1999; 2000). Depuis longtemps des zones d'interface " naturelles " telles que zones humides, prairies, haies, ripisylves, jouent ce rôle tampon sans que l'on connaisse toujours bien leur efficacité dans le contrôle des pollutions. Parmi ces zones d'interface, les zones humides présentent un intérêt particulier : proches de l'exutoire, elles servent souvent de réceptacles aux eaux de ruissellement issues de l'ensemble du bassin versant. Situées le plus souvent dans les zones de fonds de vallées, elles peuvent aussi avoir des connexions avec les nappes de versant collectant les eaux de lixiviation issues des parcelles agricoles.

En raison des phénomènes microbiologiques susceptibles de se dérouler aussi bien dans les sols des bandes enherbées ou des zones humides, ces zones d'interfaces présentent un intérêt environnemental évident. Si une dégradation complète des pesticides constitue une véritable dépollution, en revanche la formation de produits de dégradations liés à leurs transformations incomplètes peut provoquer une aggravation de la pollution. L'accumulation de pesticides incorporés dans la matière organique ou retenus par les constituants minéraux des sols peut également constituer une voie de dépollution en raison de la disparition des molécules dans les eaux. Cependant cette rétention peut être que temporaire et donner lieu à des entraînements des métabolites des polluants vers les nappes.

Un projet de recherche associant plusieurs unités INRA, CEMAGERF et CNRS, (Moussa et al., 2001) a débuté en 2000 dans le but de progresser dans la compréhension et la quantification des phénomènes responsables de la dissipation des pesticides, dans des conditions naturelles. Dans ce cadre, des expérimentations sont réalisées en conditions contrôlées de laboratoire avec des

échantillons de sol prélevés sur différents sites français en se plaçant dans des conditions représentatives de celles du terrain.

L'objectif de ce travail est donc de déterminer le potentiel épurateur de ces sols vis-à-vis de deux herbicides (atrazine et isoproturon). L'épuration des eaux vis-à-vis des pesticides pouvant être le fait de leur rétention sur les constituants du sol et/ou de leur dégradation il est important de pouvoir identifier chacun des phénomènes à l'origine de la dissipation des produits phytosanitaires. Aussi, la démarche adoptée est de caractériser la rétention de ces deux molécules sur ces sols, puis de déterminer leurs cinétiques de dégradation dans des conditions oxydantes ou réductrices.

Matériels et méthodes

1. Les sols utilisés

Les zones humides concernées par cette étude sont localisées à Grignon (78) et à Naizin (56) tandis que la bande enherbée étudiée est implantée à La Jaillière (44). A titre de comparaison un sol d'une parcelle cultivée en monoculture de maïs (Grignon, 78) et traité régulièrement depuis 1962 avec l'atrazine a également été utilisé dans les expérimentations de dégradation.

Les caractéristiques physico-chimiques des différents sols ont été déterminées par le laboratoire d'analyse des sols de l'INRA d'Arras (Tableau 1).

Sol	Argiles	Limons	Sables	Carbone organique g kg ⁻¹	Azote organique	pH eau
Zone Humide Naizin (30-60 cm)	208	679	113	14	1	5,6
Zone Humide Grignon (10-20cm)	269	205	145	25,9	3	7,9
Parcelle cultivée Grignon (0-30cm)	253	623	91	11,5	1,2	8,2
Bande Enherbée (30-60 cm) La Jaillière	255	348	397	10,9	1,3	6,5

Tableau n° 1 : Granulométries et caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés

2. Les molécules

Le tableau 2 donne les principales caractéristiques physico-chimiques des molécules utilisées.

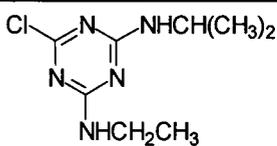
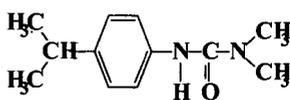
Nom	Formule	Masse molaire (g mole ⁻¹)	Solubilité dans l'eau à 20°C (mg l ⁻¹)	Constante de Henry
Atrazine		215,7	33	2,5 10 ⁻⁷
Isoproturon		206,3	65	9,5.10 ⁻⁶

Tableau n° 2 : Principales caractéristiques physico-chimiques des molécules étudiées (Tomlin, *The Pesticide manual*, 1996)

L'atrazine (6-chloro-2-éthylamino-4-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) est un herbicide appartenant à la famille des s-triazines. Il agit par systémie comme inhibiteur de la photosynthèse.

L'isoproturon (3-(4-isopropylphényl)-1, 1-diméthylurée) est un herbicide sélectif systémique couramment utilisé en pré et post levée pour le contrôle des graminées annuelles sur cultures de céréales de printemps et d'hiver.

L'atrazine et l'isoproturon sont utilisées sous forme uniformément marquée au carbone 14 sur respectivement les noyaux triazinique ou benzénique. La pureté radiochimique des produits est supérieure à 97% et leurs activités spécifiques sont respectivement de 777 MBq mmol⁻¹ et de 2627 MBq mmol⁻¹.

3. Caractérisation de l'adsorption des pesticides

Des suspensions de sol dans un rapport solide/liquide 1/5 sont préparées dans du CaCl₂ à 10⁻² M. L'homogénéisation des suspensions sous atmosphère inerte et flux d'N₂ permet d'établir des conditions réductrices. Les conditions oxydées sont obtenues en préparant les suspensions à l'air libre. Dix millilitres de chaque suspension sont répartis dans des tubes à centrifuger contenant les herbicides marqués au ¹⁴C à des concentrations initiales comprises entre 0,1 et 5 mg/l (activités entre 300 et 3000 Bq/ml). Les tubes fermés par des bouchons en Téflon sont agités par retournement pendant 24 heures à 20° C. Puis les suspensions sont centrifugées 10 minutes à 5 000 tours/min. La concentration de ¹⁴C-herbicide dans le surnageant est déterminée par mesure de la radioactivité par scintillation en milieu liquide (compteur à scintillation liquide – Kontron Bétamat V).

La quantité de ^{14}C -herbicide adsorbé dans le sol (x/m , exprimé en mg kg^{-1} sol) pour les différentes concentrations d'herbicide, est obtenue par différence entre les concentrations à l'équilibre (C_e) et les concentrations initiales (C_o), exprimées en mg l^{-1} . $x/m = [(C_o - C_e)v]/m$ où v est le volume de solution en litre et m la masse de sol en kg. Les isothermes sont tracées en représentant la quantité adsorbée (x/m) en fonction de la concentration à l'équilibre (C_e). La description des isothermes d'adsorption à l'aide de l'équation de Freundlich permet d'obtenir les paramètres K_f et n , coefficients empiriques liés respectivement à la capacité et à l'intensité de l'adsorption.

$$x/m = K_f C^n,$$

Afin de comparer les différents comportements de rétention, ces paramètres sont utilisés pour calculer un coefficient K_d à une concentration en solution unique fixée à $0,1 \text{ mg l}^{-1}$.

4. Etude de la dégradation

4.1 Incubation dans des tubes

Les cinétiques ont été réalisées dans des tubes de centrifugation de 25 ml en verre, fermés avec des bouchons en bakélites. 1 ml de solution aqueuse de ^{14}C -polluant est apporté à une suspension de sol préalablement introduite dans chaque tube. L'ensemble des opérations de préparation des échantillons a été réalisé sous atmosphère inerte (circulation de N_2) dans une enceinte hermétique. La suspension de sol est réalisée de façon à apporter l'équivalent de 2 g de sol sec dans chaque tube dans un rapport sol-solution (1-5). La quantité d'eau nécessaire à la réalisation de la suspension tient compte de la teneur en eau initiale du sol.

La suspension est agitée mécaniquement sous azote (circulation de N_2) dans une enceinte hermétique pendant 15 minutes, puis distribuée dans chaque tube. Les solutions aqueuses de traitement sont préparées de façon à apporter pour chaque polluant une dose correspondant à $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ sol. Pour cela des solutions marquées au carbone 14 d'atrazine et d'isoproturon sont préparées à la concentration de $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ et $1,67 \text{ kBq ml}^{-1}$ en ajoutant la quantité nécessaire de ^{14}C -polluant organique en solution méthanolique à une solution aqueuse de polluant non marqué.

Dans tous les tubes, un tube à hémolyse contenant 0,5 ml de NaOH 1 N est introduit de façon à mesurer un éventuel dégagement de $^{14}\text{CO}_2$ et un bouchon de laine de verre imbibée d'huile de paraffine.

Les échantillons sont placés en incubation à $28^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, à l'obscurité, sans agitation.

4.2 Incubation dans des bocaux

Le devenir de l'atrazine et de l'isoproturon est étudié au cours d'incubations réalisées avec du sol préalablement tamisé à 2 mm. Sur chaque échantillon est apportée une solution aqueuse de pesticide. L'humidité des échantillons de sol est ajustée à 85 % de la capacité de rétention avec de l'eau milliQ. Chaque échantillon est placé dans un bocal de 500 ml hermétiquement fermé dans lequel a été préalablement déposé un pilulier contenant 5 ml de NaOH 0,5M. L'humidité des échantillons incubés à l'obscurité dans une pièce climatisée, est mesurée et ajustée au cours des incubations.

Dans le tableau 3 sont rassemblées les caractéristiques spécifiques de chacune des expérimentations menées en conditions oxydantes.

Sol	Taille échantillon (g sol sec)	Dose appliquée mg kg ⁻¹		Température Incubation (°C)
		Atrazine	Isoproturon	
Zone Humide Grignon	10	0,1	0,1	28
Parcelle cultivée Grignon	20	0,5		28
Bande Enherbée (30–60 cm) La Jaillière	20		0,2	18

Tableau n° 3 : Caractéristiques spécifiques de chacune des expérimentations menées en conditions oxydantes.

5. Caractérisation du devenir des pesticides au cours de l'incubation

Trois échantillons par polluant sont sacrifiés à chaque pas de temps. Le suivi de la dégradation des 2 molécules se fait après 7 - 14 - 21 - 28 - 35 - 42 - 49 jours d'incubation. Les tubes en verre contenant la suspension de sol sont centrifugés (5000 tr min⁻¹ pendant 10 à 15 min) afin de prélever la majeure partie de la phase liquide. Le culot solide obtenu ou bien l'échantillon de sol incubé en conditions oxydantes dans les bocaux subit d'abord une extraction au CaCl₂ 0.01 M (10 ml). Puis le culot subit 3 extractions au méthanol (3x10 ml, 24h/6h/6h grâce à une agitation par retournement).

5.1 Dosage de la radioactivité dans la phase aqueuse

Pour les sols incubés en suspension, la radioactivité résiduelle présente dans la phase aqueuse est mesurée par scintillation sur un prélèvement de 0,5 ml auquel est ajouté 4 ml de liquide scintillant (Pico Fluor, Packard). La radioactivité est comptée pendant 10 min à l'aide d'un compteur Kontron Betamatic avec standardisation externe et correction du bruit de fond.

5.2 Dosage et caractérisation de la radioactivité de la fraction extractible au CaCl₂ et au méthanol

La radioactivité de l'extrait CaCl₂ est mesurée par scintillation liquide sur une aliquote de 0,5 ml. La radioactivité de l'extrait méthanolique est mesurée par scintillation liquide sur 0,5 ml de l'extrait méthanolique de chacune des répétitions. Les volumes extraits des trois répétitions sont rassemblés en un seul échantillon qui est filtré sur filtre de verre Whatman 90. Ils sont ensuite concentrés par évaporation à 55°C sous vide à l'aide d'évaporateurs rotatifs (Büchi RE 111) puis repris dans le solvant ayant la même caractéristique que l'éluant de départ. Avant l'analyse, tous les extraits sont filtrés à 0,45 µm (filtre nylon pour seringue 13 mm, MSI). L'analyse des extraits méthanoliques est réalisée à l'aide d'une chaîne CLHP sur une colonne C18 Waters-Novapack (5 µm, 25 cm x 4,6 mm) couplée à un détecteur U.V. (Water 996 Photodiode Array Detector) et à un détecteur de radioactivité (Flo-one β A-500 Packard). Le matériel chromatographique (Waters) est équipé d'un passeur automatique d'échantillons (TM 717 Autosampler) et d'un formateur de gradient (600 E System Controller). Pour l'atrazine, la technique utilisée est la chromatographie de paire d'ions. Les deux solvants, acidifiés avec 5 ml d'acide chlorhydrique 0,2 M contiennent également 5 mM de Dodécylsulfate de sodium pour constituer la paire d'ions. La composition des éluants est la suivante : A, eau (95) et acide chlorhydrique (5) et B, méthanol/eau (90/10). Le programme de gradient est composé de : départ 100% de A, passage à A/B (62/38) à 1 min, jusqu'à 8 min, 60/40 à 8 min, 40/60 à 10 min, jusqu'à 30 min, 0/100 à 30 min, 100/0 à 35 min puis nouvelle injection à 50 min.

Pour l'isoproturon, la phase mobile est un mélange 50/50 méthanol-eau pendant 3 minutes puis passage à 100 % de méthanol selon un gradient linéaire pendant 25 minutes.

5.3 Dosage et caractérisation de la radioactivité de la fraction non extractible au méthanol

Après extraction, les culots solides sont séchés à l'air libre, puis broyés mécaniquement. Sur une partie aliquote de 100 à 150 mg, la teneur en radioactivité est mesurée à l'aide d'un oxidizer 307 Packard. Le ¹⁴C-CO₂ issu de la combustion est piégé dans un flacon contenant 5 ml d'une base organique (Carbosorb Packard) auxquels sont ajoutés 20 ml de liquide scintillant (Permafluor Packard). Le comptage par scintillation permet d'obtenir une valeur de la radioactivité contenue dans le sol broyé.

6. Mesure du potentiel redox et du pH

La mesure du potentiel redox est réalisée à l'aide d'une électrode combinée Pt-Ag/AgCl, 3M (Radiometer XM850). Cette électrode est reliée à un voltmètre Tacussel LPH 230T.

La mesure du pH est réalisée avec une électrode de verre combiné avec une électrode de référence Ag/AgCl (Radiometer XC100) reliée à un pH-mètre Tacussel PHN 130T.

Résultats – Discussion

1. Caractérisation de l'adsorption

Les isothermes d'adsorption de l'isoproturon et de l'atrazine décrites par l'équation de Freundlich montrent des comportements d'adsorption différents pour les 2 herbicides. Les valeurs de n sont comprises entre 0.74 et 0.85 pour l'isoproturon, alors qu'elles se situent entre 0,92 et 0,97 pour l'atrazine. L'adsorption n'est donc pas linéaire et les valeurs de K_d estimés varient en fonction de la concentration en solution. Les coefficients de K_d ont donc été calculés pour une même valeur de concentration d'herbicide à l'équilibre : 0,1 mg l⁻¹ (Tableaux 4 et 5). Cette valeur se situe dans la gamme de concentrations d'isoproturon qui ont été mesurées dans le ruissellement sur le site de la Jaillière (Patty et al., 1997). A Naizin, les suivis dans les eaux (Clément et al., 1999 ; Gascuel-Odoux et Molénat, 2001) montrent pour l'atrazine des valeurs qui vont de 0,01 à 0,08 mg l⁻¹ en période de crue dans les quelques semaines qui suivent les traitements.

Les conditions d'oxydo-réduction imposées dans les suspensions varient selon les sols utilisés. En particulier l'obtention de conditions réductrices ne correspond pas toujours aux mêmes valeurs de potentiel redox. L'effet sur le partage sol-solution est estimé par comparaison des K_d obtenus dans les conditions oxydées et réduites.

Pour l'atrazine, l'établissement de conditions oxydantes pour le sol de Naizin semble favoriser l'adsorption. Par contre pour le sol de Grignon, la rétention de l'atrazine est identique en conditions oxydantes comme en conditions réduites. La comparaison des 2 sols, Naizin : Sol Brun acide et Grignon : Sol Brun Carbonaté indique que les propriétés constitutives des sols jouent de façon plus importante que les conditions d'oxydo-réduction. Bien que 2 fois plus riche en matières organiques, le sol de Grignon a un K_d comparable voir inférieur à celui de Naizin. Dans une ambiance carbonatée, la nature des sites d'adsorption de la matière organique est modifiée par les interactions avec l'ion Ca²⁺ en excès, et par la dissociation de certains groupements fonctionnels acides (carboxyles notamment). Ceci peut globalement diminuer le caractère hydrophobe de la matière organique et par conséquent diminuer la rétention de molécules neutres hydrophobes comme l'atrazine. Des modifications de conformation des macromolécules organiques et

des associations organominérales peuvent aussi modifier l'accessibilité des sites d'adsorption (Piccolo et al. 1998). Cet effet de l'ambiance physico-chimique sur l'état de la matière organique expliquerait les différences importantes de K_{oc} de l'atrazine entre Naizin et Grignon (Tableau 4).

ATRAZINE	Oxydé			Réduit		
	Eh (mV)	Kd (L/kg)	Koc (L/kg)	Eh (mV)	Kd (L/kg)	Koc (L/kg)
Zone Humide Naizin (30-60 cm)	510	4,6±0,7	323	-100	3,4±0,6	239
Zone Humide Grignon (10-30 cm)	340	3,6±0,3	132	90	3,6±0,3	130

Tableau n° 4 : Coefficients de rétention Kd et Koc de l'atrazine calculés pour $C_{solution}=0,1$ mg/l pour des échantillons provenant de 2 zones humides et soumis à différentes conditions d'oxydo-réduction

En ce qui concerne l'isoproturon, une tendance se dessine pour les deux sols étudiés montrant une rétention plus élevée en conditions réductrices sans que les différences de K_d deviennent significatives (Tableau 5). Là encore, les propriétés de sols et en particulier, leur teneur et l'état de la matière organique, peuvent expliquer en grande partie les différences de comportement d'adsorption.

ISOPROTURON	Oxydé			Réduit		
	Eh (mV)	Kd (L/kg)	Koc (L/kg)	Eh (mV)	Kd (L/kg)	Koc (L/kg)
Zone Humide Naizin (30-60 cm)	520	2,9±0,5	210	-90	3,9±0,8	280
Bande enherbée La Jaillière (30-60 cm)	420	1,8±0,1	165	200	2,0±0,1	185

Tableau n° 5 : Coefficients de rétention Kd et Koc de l'isoproturon calculés pour $C_{solution}=0,1$ mg/l pour des échantillons provenant de 2 zones tampons et soumis à différentes conditions d'oxydo-réduction

2. Suivi de la dégradation de l'atrazine et de l'isoproturon

2.1 Distribution de la radioactivité dans les différents compartiments au cours du temps

La répartition de la radioactivité dans les différents compartiments (minéralisé, volatilisé, extractible, non extractible) renseigne sur l'évolution des molécules au cours du temps.

La figure 1 permet de comparer la distribution de la radioactivité pour l'atrazine dans le sol de Grignon. En conditions réductrices, il n'y a pas de minéralisation et la radioactivité est sous forme extractible et non extractible après 50 jours d'incubation. Dans le sol de la zone humide, on détecte 50 % de résidus non extractible contre seulement 31 % dans le sol de la parcelle cultivée. Cette différence s'explique par la teneur en matière organique qui est deux fois plus élevée dans l'horizon superficiel du sol de la zone humide. Dans le sol de la zone humide de Naizin, après 14 jours d'incubation (Fig. 2) la comparaison oxydé – réduit montre qu'en conditions oxydantes 12 % de l'atrazine est minéralisé et 70 % reste extractible. Ces résultats sont en accord avec ceux précédemment observés pour la rétention qui ne semble pas être favorisée par des conditions réductrices.

Pour l'isoproturon (Fig. 3) la stabilisation sous la forme de résidus non extractible est très faible en conditions réductrices. Après 14 jours d'incubation, les résidus non extractibles liés ne représentent que 3 % de la radioactivité totale alors qu'en conditions oxydantes ils représentent respectivement de l'ordre de 53 % et 41 % dans les échantillons de sol de la zone humide de Naizin et de la bande enherbée. Comme précédemment la minéralisation est inexistante en conditions réductrices.

Ces résultats montrent que dans des conditions d'oxydo-réduction données, les facteurs prédominants qui vont conditionner la disponibilité des pesticides dans les sols sont la nature chimique des molécules et les propriétés des surfaces organominérales.

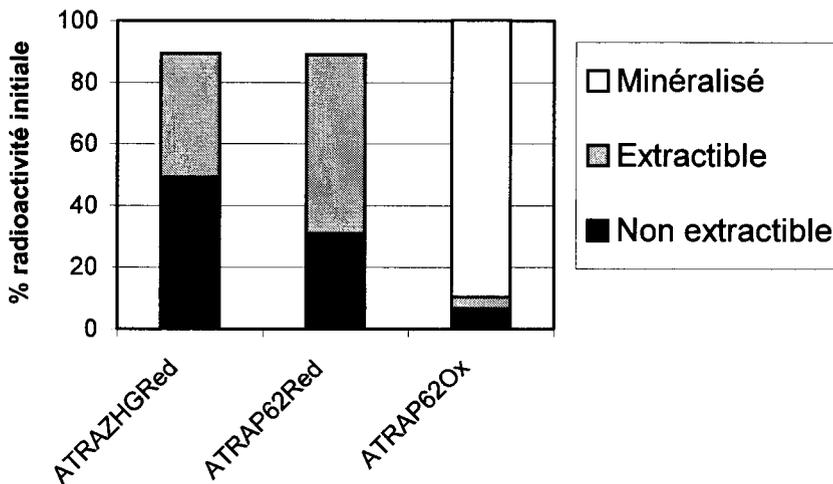


Fig. n° 1 : Distribution de la radioactivité pour l'atrazine après 50 jours d'incubation dans le sol de Grignon. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité initiale

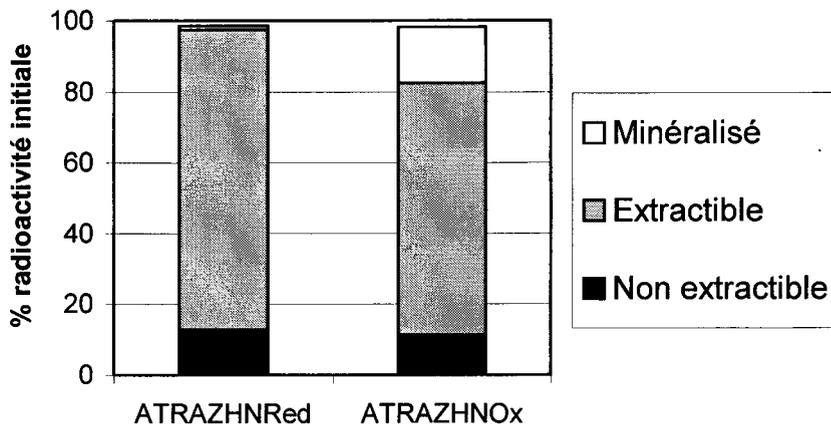


Fig. n° 2 : Distribution de la radioactivité pour l'atrazine après 14 jours d'incubation dans le sol de Naizin. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité initiale

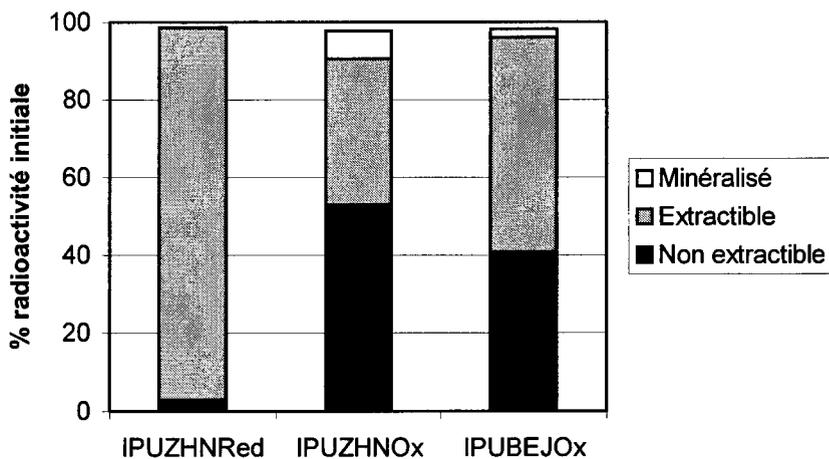


Fig. n° 3 : Distribution de la radioactivité pour l'isoproturon après 14 jours d'incubation dans le sol de Naizin et de La Jaillère. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité initiale

2.2 Identification des voies de dégradation

L'analyse chromatographique des extraits aqueux et méthanoliques ont permis d'identifier les voies de dégradation de ces deux molécules. Les résultats sont représentés sur la figure 4.

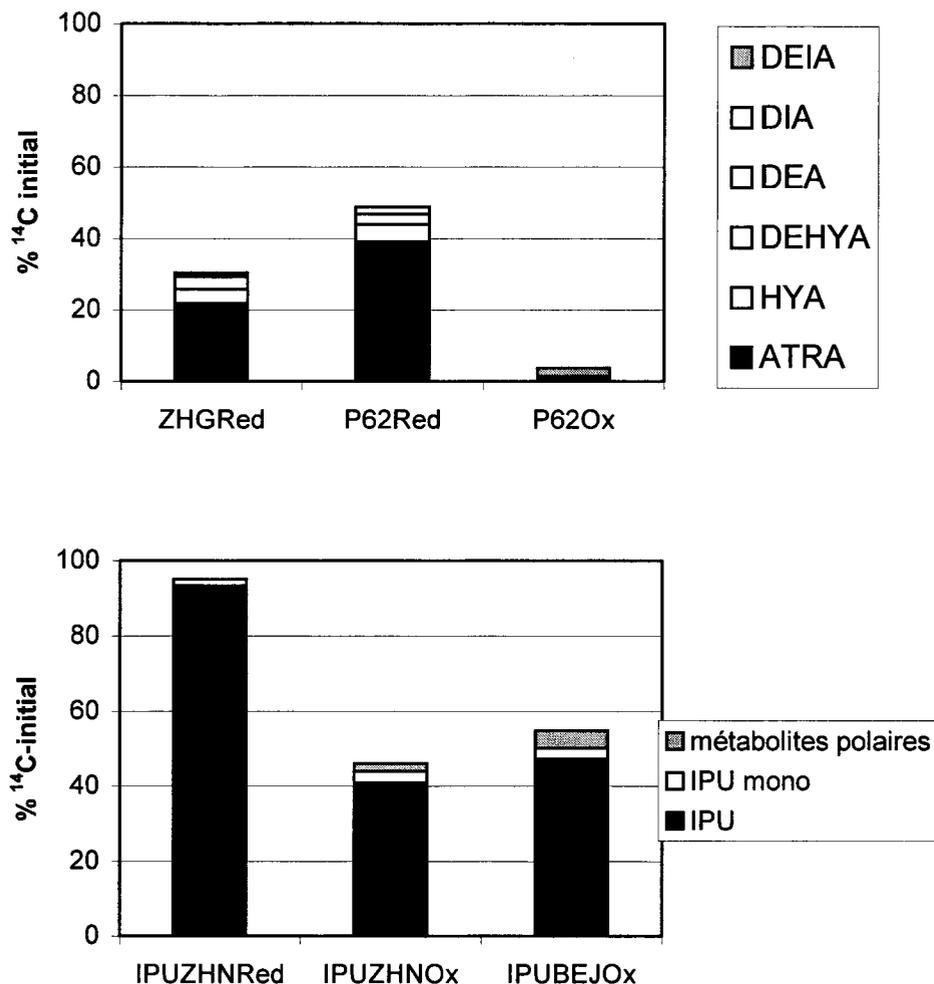


Fig. n° 4 : Distribution de la radioactivité entre les composés radioactifs identifiés en HPLC. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radioactivité totale extraite

Dans l'échantillon de sol provenant de la parcelle adaptée à la dégradation de l'atrazine (Barriuso et Houot, 1996), 100 % de l'atrazine a été métabolisé essentiellement par déalkylation conduisant à la formation de 11,6 % de DIA (déisopropylatrazine) et de 7,5 % de DEA (déalkylatrazine) qui eux-mêmes se convertissent en DEIA (didéalkylatrazine). Lorsque ce même échantillon est placé en conditions réductrices, le schéma de dégradation est à peu près le même que celui observé dans l'échantillon de sol de la zone humide. L'atrazine est dans ce cas peu dégradé (de l'ordre de 35 %) après 50 jours d'incubation et essentiellement par hydroxylation (9 % d'hydroxyatrazine formé). La déalkylation de la molécule semble être une voie de dégradation minoritaire, seulement 3 % de métabolites déalkylés sont détectés dans l'échantillon de sol provenant de la zone humide contre 8,5 % dans l'échantillon provenant de la parcelle adapté à la dégradation de l'atrazine. De nombreux auteurs ont mis en évidence la formation d'hydroxyatrazine comme métabolites majeurs en conditions réductrices (Mersie et al., 1998 ; Jones et al., 1982 ; Chung et al., 1995).

Pour l'isoproturon, la seule voie de dégradation mise en évidence en conditions réductrices est une déméthylation de la molécule mère, avec la formation de seulement 1,7 % de monométhyl-isoproturon. En conditions oxydantes, cette voie est également identifiée, mais dans le même temps, il ne reste que 50 % d'isoproturon et de l'ordre de 4 % de monométhyl-isoproturon. L'isopropylaniline est un métabolite de l'isoproturon formé par hydrolyse après le stade de déméthylation (Mudd et al., 1983). L'absence d'isopropylaniline pourrait s'expliquer par une rétention irréversible de ce métabolite au fur et à mesure de sa formation. La formation de dérivés anilines au cours de la dégradation de l'isoproturon pourrait être une voie prépondérante dans la formation de résidus liés (Madrigal, 1999; Scheunert et Reuter, 2000). L'observation de ce phénomène semble étroitement lié à la présence de conditions oxydantes.

Conclusions

Les capacités de stockage et de dégradation des différents systèmes tampons (bandes enherbées, zones humides) ont été caractérisées en suivant la disponibilité de l'atrazine et de l'isoproturon et de leurs résidus. Ces expérimentations nous ont permis d'observer des différences importantes de comportement entre les sols et en fonction des conditions d'oxydo-réduction.

La dissipation de l'atrazine et de l'isoproturon via des phénomènes de biodégradation est d'autant plus rapide que ces zones d'interface sont oxydées. L'apparition de conditions réductrices ralentira au contraire la dégradation. Cependant l'existence de résidus non extractibles représente une forme localisée de pollution et peut engendrer une pollution différée.

Même si ces résultats sont difficilement généralisables pour l'instant, ils montrent que la caractérisation géochimique de la solution du sol est nécessaire pour mieux appréhender le fonctionnement microbiologique de ces zones. La mise en place de

zones tampons pour abaisser la concentration en pesticides dans les eaux ne peut être préconisée que dans certaines situations. Les situations a priori favorables sont donc celles où existe un fonctionnement hydrique assurant d'une part un temps de séjour de l'eau suffisant pour que la biodégradation puisse avoir lieu et d'autre part un environnement physico-chimique approprié pour que la microflore du sol soit active, avec en particulier un renouvellement suffisant d'accepteurs d'électrons tels que l'oxygène dissous.

Bibliographie

- Barriuso E., Houot S. 1996 – Rapid mineralization of the s-triazines ring of atrazine in soils in relation to soil management. *Soil Biol. Biochem.*, 28, 1341-1348.
- Benoit P., Barriuso E., Vidon P., Réal B. 1999 - Isoproturon sorption and degradation in a soil from grassed buffer strip. *Journal of Environmental Quality*, 28, 121-129.
- Benoit P., Barriuso E., Vidon P., Réal B. 2000 - Isoproturon movement and dissipation in undisturbed soil cores from a grassed buffer strip. *Agronomie*, 20, 297-607.
- Clément M., Cann C., Seux R., Bordenave P. 1999 - Facteurs de transfert vers les eaux de surface de quelques phytosanitaires dans le contexte agricole breton. Merceron M., Acte de Colloques, 24, IFREMER St Brieuc, 141-156.
- Chung K.H., Ro K.S., Roy D. 1995 - Atrazine biotransformation in wetland sediment under different nutrient conditions-I: anaerobic. *Journal Environmental Science Health*, 109-120.
- Gascuel-Oudoux C., Molénat J. 2001 – La contamination des nappes superficielles par les herbicides : diagnostic et facteur. 31^{me} Congrès du Groupe Français des Pesticides. Lyon 15 - 17 mai 2001.
- Gril J.J. et al. 1997 - Produits phytosanitaires et dispositifs enherbés. Etat des connaissances et propositions de mise en œuvre. CORPEN, Groupe " Dispositifs Enherbés ", 88 pp.
- Jones T.W., Kemp W.M., Stevenson J.C., Means J.C. 1982 - Degradation of atrazine in estuarine water/sediment systems and soils. *Journal Environmental Quality* 11, p. 632-638.
- Lecomte V., Le Bissonnais Y., Renaux B., Couturier A., Ligneau L. 1997 - Erosion hydrique et transferts de produits phytosanitaires dans les eaux de ruissellement. *Cahiers Agricultures*, 6,
- Madrigal I. 1999 - Potentialités de stockage et d'épuration des pesticides par différentes zones tampon : caractérisation de la rétention et de la dégradation de l'isoproturon. Mémoire de DEA. 40p. + annexes.
- Mersie W, Liu J, Seybold C, Tierney D 1998 Extractibility and degradation of atrazine in submerged sediment. *Weed Science*, 46 : p. 480-486.
- Mersie W., Seybold C.A., Mc Namee C., Huang J. 1999a - Effectiveness of switch grass filter strips in removing dissolved atrazine and metolachlor from runoff. *Journal of Environmental Quality*, 28, 816-821.

- Mersie W., Seybold C.A., Tsegaye T. 1999b - Movement, adsorption and mineralization of atrazine in two soils with and without switchgrass (*Panicum virgatum*) roots. *European Journal of Soil Science*, 50, 343-349.
- Moussa R., P. Ackerer P., Adamiade V., Andrieux P., Barriuso E., Benoit P., Bourrié G., Carlier N., Charnay M.P., Chaumont C., Coquet Y., Dutertre A., Coulouma G., Fabre J.C., Garon-Boucher C., Gillet J.P., Gouy V., Gril J.J., Kao C., Lagacherie P., Le Forner S., Lehmann F., Louchart X., Madrigal I., Nedelec Y., Pot V., Réal B., Robbez-Masson J.M., Souiller C., Trolard F., Voltz M. 2001 - Le projet AQUAE : Rôle des aménagements d'origine anthropique (zones enherbées et fossés) dans le transfert et la rétention des produits phytosanitaires 31^{me} Congrès du Groupe Français des Pesticides. Lyon 15 - 17 mai 2001.
- Mudd P.J., Hance R.J., Wright S.J.L. 1983 - The persistence and metabolism of isoproturon in soil, *Weed Research*, 23, 239-246.
- Patty L., Réal B., Gril J.J. 1997 - The use of grassed buffer strips to remove pesticides, nitrate and soluble phosphorus compounds from runoff water. *Pesticide Science*, 49, 243-251.
- Piccolo, A, Conte, P., Scheunert, I., Paci, M. 1998 - Atrazine interactions with soil humic substances of different molecular structure. *Journal of Environmental Quality*, 27, 1324-1333.
- Réal B., Patty L., Masson E. 1997 - Bandes enherbées : Un frein au ruissellement des produits phytos. *Perspectives Agricoles*, 221, 40-43.
- Scheunert, I. and S. Reuter. 2000 - Formation and release of residues of the ¹⁴C-labelled herbicide isoproturon and its metabolites bound in model polymers and in soil. *Environmental Pollution*, 108, 61-68.
- Tomlin C. 1996 - *The Pesticide Manual (Incorporating The Agrochemicals Handbook)*. Twelfth edition. Crop Protection Publications.

Comportement des produits phytosanitaires dans les fossés

Fate and Behaviour of Pesticides in Farm Ditches

Richard Williams and Jenny Smith

Centre for Ecology and Hydrology, Crowmarsh Gifford, Wallingford, Oxfordshire, OX10 8BB, UK.

11th May 2001

Abstract : *A field study has been set up to study the transport of pesticides through ditches draining land in cereal production. This paper shows data for three pesticides in two ditches. Isoproturon and diflufenican loads over a drainage season were reduced by between 30% and 60% over a distance of 400m. Laboratory tests showed that both isoproturon and diflufenican would sorb to bed sediments and that desorption was not fully reversible. This indicates that the loss in the ditch was probably due to sorption to the ditch sediments. Propyzamide, however, showed a decrease in the load transported for the first two runoff events after its application, however subsequent events showed a gain with no net loss over the 5 events studied. Within these events there was an initial loss of propyzamide followed by a gain. Laboratory sorption/desorption tests are to be carried out for propyzamide.*

Keywords : *Isoproturon, diflufenican, propyzamide, ditches, sorption, runoff*

Mots-clés : *Isoproturon, diflufenican, propyzamide, fossés, sorption, ruissellement*

1. Introduction

Extensive research has been carried out on pesticide losses from plots and fields. The processes that lead to pesticide runoff are reasonably well understood although they have proved too complex to model reliably at present. Farm ditches are an important part of the surface water drainage network, linking pesticide runoff from fields to the permanent watercourse network. The amount of pesticide passing through ditches may be modified by a number of physical, biological and chemical processes: sorption (to sediments or plants), volatilization, uptake (by plants and animals), degradation (biotic and abiotic). These in-ditch processes may play an important role in reducing the loads of pesticides reaching rivers used for water supply. This paper describes results from a field study where an attempt has been made to quantify the losses of a range of pesticides as they pass along two farm ditches.

2. Methods

2.1 Field Site

The study site is located at the Oxford university farm at Wytham, situated 10 km to the west of Oxford, UK. The predominant soil type is heavy clay from the Denchworth series. The farm practices mixed agriculture based on sheep, beef and cereal production. The cereals follow a 4-year rotation of 3 winter-sown cereals followed by winter oil seed rape.

At Wytham the aim is to study the behaviour of pesticides in ditches arising from runoff from fields receiving applications in the course of normal agricultural production. Two ephemeral ditches have been selected for study (Figure 1). The ditches are about 1 m wide at the top narrowing to ~0.3 m at their base. The study section for Ditch A is 150 m long and 400 m long for Ditch B. The ditches are fed by a combination of subsurface drains, subsurface lateral flow and some overland flow, although the latter is reduced at certain locations by a 3 m grassed buffer strip along the edge of the ditch.

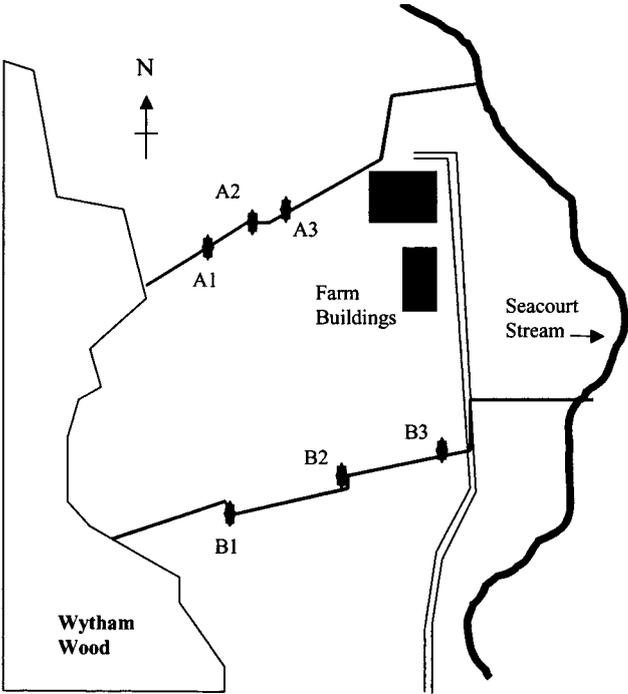


Fig. n° 1 : Wytham field site showing the locations of the sampling sites on the two ditches being studied

2.2 Flow measurement

Flow measurements have been made at 15 minute intervals at sites A1, A3, B1 and B3 (Figure 1). At sites A1, A3 and B1, flow was measured using pre-formed flumes (Scottish Environmental Protection Agency, Edinburgh) embedded in the beds of the ditches during the early spring of 1999. Figure 2 shows a detail from the flume at site A1. At site B3 flowrate was measured using an existing V-notch weir installed as part of the UK Environmental Change Network. For both flow devices, the flow over the weir can be calculated from the depth of water above the weir using standard rating curves. Depth data from the pressure transducers were stored on solid-state loggers, which were downloaded each week.



Fig. n° 2 : Pre-formed flume structure imbedded in the ditch at site A1

2.3 Sampling

A two-level approach to sampling was taken: routine sampling and event sampling. Routine samples were taken regularly from the six sites both before and after the applications of the target pesticides were made. The water samples were taken in 1-litre, brown glass bottles and stored at 4°C prior to analysis. Bed-sediment samples were taken each month from each of the six sites. The samples were taken by carefully removing the top 2 cm of the bed sediment using a metal trowel and placing it in a polythene bag. The samples were kept frozen at -18°C prior to analysis.

Event samples were taken to study the dynamics of pesticide transport within the ditch during periods of high flow. During rainfall not only will pesticides be transported from the surrounding fields to the ditches, but also there is scope for re-mobilisation of pesticides sorbed to bed-sediments. Automatic samplers at sites A1, A3, B1 and B3 were linked to the solid-state data loggers and were programmed to take a series of samples when the level of water in the ditch rose above a specific value. Samples were collected every 15 minutes for the first 6 samples and then half hourly or hourly there after. The samplers ceased taking samples when the level fell below the trigger value. Samples were recovered from the field as soon as was practicable, usually within 48 hours and stored at 4°C prior to analysis. Figure 3 shows an automatic sampler on the bank at site A1.



Fig. n° 3 : Detail of an epic automatic sampler at site A1 showing the arrangement of bottles within the base. The aluminium box contains the solid-state logger that controls the initiation of the sampling programme.

2.4 Pesticides studied

In order to separate processes occurring within the ditch from diffuse pesticide inputs along the length of the ditch, only pesticides applied to land draining to points above the upper most sampling point were studied. This paper describes applications of 3 pesticides, isoproturon, diflufenican (to winter wheat) and propyzamide (to winter oil seed rape).

- Ditch A : Propyzamide at 1.4 kg a.i./ha on 26th October 2000
- Ditch B : Isoproturon at 1.5 kg a.i./ha on 21st November and 0.61 kg a.i./ha on 23rd November 1999
- Diflufenican at 60 g a.i./ha on 23rd November 1999

These pesticides have contrasting properties (Table 1).

Characteristics	Propyzamide	Isoproturon	Diflufenican
Vapour pressure (mPa)	0.058	0.0033 (20°C)	0.07 (30°C)
K _{oc} (l/kg)	800	120	1990
DT50 (days)	60	12-32	175-294

Table n° 1 : Properties of the herbicides studied in the field. K_{oc} and DT50 values refer to measurements made in soil.

2.5 Analysis

2.5.1 Pesticides in water

Samples were filtered through pre-weighed and pre-dried 0.45 µm glass fibre filters and the filtrates were extracted by C18 solid phase cartridge. The cartridges were eluted with acetonitrile and analysis was by gas chromatography with mass spectrometer detection operating in single ion mode for diflufenican and by high-pressure liquid chromatography with UV detection for isoproturon. The detection limit was 0.03 µg/l for both pesticides. Propyzamide was not extracted but was injected directly into an HPLC with detection by MS in single ion mode. The detection limit was 1 µg/l.

2.5.2 Sediment Samples

Supercritical-fluid extraction (SFE) of ca 1 g of material was performed using a Dionex system (SFE-703) with Co-Solvent Addition Module, using SFC/SFE grade CO₂, pesticide-grade methanol and a Jun-Air 18-50 compressor. The extracts were collected in 20 ml of ethyl acetate. The volume was reduced to 1.5 ml using pure nitrogen. Blank samples with no sediment material were included in the sample batch. The compounds were analysed by gas chromatography (GC) with mass spectrometer detection (Perkin Elmer TurboMass) in electron ionisation mode. The GC column was a 30 m x 0.25 mm PE-5MS. The analysis was conducted in single-ion mode (SIM), with quantification from the abundance of the base ion and confirmation by at least one qualifier ion.

3. Results and Discussion

3.1 Isoproturon and Diflufenican – Regular Samples

Samples were collected on a weekly basis and were combined with the instantaneous flow on that day to produce mass flows of IPU and DFF at the upstream and downstream sites. These instantaneous values were converted into a mass per 15 minutes, the flow-sampling interval. The data for IPU are presented in Figure 4. The most significant masses of IPU were found in the two samples taken immediately after the pesticide application and the mass loss along the ditch is most significant in these samples. Later on the mass loads transported are low and there is generally a gain in IPU load down the ditch.

The sorption coefficients (K_d s) measured in the laboratory for IPU (3.7 kg/l) and DFF (17.4 –23.2 kg/l) to sediments from Ditch B showed that there was potential for loss of these chemicals through binding to the sediments. Measurements of sediment samples taken from the ditches showed concentrations of IPU of up to 477 µg/kg and DFF concentrations of up to 1642 µg/kg. Measurable levels (<10 µg/kg) were only found for 2 months after the application. There seems to be two phases to the transport of IPU (and also DFF). Initially there is sorption of IPU from the pesticide-rich water, followed by release of IPU from the sediments when concentration in the water column reduces. There is likely to be degradation of pesticide in the sediments over the season, but this has not been studied.

The 15-minute load values can, with a great deal of caution, be interpolated to give pesticide mass balances over the season. The need for caution arises from the very rapid response of ditch pesticide concentrations to rainfall events and the fact that weekly sampling will not reflect well these short-lived event concentrations. Table 2 shows maximum and minimum estimates of the IPU and DFF loads at the top and bottom of ditch B. The maximum estimate comes from assuming a linear interpolation between weekly values. The minimum estimate comes from assuming that a missing concentration value for a week is best characterized by the lower of the two adjacent values.

For both IPU and DFF there is a clear reduction in the mass of pesticide leaving Ditch B compared to that entering the ditch. For IPU the reduction is 61% assuming the largest mass estimates and 44% assuming the smallest mass load estimates. The corresponding figures for DFF are 57% and 29%. These figures show that the ditch is greatly reducing pesticide concentrations in runoff water from treated fields in excess of that which might be expected by dilution alone.

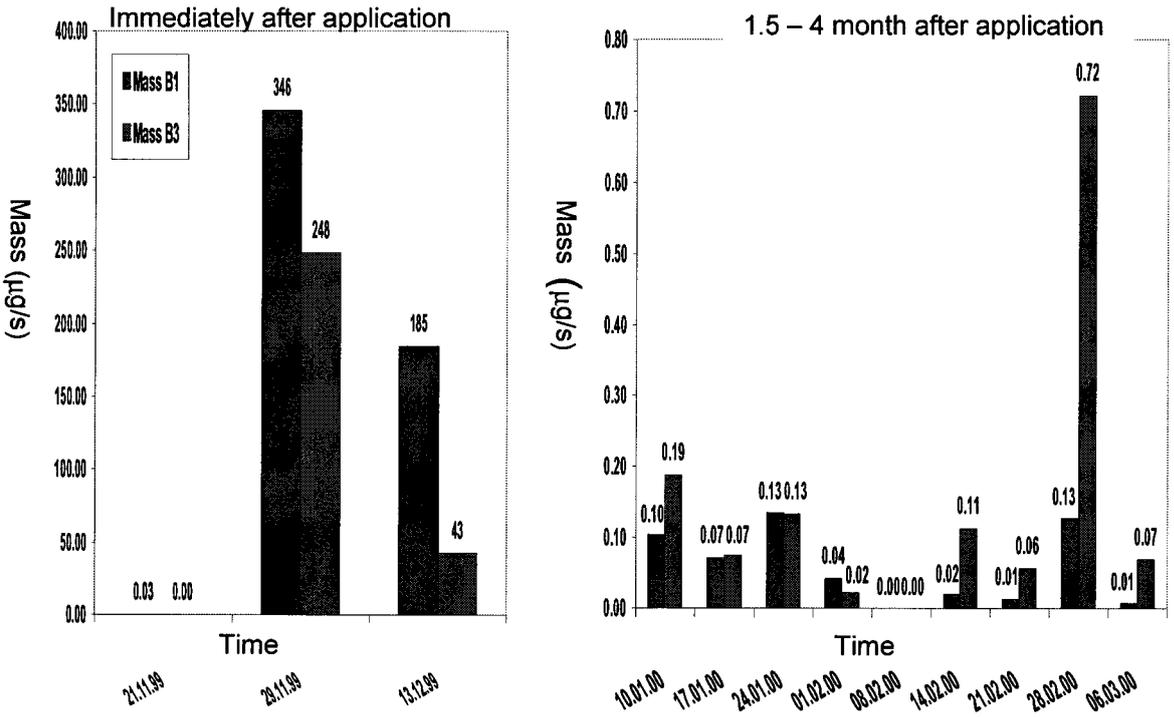


Fig. n° 4: Mass of isoproturon transported at the top (B1) and bottom (B3) of the ditch. The numbers on the bars show the concentration of isoproturon

Pesticide	Site	Maximum (g)	Minimum (g)
IPU	B1 (top)	334	118
IPU	B3 bottom)	129	66
DFF	B1 (top)	2.90	1.01
DFF	B3 (bottom)	1.24	0.71

Table n° 2 : Mass balances for IPU and DFF along Ditch B over Autumn 1999 to Spring 2000

3.2 Propyzamide – Event samples

Short interval sampling carried out over rainfall events showed a pulse of Propyzamide passing down the ditch (figure 5). The flow rates at the top and bottom of the ditch are similar but the loads of propyzamide carried are much larger at the top site early in the event. Overall there is a net loss of propyzamide

over the 7 hours for which the event lasts. At this short time scale these data show a similar pattern to the regular samples taken for IPU and DFF; at the beginning of the event there is loss of propyzamide followed by a gain later on. The event shown was the first to occur after application (2 days before). The second event also showed a net loss of propyzamide, however, subsequent events showed a different pattern in which there was an overall gain of pesticide over the reach; these events are summarized in table 3.

Date	Mass at top (g)	Mass at bottom (g)	Loss/(gain) (g)
28/10/2000	13.3	12.1	1.2
29/10/2000	13.9	13.2	0.7
31/10/2000	0.8	0.9	(0.1)
2/11/2000	4.1	6.6	(2.5)
11/11/2000	6.4	6.5	(0.1)
Total	38.5	39.3	(0.8)

Table n° 3 : Propyzamide loads calculated at the top and bottom of ditch A for 5 rainfall events.

Within the errors associated with calculating the loads there was an approximate equality between the amounts of pesticide at the top and bottom of the ditch showing that for propyzamide the ditch does not reduce the pesticide runoff loads. When propyzamide was studied on ditch B in 1998/99 routine samples showed there was a reduction in propyzamide concentrations between the top and bottom sites (Williams et al, 1999), but subsequent analysis showed that the loads had not decreased. This overall effect is in contrast to IPU and DFF for which there was net loss of pesticide. The pattern of sorption of pesticide followed by release is however similar.

Analysis of bed sediments from both ditches A and B showed propyzamide had been sorbed, which would suggest that some should have been retained. However, if the sorption is completely reversible then this could account for the observations in the storm events. Further laboratory tests are being carried out to test this. Further event samples and routine samples for propyzamide from this season (2000-01) have been collected, but have not yet been analysed.

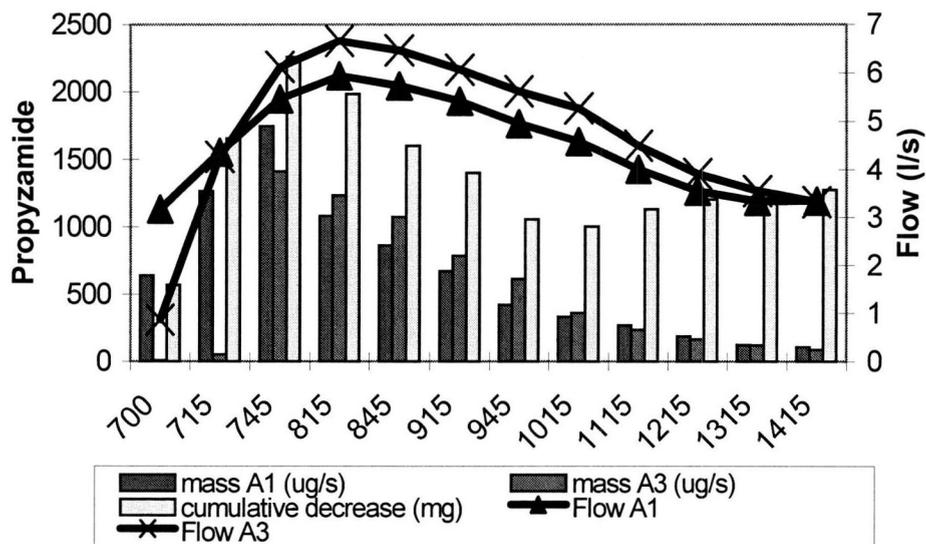


Fig. n° 5 : Propyzamide loads at the top and bottom of ditch a during a rainfall event on 28/10/2000.

4. Conclusions

Pesticide losses were most important in samples taken close to the time of application.

IPU and DFF loads were reduced as they moved through the ditch by between 30 and 60%. The most likely removal process is sorption on to the bed sediments probably followed by degradation.

In high flow events, propyzamide showed the same pattern of initial sorption followed by release. Overall, however, propyzamide was not retained in the ditches, which may indicate a more easily reversible sorption than for IPU and DFF.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the UK Ministry of Agriculture Fisheries and Food Pesticide Safety Directorate for funding this study. Thanks are also due to Alan House of CEH Dorset for the sediment analysis. We would also like to thank Michelle Taylor of the UK Environmental Climate Change Network for providing flow data for site B3.

Modélisation du transfert des pesticides dans les sols : importance et prise en compte des incertitudes

Taking uncertainty into account in pesticide fate modelling

Igor Dubus

Cranfield Centre for EcoChemistry

Cranfield University, Silsoe, Beds MK45 4DT, United Kingdom.

Tél: +44 1525 863378; Fax: +44 1525 863253; e-mail: i.dubus@cranfield.ac.uk

Date de révision : 6 septembre 2001

Résumé : Les modèles de transfert de solutés dans les sols sont largement utilisés dans l'estimation du risque environnemental pour les produits de protection des plantes aussi bien dans le contexte européen qu'américain. Bien que les sources d'incertitude liées à cette modélisation soient nombreuses, l'incertitude n'est pas prise en compte explicitement dans l'approche des Ratios Toxicité/Exposition. Cette communication présente les principales sources d'incertitude dans la paramétrisation des modèles de transfert et explique les fondements de l'approche Monte Carlo appliquée à l'estimation du transfert de pesticides vers les eaux souterraines. L'intégration des incertitudes dans la modélisation permet une évaluation du risque plus réaliste et plus transparente. L'adoption de ces méthodes dans l'homologation des pesticides en Europe paraît désirable.

Abstract : *Pesticide fate models play an important role in risk assessment procedures for registration of crop protection products both in Europe and in the US. Although sources of uncertainty in pesticide fate modelling are numerous, uncertainty is not explicitly taken into account within current procedures for registration modelling. The paper briefly reviews the main sources of variability leading to uncertainty in model input parameters and present a Monte Carlo framework for taking uncertainty into account in the modelling. The approach is more realistic and transparent than the traditional risk quotient approach and is likely to benefit all stakeholders, from the public through the industry to the regulators.*

Mots-clés : modélisation, incertitudes, variabilité, évaluation des risques

Keywords : *modelling, exposure, uncertainty, variability, risk assessment*

Current environmental risk assessment procedures for pesticide registration in the EU rely on the comparison between exposure and ecotoxicological endpoints (surface waters) or a legal threshold concentration (groundwater). A tiered

approach is implemented to concentrate on those compounds which might be harmful to the environment and not penalise those which pose little threat. Relevant ecotoxicological endpoints are typically derived by laboratory tests using a range of representative organisms although predictive models such as QSARs (Quantitative Structure Activity Relationships) are sometimes used in the early stages of the risk assessment. In contrast to the derivation of effect concentrations, the estimation of Predicted Environmental Concentrations for exposure (PECs) relies heavily on the use of predictive models, especially at higher tiers.

Deterministic models which are most commonly used to estimate PECs for groundwater are PELMO, PRZM, PEARL and MACRO. A detailed presentation of the capabilities of the different models can be found elsewhere (FOCUS, 2000). The estimation of the fate of crop protection products in surface waters is less harmonised at present and a range of approaches are used to estimate PECs, from simple dilution calculations through the use of reference data (e.g. Ganzelmeier tables for spray drift) to deterministic models such as the Dutch model TOXSWA. Inputs to a surface water body via soil erosion, run-off or drainage can be estimated using those leaching models which integrate a description of these processes.

For surface waters, the ratio between PECs and ecotoxicological endpoints is calculated (termed TER for Toxicity:Exposure Ratio) and compared to threshold values which are dependent on the organism considered (typically 10 or 100). A compound is considered to pose little threat to surface water organisms if TERs exceed the thresholds. These trigger values can be considered as safety factors which account in part for the uncertainty in the TER itself. For groundwater, TERs are compared to a threshold concentration of 0.1 µg a.i./l, irrespective of the toxicity and ecotoxicity of the compound.

A schematic representation of the current pesticide registration procedures for assessing the risk posed by the product to the environment is provided in Figure 1.

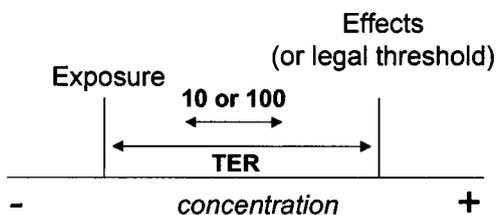


Fig. n° 1 : Schematic representation of current environmental risk assessment procedures

1. Sources of uncertainty in pesticide fate modelling

Uncertainty in the modelling of pesticide fate in the environment has a variety of sources. Uncertainty may result from model inadequacy (the inability of the model to simulate reality even if the models has the right input), from variability and uncertainty in the values for input parameters or from the influence of the modeller.

Most variables measured on samples taken in the field are variable in space and in time. These include for instance soil properties (e.g. particle size distribution, organic matter content, bulk density, soil hydraulic properties) and sorption and degradation characteristics of a compound. Wood *et al.* (1987) reported Koc values varying from 66 to 1445 l/kg in a 4-ha field (Coefficient of Variations 17-47%) while Elabd *et al.* (1986) reported a CV of 38% for the Koc of napropamide in a 0.6-ha plot. Walker *et al.* (2001) found large variation of isoproturon degradation in 30 samples taken from a 5-ha field (DT50 6.5 to 30 days). Apart from natural variations at the field scale, variability may arise from the use of different sampling techniques in the field, differences in sample storage and preparation (e.g. frozen vs. refrigerated samples; air dried vs. moist samples), the use of different procedures for analytical measurements or different environmental conditions in the laboratory.

Significant uncertainty is expected to originate from the parameterisation of the model. The attribution of values to input parameters may be based on the use of data collected in the field or in the laboratory, on general relationships established by research groups (e.g. pedo-transfer functions, QSARs) or on expert judgement (an educated decision based on the experience of the individual). The derivation of DT50 values to be used in the modelling from laboratory degradation data is an important step in the parameterisation. Leake *et al.* (1995) used a degradation dataset (decrease in pesticide concentrations over time) and calculated DT50 values using a range of equations and fitting packages. Resulting DT50 values ranged between 4 and 93 days (mean 27.9 days; median 21.0 days). In a recent evaluation exercise, (Vancloooster *et al.*, 2000), a significant variability in model predictions was obtained between different modellers although they all used the same basic information to undertake model parameterisation.

Uncertainty might also be introduced once the model has been run since model output is often manipulated (e.g. for comparison with experimental data). Finally, decision-making based on an identical set of model results might be subject to uncertainty. A number of sources of uncertainties on the predictions of pesticide concentrations in an environmental media are rarely acknowledged in the literature. These include the influence of the selection of a specific model or the inadequate use of models. All the different sources of uncertainty will aggregate as the modelling progresses (Figure 2).

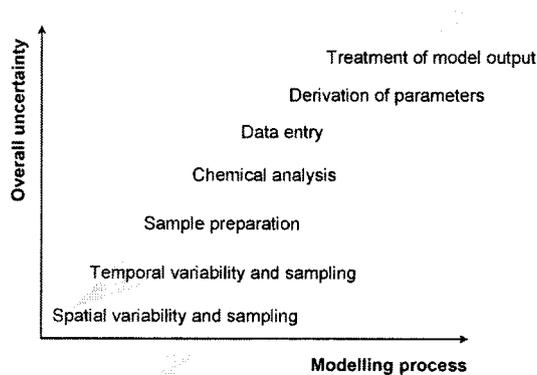


Fig. n° 2 : The increase in the overall uncertainty as modelling progresses

Although sources of uncertainty are clearly numerous and may affect model predictions which are later used in the decision making with regard to the placement of crop protection products on the market, uncertainty is not taken into account in the modelling carried out for pesticide registration. Integrating uncertainty in modelling can be achieved through a number of techniques, the most versatile being the Monte Carlo approach.

2. Taking uncertainty into account in the modelling

The traditional approach to pesticide fate modelling is to assign values to each model input parameter and to run the model once. In contrast, the Monte Carlo approach is based on numerous runs of the model. A probability density function is attributed to each input parameter to be included in the analysis. This reflects the fact that these parameters are considered uncertain and can take a range of values. A large number of input values for each parameter (say, 1000 values) are sampled randomly from the probability density functions and these are used to generate 1000 model input files. The model is run for all these input files and model outputs are aggregated to enable a presentation of the results in probabilistic terms. The whole Monte Carlo approach is often referred to as "probabilistic modelling". The following sections explain technical procedures in more detail.

2.1 Selection of parameters

Although including all model parameters in a Monte Carlo analysis is technically possible, it is not desirable because this would involve a large number of model runs and attributing adequate probability density functions to each parameter would prove difficult. Parameters which need including in the analysis are those

which are uncertain and which significantly influence model predictions. This latter point is traditionally addressed by performing a sensitivity analysis for the model. Although performing such an analysis for the situation at hand is desirable, literature information can also be used. Dubus *et al.* (2000) performed sensitivity analyses for the four pesticide leaching models which are used for pesticide registration in Europe and identified for each model those parameters which most influence predictions for groundwater recharge and pesticide leaching. They found that in most model-scenario combinations considered, models were most sensitive to parameters related to sorption and degradation. An example of results for the MACRO model is provided in Figure 3.

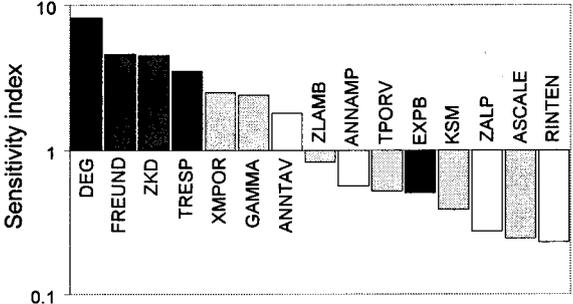


Fig. n° 3 : Example of sensitivity analysis results for the MACRO model. Parameters have been ranked by decreasing sensitivity.

2.2 Attribution of probability distribution functions

The attribution of probability density functions is a difficult task which is key to the whole probabilistic approach. Probability density functions which are traditionally assigned to input parameters of pesticide leaching models are the normal, log-normal, uniform or triangular probability distributions. Distribution fitting on the basis of statistical tests can be used where data on the variability of parameter values are available. If there are no or few data, literature information on the expected variation or expert judgement may be used.

2.3 Sampling and model runs

Monte Carlo sampling into the assigned probability density functions is carried out to generate values for input parameters. The traditional Monte Carlo approach to sampling requires a large number of samples to cover the parameter space. The stratified sampling technique known as Latin Hypercube Sampling (LHS) is an efficient sampling alternative which allows the reduction of the number of runs. The replacement of parameter values in input files, the running of the model and the extraction of selected model output can be automated using packages such as SENSAN (Doherty, 2000).

2.4 Examination of results

Model predictions for each run are ranked and displayed in a cumulative distribution function (CDF). An example is provided in Figure 4. The chart can be used to estimate the probability of simulating a concentration above or below a particular concentration. In Figure 4, concentrations below 0.07 $\mu\text{g/l}$ are predicted in 75% of the cases and the probability of the pesticide concentration exceeding the threshold of 0.1 $\mu\text{g/l}$ is ca. 15%.

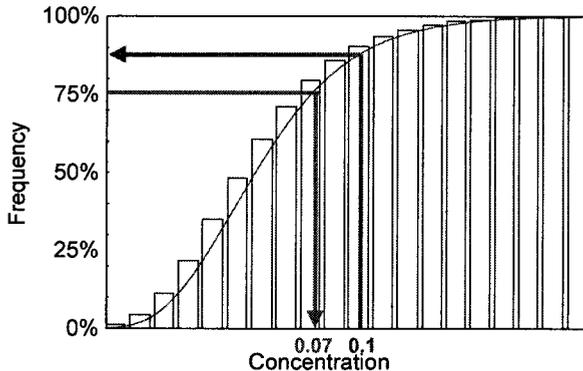


Fig. n° 4 : Example of probabilistic modelling results

3. Conclusions

Conducting probabilistic modelling using Monte Carlo is relatively simple and the approach can be transferred to any field of science where models are used. Distributions of exposure concentrations generated by probabilistic modelling using pesticide leaching models can be compared to threshold concentrations (e.g. an ecotoxicological endpoint) or to a species sensitivity distribution when the information is available (Figure 5). Taking uncertainty into account provides a more realistic and transparent assessment of the risk of environmental impact compared to the TER approach currently implemented in pesticide registration. Decision makers have the opportunity to look at the wide range of possible outcomes without the limitations of the point estimate methods. The main limitation of the probabilistic approach is that it only considers the uncertainty associated with the model input parameters. Other types of uncertainty, such as the inability of a model to fully represent field data, are ignored.

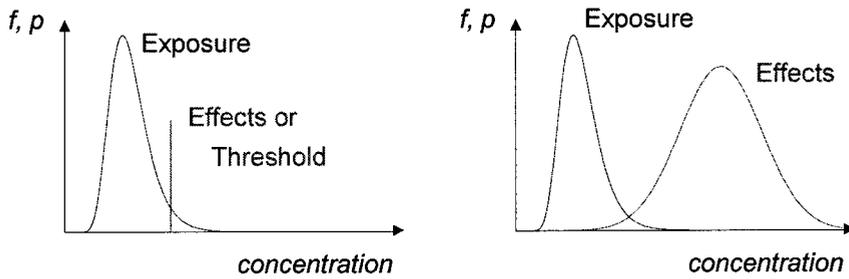


Fig. n° 5 : Revised risk assessments on the basis of probabilistic modelling.

4. References

- Doherty J., 2000. PEST, model independent parameter estimation. User manual. Corinda, Australia.
- Dubus I.G., Brown C.D. & Beulke S., 2000. Sensitivity analyses for leaching models used for pesticide registration in Europe. SSLRC research report for MAFF PL0532, 407p.
- Elabd H., Jury W.A. & Cliath M.M., 1986. Spatial variability of pesticide adsorption parameters. *Environmental Science & Technology*, 20, 256-260.
- FOCUS, 2000. FOCUS groundwater scenarios in the EU review of active substances. Report of the FOCUS Groundwater Scenarios Workgroup, EC document reference Sanco/321/2000 rev.2, 202pp.
- Leake C.R., Humphreys S.P. & Austin D.J., 1995. Factors influencing the modelling of pesticide degradation in soil and the estimation of half-life and DT90 values. BCPC Monograph 62, Pesticide movement to water, 195-200.
- Vanclooster M., Boesten J.J.T.I., Trevisan M., Brown C.D., Capri E., Eklo O.M., Gottesbüren B., Gouy V. & van der Linden A.M.A., 2000. A European test of pesticide-leaching models: methodology and major recommendations. *Agricultural Water Management*, 44, 1-19.
- Walker A., Jurado-Exposito M., Bending G.D. & Smith V.J.R., 2001. Spatial variability in the degradation rate of isoproturon in soil. *Environmental Pollution*, 111, 407-415.
- Wood L.S., Scott H.D., Marx D.B. & Lavy T.L. (1987). Variability in sorption coefficients of metolachlor on a Captina silt loam. *Journal of Environmental Quality*, 16, 251-256.

La dissipation des produits phytosanitaires appliqués au sol

G. Grébil, S. Novak, C. Perrin-Ganier, M. Schiavon
(présentation Michel Schiavon)

ENSAIA/INRA, Laboratoire Sols et Environnement
2, avenue de la Forêt de Haye, B.P. 172
54505 Vandoeuvre Lès Nancy
michel.schiavon@ensaia.inpl-nancy.fr

Résumé : Deux processus fondamentaux contribuent à la dissipation d'un pesticide appliqué au sol.

La dispersion, qui entraîne le produit et éventuellement ses dérivés hors du point d'application ou du volume de sol dans lequel il est recherché et la dégradation, qui assure la transformation de la molécule initiale d'une manière plus ou moins prononcée et pouvant aller jusqu'à sa minéralisation. La dispersion est assurée par différents modes de transfert (volatilisation, lixiviation-lessivage, entraînement par ruissellement, absorption par la plante), tandis que la dégradation fait intervenir des réactions chimiques ou biochimiques (photolyse, hydrolyse, ...) impliquant l'intervention des micro-organismes du sol. Enfin, le pesticide ou ses produits de transformation peuvent interagir avec les constituants du sol pour former des résidus "non extractibles". Ceux-ci sont alors soustraits au dosage par voie physico-chimique.

Introduction

La dissipation des produits phytosanitaires débute, *a priori*, dès leur application au sol. Deux processus fondamentaux vont contribuer à la disparition de la substance mère à partir du point d'application :

- **la dispersion**, qui va entraîner le produit et éventuellement ses dérivés hors du point d'application ou du volume de sol dans lequel il est recherché,
- **la dégradation**, qui assure la transformation de la molécule initiale d'une manière plus ou moins prononcée, pouvant aller jusqu'à sa minéralisation.

La connaissance de la dynamique de dissipation d'un produit en un point donné est généralement évaluée, de manière indirecte, par le dosage de la matière active présente dans un volume de sol au cours du temps qui suit l'application. Ainsi

apparaissent deux autres processus susceptibles d'affecter la notion de dissipation :

- la disponibilité à l'extraction diminue par la formation de résidus non extractibles,
- les performances analytiques de la méthode utilisée (efficacité de l'extractant, limite de détection).

L'appréciation de la dissipation par la mesure de la persistance ou de la demi-vie, revêt le plus grand intérêt tant du point de vue agronomique qu'environnemental (durée de l'activité biocide attendue, quantité de produit disponible à la dispersion). Elle ne constitue cependant qu'une valeur très approximative et surtout variable en fonction de la méthodologie analytique mise en oeuvre et des conditions de milieu rencontrées. De plus, la mesure de la persistance ne renseigne en rien sur la dynamique et l'intensité de chacun des processus ayant contribué à la dissipation du produit.

Pour préciser l'importance relative de chacun des processus qui affecte la dissipation d'une molécule appliquée au sol, il faut opérer un changement d'échelle et passer de la parcelle, système ouvert où seule la persistance est mesurable, au modèle expérimental plus ou moins complexe. Dans ce cas, l'utilisation de molécules marquées au ^{14}C et une expérimentation menée en conditions partiellement ou totalement contrôlées permettent, non seulement de préciser la notion de persistance, mais également d'évaluer le rôle de l'un ou de chacun des processus mis en jeu. Mais il se pose alors la question d'extrapolation de ces valeurs aux conditions naturelles à l'échelle de la parcelle.

Nous nous proposons ici, d'examiner de manière succincte, les processus et les facteurs intervenant dans la dissipation des produits phytosanitaires appliqués au sol.

Dissipation par dispersion

Lors du traitement, le produit qui parvient au contact du sol est susceptible d'être soumis à des mouvements dont la mise en oeuvre et l'ampleur vont dépendre de l'état du produit (adsorbé, libre, microcristallisé ...), de ses propriétés physiques (tension de vapeur, constante de Henry, solubilité dans l'eau, K_{ow} ...) et des conditions climatiques (température, humidité du sol, mouvements de l'air, pluviosité ...). Ainsi, le produit peut migrer dans la solution du sol par diffusion, passer dans la phase gazeuse du sol ou dans l'air, être entraîné verticalement et/ou latéralement sous l'action des excédents d'eau. Tandis que le mouvement par diffusion contribue à "installer" le produit dans l'espace proche du point traité en vue d'une action biocide optimale, la volatilisation et le transfert par convection ont une action le plus souvent néfaste tant du point de vue agronomique (perte de produit hors de l'espace traité) qu'environnemental (contamination de l'air, de l'eau, de la profondeur du sol et de surfaces non soumises au traitement). La connaissance des mécanismes et de l'action des facteurs qui affectent ces deux

voies de transfert sont donc d'une importance capitale afin de préserver l'efficacité du traitement en même temps que la qualité de l'air, de l'eau ou de l'environnement dans son ensemble.

1. La volatilisation

La volatilisation des pesticides, définie comme un départ de produit à partir de la surface du sol en phase vapeur est un processus dont on a, depuis longtemps, tenté d'évaluer l'importance (Foy, 1964 ; Kearney *et al.*, 1964 ; Burt, 1974). Toutefois, peut être en raison des méthodologies très critiquables employées et des résultats contradictoires obtenus, cette voie de dispersion n'a pas retenu une particulière attention, même si dès 1965, Abbot *et al.* faisaient état d'une contamination des eaux de pluie par le lindane, la dieldrine et le DDT. C'est vraisemblablement la confirmation de ces résultats par des suivis ultérieurs, dont Bidleman (1999) donne un bref aperçu, qui a conduit au développement des recherches sur ce thème. Trois voies de recherche ont simultanément progressé : la méthodologie d'étude, l'évaluation du phénomène y compris sous conditions "naturelles" et la connaissance des mécanismes élémentaires et des facteurs mis en jeu.

L'évaluation du phénomène de volatilisation était le plus souvent réalisé de manière indirecte par dosage des résidus après dépose du produit sur un support de nature variée (métal, verre, sol ...) (Foy, 1964 ; Kearney *et al.*, 1964). L'évolution de la recherche a conduit à des modèles expérimentaux permettant l'étude du rôle des phénomènes élémentaires qui interviennent (adsorption/désorption, fugacité, partage sol-eau-air, diffusion moléculaire, convection, ...) et des facteurs qui les affectent (tension de vapeur, constante de Henry, propriétés adsorbantes du sol, état d'humidité, température, circulation de l'air ...) (Jaunky, 2000), ainsi qu'à des mesures de la volatilisation dans des conditions "naturelles" qui intègrent l'action de l'ensemble de ces paramètres (Glotfelty *et al.*, 1984 ; Cooper *et al.*, 1990).

Sur la base des quelques travaux déjà menés sur ce thème de recherche, on soulignera :

- que pour certains produits, la volatilisation peut constituer une voie importante de dissipation (tableau 1 et 2) en particulier sur sols humides, sous l'influence de l'évaporation de l'eau,
- que la modélisation du mécanisme est complexe et n'est pour l'instant que rudimentaire,
- que l'essentiel des travaux porte sur des produits à forte tension de vapeur (même si cette caractéristique n'est pas le facteur nécessairement dominant dans la volatilisation).

Produit et mode d'application	Quantité volatilisée (%)	Temps écoulé
Trifluraline (tension de vapeur : $1,1 \cdot 10^{-4}$ mmHg à 25 °C)		
Incorporation dans 0-2,5 cm	22	120 jours
Incorporation dans 0-7,5 cm	3,4	90 jours
Surface sol sec	2-25	50 heures
Surface sol humide	50	3-7,5 heures
Lindane (tension de vapeur : $6,3 \cdot 10^{-5}$ mmHg à 25 °C)		
Surface sol sec	12	50 heures
Surface sol humide	50	6 heures
	90	6 jours
Chlordane (tension de vapeur : $1 \cdot 10^{-5}$ mmHg à 25 °C)		
Surface sol sec	2	50 heures
Surface sol humide	50	2,5 jours
DCPA (tension de vapeur : $2,5 \cdot 10^{-5}$ mmHg à 25 °C)		
Surface sol humide	2	34 heures

Tableau n° 1 : Volatilisation de différents pesticides en fonction du temps et dans différentes situations expérimentales (d'après Glotfelty et al., 1984)

EPTC	kg ha ⁻¹	% du total appliqué
Dose appliquée	3,04	100
Pertes dans les eaux de ruissellement	0,21	7
Volatilisation à partir de l'eau	0,86	28
Volatilisation à partir du sol humide	1,38	45
Total volatilisé	2,24	73

Tableau n° 2 : Quantités d'EPTC dans les eaux de ruissellement et volatilisées à partir de l'eau et du sol humide lors d'une application par irrigation par submersion d'une luzerne (d'après Cliath et al., 1980).

Dans la mesure où les produits retrouvés dans l'air ou dans les précipitations ne sont pas nécessairement ceux manifestant une forte volatilité (Chevreuil *et al.*, 1993 et 1996), on peut s'interroger sur le rôle de la volatilisation dans la contamination de l'atmosphère. Ainsi, la participation à la contamination de l'air des dérivés observés lors des traitements et de l'érosion éolienne des sols secs traités doit être élucidée et évaluée.

2. Transfert sous l'action des mouvements de l'eau

Même si le mouvement des particules de sol peut assurer le transfert de pesticides, l'eau constitue le principal vecteur du transport.

Le mouvement de l'eau s'effectue de manière différente suivant qu'il a lieu dans la zone de sol saturée ou non saturée en eau. Dans la zone non saturée du sol, l'eau et les solutés s'écoulent verticalement (lixiviation et lessivage), alors que le mouvement est latéral dans la zone saturée (nappe, surface d'un sol engorgé ou non perméable).

- Lessivage-lixiviation

Selon la perméabilité du sol, la vitesse d'écoulement va être plus ou moins élevée, mais la densité de flux, liée à la perte de charge totale (gradient hydraulique) va également varier avec la teneur en eau du sol. En milieu homogène du point de vue hydrodynamique, les écoulements en milieu non saturé sont décrits par la loi de Richards. La microporosité de l'espace intra-agrégat est généralement considérée comme homogène et le flux est alors qualifié de matriciel. Mais la majorité des sols ne sont pas assimilables à des milieux homogènes et l'espace inter-agrégats, constitué de macropores (fissures biopores,...) est le siège d'un autre type de transport : le flux préférentiel, mis en évidence depuis plus de 100 ans (Lawes *et al.*, 1882) mais longtemps négligé dans les études de modélisation et les expérimentations de laboratoire (Jury et Flüher, 1992).

Le flux préférentiel désigne le passage de l'eau dans le milieu poreux à travers des chemins privilégiés et peut induire un transport rapide des solutés. Dans ces conditions, les processus d'adsorption, de diffusion et de dégradation, n'ont pas le temps d'intervenir, du moins de manière significative.

Dans ces conditions, les produits phytosanitaires peuvent atteindre rapidement les couches profondes du sol pauvres en matière organique et en micro-organismes où l'adsorption et la dégradation sont réduites (Miller *et al.*, 1997). Dans la mesure où le sol n'assure plus son rôle de filtre, les risques de contamination des nappes sont alors élevés (Aderhold et Nordmeyer, 1995).

L'équation de Richards n'est pas adaptée pour décrire l'écoulement de l'eau et d'autres concepts doivent être utilisés.

Le sol peut être considéré comme un milieu poreux comportant deux continuums d'eau distincts mais connectés entre eux (figure 1) (Jarvis *et al.*, 1991 ; Gerke et van Genuchten, 1993) : l'un où l'eau est mobile et l'autre où l'eau est immobile (Addiscot, 1984 ; Tillmann *et al.*, 1991). Dans des conditions de flux non saturés, la teneur en eau immobile a été évaluée à 25-40 % de la teneur en eau totale du sol (Nielsen et Biggar, 1961 ; Gaudet *et al.*, 1977 ; Lennartz et Meyer-Windel, 1995).

Le mouvement des solutés dans l'eau immobile s'effectuerait exclusivement par diffusion. Les interactions entre les deux domaines se font par diffusion. Le domaine de "l'eau immobile" peut ainsi constituer une source ou un puits de solutés vis à vis de l'eau mobile. Mais dans certains cas, l'eau immobile peut se révéler inaccessible à l'eau mobile. Les teneurs en solutés de l'eau mobile ne seront alors pas modifiées au cours de leur transfert car la diffusion entre les deux domaines ne peut intervenir (figure 2).

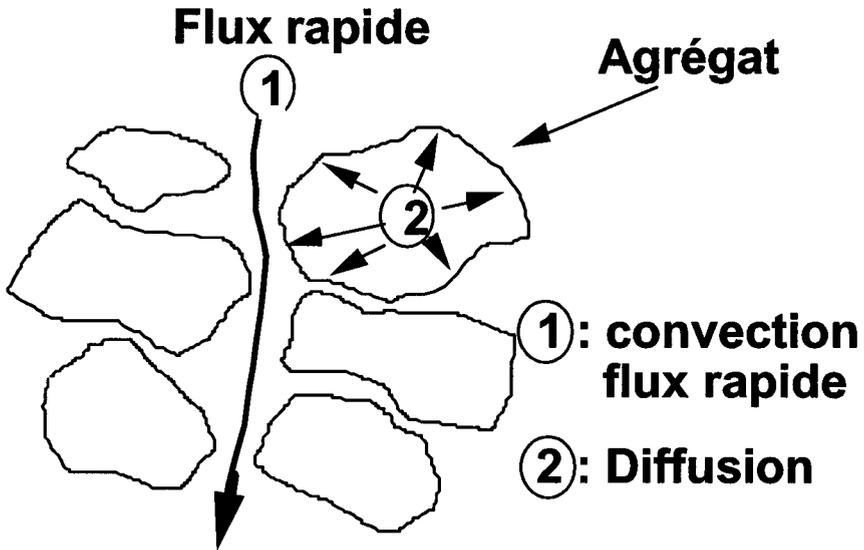


Fig. n° 1 : Schéma du mouvement des solutés dans un sol structuré proche de la saturation, selon le concept d'eau mobile-immobile (la flèche 1 représente le flux rapide de l'eau dans la macroporosité et la flèche 2, la diffusion lente des solutés vers l'extérieur de l'agrégat), d'après Green et Khan (1987).

A partir de ces concepts établis à l'aide d'expériences de laboratoire, la difficulté réside dans l'évaluation du transport qui résulte d'une interaction de processus au niveau de la parcelle.

Sur la base de ces observations concernant les mouvements de l'eau, on perçoit que deux facteurs sont primordiaux dans le déterminisme du transfert d'un pesticide : la pluviométrie et les caractéristiques structurales du sol.

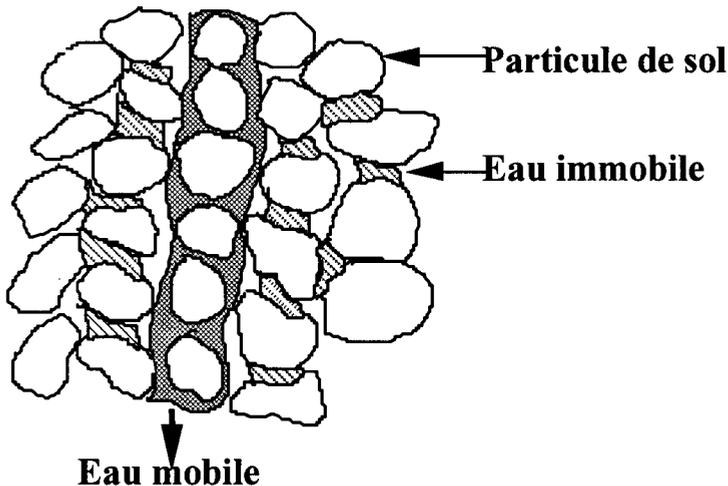


Fig. n° 2 : Accessibilité de l'eau immobile en conditions de flux non saturé dans un sol sableux homogène (d'après Lennartz et Meyer-Windel, 1995)

La pluviométrie doit être considérée sous différents aspects, à la fois dans son intensité et dans sa distribution dans le temps. La pluie non efficace par rapport à la mise en place de mouvements gravitaires favorisera la diffusion, notamment vers le compartiment "d'eau immobile". Une part du produit sera alors soustraite au mouvement par convection. Ainsi, l'effet d'une pluie intense dépendra de son positionnement par rapport à d'autres événements pluvieux modérés.

Par ailleurs, la structure du sol détermine la taille du compartiment "eau immobile". Lorsqu'on envisage le mouvement d'un pesticide, on doit prendre en compte le fait que la taille de ce compartiment est influencée par des facteurs édaphiques, mais aussi par les pratiques culturales. De plus, elle est en constante évolution. Ce dernier aspect semble particulièrement important, car au cours du temps, cette évolution tend à conférer au sol une porosité plus fine et plus homogène. Cela a pour conséquence de réduire le flux préférentiel et d'accroître le mouvement matriciel. Ceci pourrait expliquer en partie, les résultats obtenus sur sols drainés, où plus le délai séparant le traitement de la première pluie efficace au drainage est long, moins les quantités de résidus exportées sont fortes (Southwick *et al.*, 1990 ; Lafrance *et al.*, 1997 ; Novak *et al.*, 1998).

- Le ruissellement

Lorsque l'intensité de la pluie est supérieure à la capacité d'infiltration, ou bien lorsque la capacité du sol à stocker l'eau est dépassée, il y a ruissellement d'eau à sa surface. A ce ruissellement de surface il faut ajouter le ruissellement hypodermique qui se produit lorsque la conductivité latérale est plus importante que la conductivité verticale. Ce ruissellement est souvent associé à une pente et favorisé par un changement de porosité entre la couche de labour et l'horizon B

sous-jacent. Dans bien de situations ces différents types de ruissellement coexistent.

Le ruissellement peut affecter une grande diversité de sols, toutefois il est peu probable sur sols bien structurés reposant sur une roche mère filtrante (ex : rendzines sur calcaire karstique). Sa mise en place va dépendre de relations entre les conditions climatiques (pluviosité, gel-dégel) et les propriétés structurales du sol.

Après un travail du sol, la couche de labour présente une structure fragmentaire favorable à l'infiltration (30-60 mm h⁻¹). Sous l'action de la pluie (ou du gel), les agrégats se désagrègent et les éléments constitutifs se repositionnent, le sol s'affaisse avec perte de la macroporosité. En surface, sous l'action de la pluie, les particules isolées conduisent au colmatage de la porosité de surface. La réorganisation des particules sur place ou après transport peut conduire à la formation d'une "croûte de battance" qui réduit considérablement la capacité d'infiltration de l'eau (Boiffin *et al.*, 1986).

La mise en place du ruissellement, s'accompagne le plus souvent d'un phénomène d'érosion du sol. Le détachement des particules est le résultat de la désagrégation par la pluie ou le par les forces de cisaillement du ruissellement. Les formes prises par l'érosion vont varier suivant l'organisation de l'eau à la surface du sol et l'énergie qu'elle acquiert (Mosimann *et al.*, 1991). On distingue l'érosion diffuse où le mélange eau-sédiment s'écoule comme une nappe et l'érosion linéaire, résultant de la concentration de l'eau, à l'origine de la formation de rigoles et ravines, voire de fossés. Plusieurs tonnes de terre peuvent ainsi être transportées hors de la parcelle. L'importance du phénomène varie selon la pluie (intensité, durée), le sol (état de surface, stabilité structurale, état d'humidité lié aux précipitations antérieures), la pente, la surface de la parcelle et le couvert végétal.

Dans ce contexte le transport des pesticides par ruissellement peut se faire soit à l'état soluble, soit sous forme adsorbée aux particules de sol érodées. Si les pesticides mobilisés à partir des surfaces des végétaux traités parviennent dans les eaux de ruissellement sous forme soluble, par contre la mobilisation de ceux présents à la surface du sol suppose la mise en oeuvre de différents mécanismes (Ahuja et Lehman, 1983 ; Ahuja, 1986) : la désorption, la diffusion et la turbulence (qui favorise les échanges entre la solution du sol et l'eau mobile), la dissolution et l'érosion. L'épaisseur de sol affectée par la mise en oeuvre de ces mécanismes varie en fonction des caractéristiques du ruissellement (Lecomte, 1999).

Ainsi, les quantités de pesticide transférées dépendent de divers facteurs relatifs aux propriétés physico-chimiques des produits et du sol (Kow, Kd, Kfd, ...), mais également de la manière dont se développe le ruissellement (Klöppel *et al.*, 1994), elle-même dépendante des propriétés physiques du sol, du travail du sol, des caractéristiques de la pluviométrie et du couvert végétal. La plupart de ces paramètres sont évolutifs. Il est difficile de cerner à tout instant leurs interactions et

les dosages de résidus dans l'eau sous conditions naturelles, à l'échelle de la parcelle n'en donnent que la résultante.

De l'analyse d'un certain nombre de résultats (Schiavon *et al.*, 1995), deux observations apparaissent comme intéressantes du point de vue de la protection de la qualité de l'eau de surface : la première pluie donnant lieu au ruissellement peut exporter jusqu'à 90 % des exportations totales consécutives à un traitement, mais son efficacité décroît lorsque le délai entre le traitement et son intervention augmente. Ceci suppose qu'on peut réduire les transferts par ruissellement par un meilleur positionnement du traitement par rapport aux précipitations.

Par contre, améliorer la stabilité structurale du sol et le maintien de sa porosité, reviendrait à favoriser les transferts verticaux et à déplacer le problème de la pollution de l'eau. Il reste cependant à savoir si un bénéfice en terme de niveau de pollution de l'eau n'est pas envisageable.

Dissipation par transformation de la matière active

Lors du traitement, une partie du produit entre en contact avec la surface des constituants du sol, tandis qu'une autre partie peut rester dans la solution du sol. En fonction de cette répartition, de la nature des surfaces mises en jeu, de l'activité biologique et des propriétés physico-chimiques, diverses réactions chimiques et/ou biochimiques peuvent intervenir et conduire à la transformation, voire à la minéralisation du pesticide.

1. La dégradation abiotique

Ce type de dégradation, d'origine chimique et/ou photochimique est le plus souvent considéré comme mineur (Beestman et Deming, 1974). Cependant, nombreuses sont les revues bibliographiques soulignant l'importance de ces voies de dégradation et des travaux réalisés en ce domaine (Fusi, 1991 ; Ristori et Fusi, 1995).

La dégradation abiotique peut intervenir dans la solution du sol (Calvet, 1980), où l'hydrolyse acide ou basique est la réaction la plus fréquente. Mais il est démontré que les processus réactionnels sont généralement catalysés au niveau des surfaces des constituants du sol : argiles, matières organiques et oxydes métalliques (Senesi, 1993 ; Wolfe, 1990).

Le rôle des acides humiques dans la transformation abiotique des pesticides est moins étudié que celui des argiles. Toutefois, concernant l'atrazine par exemple, il a été démontré que l'hydrolyse augmente avec la teneur en acides humiques ou fulviques présents dans le milieu (Armstrong, 1968 ; Chester, 1989 ; Muir, 1991) alors que pour la furanone, ceux-ci pourraient jouer un rôle protecteur (Mietinnen *et al.*, 1993).

Pour les argiles, l'intervention ou non de la catalyse dans la dégradation d'une molécule dépend de leur nature minéralogique, tandis que la nature des produits formés peut varier, pour une argile donnée, en fonction de la nature du cation ou du métal de transition impliqué dans l'adsorption.

De l'examen des données de la littérature, on ne peut pas dégager de règle générale, ni pour ce qui concerne le comportement d'une famille de produits donnés à l'égard des argiles ou des matières organiques, ni pour ce qui concerne les interactions de ces constituants à l'égard d'un produit d'une famille chimique donnée.

Au delà de cette observation, on remarquera que la mise en évidence de la dégradation abiotique fait appel à des modèles expérimentaux simples et à des conditions de milieu particulières. Dans ce contexte, quelle peut être la signification de ces réactions dans le sol, et comment les différencier des réactions biologiques sans modifier les propriétés physico-chimiques du milieu d'étude par la mise en oeuvre de la stérilisation ?

Encore moins évident est le rôle joué par la photodégradation dans la dissipation des produits au niveau du sol. Même si certains chercheurs lui attribuent une action significative (Somasundaram et Coats, 1990 ; Chesters *et al.*, 1989), d'autres indiquent que cette dégradation ne concerne qu'une faible part de la matière active (Parochetti, 1978) Ainsi, les acides humiques pourraient intervenir, soit comme des photosensibilisateurs qui accélèrent, voire même induisent la photodégradation (Graham-Bryce, 1981), soit comme des inhibiteurs (Senesi, 1993).

Nous avons là un domaine de recherche qui doit progresser car ce type de dégradation interfère nécessairement avec les transformations biologiques. En vue de l'élimination totale de la matière active, les micro-organismes sont confrontés à la minéralisation de nouvelles molécules, souvent plus stables que la molécule mère (Welther-Sandor, 1994).

En définitive, du point de vue environnemental, si le relais par la biodégradation n'est pas assuré, la dégradation abiotique ne contribue le plus souvent, qu'à la perte du pouvoir biocide spécifique de la matière active et à la diversification de la pollution du milieu.

2. La dégradation biologique

La biodégradation des pesticides dans le sol est le fait de micro-organismes de toutes sortes (actinomycètes, bactéries, champignons). En raison des structures chimiques de ces molécules de synthèse, inconnues par les micro-organismes, la biodégradation repose essentiellement sur l'intervention d'enzymes à faible spécificité qui sont détournées par rapport à leur substrat naturel (métabolisme "fortuit", métabolisme "gratuit"). Dans ce cadre, la transformation plus ou moins prononcée du pesticide, suppose l'intervention successive de diverses souches,

chacune apportant une contribution partielle avec pour conséquence une accumulation plus ou moins temporaire de produits de transformation, chacun étant susceptible d'être à son tour transformé par une nouvelle souche. Cette dégradation est découplée du phénomène de croissance de ces espèces dégradantes et leur maintien dans le milieu présuppose la présence d'une source d'énergie et de carbone appelée : co-substrat. La matière organique du sol pourvoit naturellement à ces besoins nutritifs, mais le processus, généralement lent, peut être accéléré par des apports organiques particuliers (Deuet *et al.*, 1995 ; Soulas, 1999).

Toutefois, certains micro-organismes ont la faculté d'utiliser le pesticide comme source d'énergie et de carbone. Cette voie de dégradation, connue depuis longtemps pour les herbicides à activité hormonale (Audus, 1949), est généralement rapide et complète, mais ne concerne qu'un nombre limité de pesticides ; c'est le cas par exemple des thiocarbamates (Bean *et al.*, 1988 ; Tal *et al.* 1989). Elle est assurée par des souches microbiennes qui s'adaptent rapidement et dont la taille augmente dans le milieu (Soulas, 1991).

Dégradation par métabolisme et co-métabolisme peuvent coexister. Ceci a été démontré pour le 2,4-D, pour lequel deux groupes microbiens interviennent successivement (Soulas, 1993). Cette diversité physiologique traduit la diversité des espèces microbiennes du sol impliquées.

Pour certains pesticides, on a pu observer au cours du temps une adaptation à leur dégradation. Ces nouvelles capacités métaboliques qui apparaissent et se développent suppose que l'information génétique est portée par des éléments génétiques mobiles et échangeables : les plasmides. Cet échange entre différentes souches appartenant à des espèces ou même à des genres bactériens différents permet une large dissémination du matériel génétique au sein de la population bactérienne du sol. Ce remodelage du génome des micro-organismes peut ainsi faire apparaître chez certaines espèces des combinaisons génétiques favorables, susceptibles d'assurer les relais enzymatiques nécessaires à la biodégradation (Rousseaux, 2001). Ces échanges peuvent contribuer à l'émergence de souches "hybrides", rassemblant l'ensemble des gènes nécessaires à la minéralisation du pesticide.

L'implication des micro-organismes dans la dégradation des pesticides a pour conséquences que tout facteur influant sur leur diversité et leur activité modifiera le résultat de leur action tant sur le plan qualitatif (diversité des produits formés) que quantitatif (cinétique de dégradation).

Pour mieux comprendre et évaluer le rôle possible de la biodégradation dans la dissipation des pesticides, au delà d'un nécessaire effort dans l'étude du déterminisme génétique de la capacité des micro-organismes à dégrader un pesticide, il s'avère indispensable de poursuivre les travaux qui visent à préciser les conséquences résultant de l'interaction de différents facteurs évolutifs relatifs aux conditions édaphiques, climatiques et nutritionnelles, en relation avec les pratiques culturales et l'hétérogénéité des sols.

Dosage des résidus et dissipation par formation de résidus non extractibles

La notion de dissipation et le suivi de sa dynamique est tributaire, outre de l'échantillonnage, des capacités analytiques qui englobent les notions de performance à l'extraction et de limite de détection. L'une est liée à la technique analytique mise en oeuvre et l'autre au choix d'un solvant et d'une méthodologie appropriés.

Toutefois, par l'utilisation de pesticides marqués au ^{14}C , dès les années 1970, il a été mis en évidence qu'une part de la radioactivité portée par le xénobiotique devenait progressivement non extractible. Naissait alors la notion de "résidus liés", définis en 1975 par l'U.S. Environmental Protection Agency de la manière suivante : "Résidus de pesticides non extractibles par les solvants organiques, non identifiables chimiquement et qui restent dans le sol, après extraction exhaustive, au sein des fractions : acides fulviques, acides humiques et humine".

A l'heure actuelle, les chercheurs se sont accordés pour substituer à l'expression "résidus liés" celle de "résidus non extractibles" qui englobe les résidus de produits xénobiotiques véritablement liés aux constituants du sol par des liaisons stables et ceux que l'on peut supposer être retenus par des liaisons réversibles de faible énergie, mais qui, emprisonnés dans la matrice du sol, sont devenus non accessibles aux solvants d'extraction. Ainsi, il faut noter que les résultats de leur évaluation peuvent varier suivant la procédure d'extraction adoptée.

Les travaux menés avec des produits de nature chimique diverses tendent à montrer que ce phénomène intéresse toutes les familles chimiques et plus généralement, tous les produits phytosanitaires (Khan et Hamilton, 1980 ; Capriel *et al.*, 1985 ; Schiavon *et al.*, 1990 ; Winkelman et Klaine, 1991). L'ampleur du phénomène dépend de la réactivité chimique de la matière active et de ses produits de transformation. Ainsi, les anilines et les phénols conduisent à la formation de quantités importantes de résidus liés, tandis que pour les organochlorés, l'aptitude à former des résidus liés est faible et décroît avec le nombre de chlores portés par la molécule (Scheunert *et al.*, 1985, 1991).

La formation de résidus non extractibles intervient très rapidement après application des produits au sol. Cependant, l'intensité du phénomène et sa dynamique dépendent de divers facteurs biologiques ou abiotiques : concentration en pesticide dans le milieu, température d'incubation, temps de contact pesticide-sol, activité biologique, teneur en matière organique du sol et conditions d'incubation [laboratoire ou plein champ] (Schiavon *et al.*, 1990).

La formation de résidus non extractibles dépend certes de l'activité biologique, mais des processus physico-chimiques sont également impliqués. Ainsi, des résidus liés de monolinuron ou d'amitrole peuvent être obtenus en quantité importante par incubation avec un sol stérile (Ebing et Schuphan, 1979 ; Schuphan *et al.*, 1987 ; Dakhel, 2001).

L'extraction de la matière organique par des réactifs alcalins, après épuisement du sol en résidus libres, montre qu'une part importante de la radioactivité portée par le pesticide se trouve associée à cette fraction. Elle se distribue entre les acides fulviques et humiques, mais une part non négligeable demeure associée à l'humine (Schiavon *et al.*, 1978). A ce sujet, les résultats présentés dans la littérature paraissent quelque peu contradictoires. En effet, pour certains auteurs ce sont les acides fulviques qui jouent le rôle essentiel dans la formation de résidus non extractibles, pour d'autres ce sont les acides humiques ou l'humine. En fait, ces divergences ne sont pas nécessairement réelles car les résultats portent sur des molécules xénobiotiques différentes et, par ailleurs, les mesures ne sont pas réalisées dans les mêmes conditions. Enfin, l'extraction alcaline de la matière organique, puis son fractionnement à pH acide, offrent des conditions favorables aux réactions d'hydrolyse, d'oxydation et de condensation susceptibles de perturber la répartition initiale des résidus non extractibles présents dans le sol (Schiavon *et al.*, 1978; Khan, 1980). Toutefois, différents travaux ont montré que le pourcentage de résidus non extractibles associés à chacune des fractions de la matière organique évolue rapidement. Au cours du temps, on observe une diminution du pourcentage de résidus fixés sur les acides fulviques au profit de fractions plus humifiées (Schiavon *et al.*, 1978).

Si la plupart des travaux met en évidence le rôle majeur de la matière organique dans la formation de résidus non extractibles, d'autres ont montré que la fraction minérale peut également participer à ce processus. En effet, certains chercheurs émettent l'hypothèse d'une migration des pesticides dans les espaces interlamellaires des argiles gonflantes (Capriel *et al.*, 1985).

Une autre manière de considérer la distribution des pesticides dans le sol réside dans l'examen de leur distribution dans les différents compartiments granulométriques. Les résultats disponibles actuellement montrent, pour l'atrazine, que l'essentiel des résidus liés est associé aux fractions granulométriques inférieures à 50 μm ; fraction renfermant également la matière organique humifiée. Mais si la fraction 2-20 μm est la plus riche en résidus liés, on observe également qu'une part est associée aux fractions grossières du sol, supérieures à 50 μm , et plus particulièrement riche en matière organique non humifiée (Barriuso *et al.*, 1991).

Dans une nouvelle définition, publiée en 1984, l'International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) considère que doivent être exclus de la fraction "résidus non extractibles" les fragments de molécule pesticide recyclés par des voies métaboliques et conduisant à des produits naturels. Dans ces conditions, l'évaluation de la radioactivité non extractible ne rend pas compte de l'importance de ces résidus ; elle indique simplement une limite maximale possible. Il est donc nécessaire d'identifier la part de cette radioactivité qui revient à la molécule mère et/ou à ses métabolites par rapport à la radioactivité mesurée. Deux approches sont possibles : soit la libération de ces résidus et leur identification (Khan, 1981 ; Andrea, 1994), soit l'utilisation de modèles de synthèse de composés humiques où la réaction a lieu en présence du pesticide (Mathur et Morley, 1978).

La synthèse de modèles humiques en présence du pesticide ou de ses métabolites, permet d'examiner en conditions abiotiques, les possibilités d'incorporation des résidus en fonction de leur nature chimique. Grâce à cette approche, il a été possible de montrer que l'atrazine pouvait se lier d'une manière stable aux macromolécules humiques, mais le taux de formation de résidus liés est bien plus important pour ses métabolites chlorés alors qu'il est très discret avec l'hydroxyatrazine (Andreux *et al.*, 1992). Ainsi, il semblerait que certains produits se lient aux constituants du sol de manière irréversible sans aucune transformation préalable, alors que d'autres doivent subir une dégradation qui les conduit à une forme plus réactive.

Les résidus liés contractent avec le complexe organo-minéral des liaisons dont la nature exacte reste hypothétique. Le fait que les résidus non extractibles résistent aux extractions par des solvants organiques ou par échanges d'ions, mais soient sensibles aux hydrolyses acides et alcalines, suggère à certains chercheurs l'existence d'une liaison de covalence. Pour d'autres, par contre, ces résidus ne seraient que très fortement adsorbés, dans la mesure où les hydrolyses acide ou alcaline conduisent à la libération de résidus significativement différents (Saxena et Bartha, 1983).

Une autre hypothèse est également avancée. Ces résidus pourraient être, du moins pour partie, emprisonnés au sein du réseau tridimensionnel des macromolécules humiques. Ceci expliquerait les fortes libérations de résidus non extractibles induites simplement par des alternances de dessiccations et d'humectations qui sont à l'origine de réarrangements de la matière organique humifiée du sol (Schiavon *et al.*, 1990).

En fait, l'analyse de l'ensemble des travaux permet de penser que la formation de résidus non extractibles semble dépendre de processus différents suivant les espèces chimiques mises en jeu et les conditions de milieu. En effet, au sein de la fraction "résidus non extractibles" coexistent une partie stabilisée et une partie susceptible d'être libérée par l'intervention de phénomènes physiques ou biologiques (Schiavon *et al.*, 1990).

L'existence d'une possibilité de libération des résidus non extractibles constitue une préoccupation essentielle, tant du point de vue agronomique (arrière effet sur des cultures sensibles, effet sur la fertilité des sols) qu'écologique (lessivage et pollution des eaux souterraines).

Cette possibilité de libération a été mise en évidence avec la prométryne. Après 22 jours d'incubation d'un sol à résidus non extractibles, 27% de la radioactivité liée est recouvrée, dont la moitié est identifiée comme étant la molécule mère (Khan, 1981).

Il semble donc, que les micro-organismes soient susceptibles de rompre les liaisons établies entre l'herbicide et les constituants du sol.

L'activité microbienne ne constitue pas le seul facteur pouvant aboutir à la libération des résidus non extractibles. Des modifications de la structure physique du sol, à la suite d'une dessiccation, peuvent également entraîner une libération importante de résidus non extractibles (Schiavon *et al.*, 1990 ; Novak *et al.*, 1998).

Ainsi un grand nombre de facteurs paraît pouvoir intervenir sur la libération des résidus non extractibles. Un travail considérable reste à faire pour les préciser et apprécier leur rôle respectif, probablement variable en fonction du produit phytosanitaire considéré.

Même si dans la quantification de ces résidus subsiste une part relevant de l'artefact dû à des techniques d'extraction et de fractionnement non adaptées, on peut supposer que la majeure partie des produits regroupés sous l'expression "résidus non extractibles" a contracté des liaisons suffisamment fortes pour entraîner une immobilisation plus ou moins réversible au sein de l'écosystème sol.

A l'heure actuelle, nos connaissances bien qu'importantes sont fragmentaires. Pour quelques produits, nous disposons surtout d'informations portant sur leur dynamique de formation, alors que les aspects : nature, disponibilité et conséquences pour l'environnement sont bien moins clairs. Il convient donc de poursuivre les recherches pour comprendre les mécanismes de formation, de libération et préciser les facteurs biologiques, chimiques et physiques qui les conditionnent. Enfin, il faut souligner que tout reste à faire pour préciser leurs significations sur le plan écotoxicologique sous conditions naturelles.

Dissipation et prélèvement par les plantes

On peut considérer que les herbicides prélevés par les adventices retournent rapidement au sol, à l'état plus ou moins transformés, lors de la mort de celles-ci. Lorsqu'il s'agit des autres pesticides et des plantes cultivées, peu de travaux ont été entrepris en vue de quantifier le passage du pesticide du sol à la plante par voie racinaire. En conditions de terrain, le dosage de résidus dans les plantules de maïs et dans le sol montre que l'absorption réalisée par la culture est de l'ordre de 10 % de la dose appliquée (Tasli, 1995). A partir des résidus présents dans la solution du sol, la plante serait capable d'exercer un effet de concentration considérable, pouvant aller jusqu'à 12 fois la teneur en atrazine dans le milieu (Raveton *et al.*, 1997).

Des essais conduits à l'aide de modèles expérimentaux indiquent généralement des absorptions plus faibles. Ainsi, sur lysimètres de 62 cm de diamètre et 1 m de profondeur, Schroll *et al.* (1992) observent un prélèvement par le maïs, au cours de son cycle végétatif, de seulement 0,41 % de la terbuthylazine appliquée. Lee *et al.* (1996) retrouvent 1,5 à 2,2 % de la bentazone appliquée dans la paille de riz et 0,012 % dans le grain au cours de l'année qui suit le traitement. En absence d'un nouvel apport, ces quantités chutent considérablement lors des cultures suivantes.

Les résultats présentés dans la littérature tendent à montrer que le prélèvement par la plante est conditionné par la disponibilité des résidus (concentration dans le sol et positionnement par rapport aux racines), par la solubilité dans l'eau et les constituants lipidiques racinaires (Kow) et par les paramètres qui définissent l'activité biologique de la plante (capacité d'absorption, température et humidité) (Scheunert et Parlar, 1992 ; Schroll *et al.* 1992). Enfin, certains travaux montrent que les résidus liés peuvent contribuer à l'alimentation en pesticides de la plante (Kloskowski *et al.*, 1992 ; Dec *et al.*, 1997).

Conclusion

Différentes voies, régulées par une grande diversité de facteurs, sont impliquées dans la dissipation d'un pesticide appliqué au sol. Elles peuvent intervenir de manière indépendante, mais agissent le plus souvent de manière simultanée. Dans ces conditions, la dissipation représente un phénomène extrêmement complexe, difficile à cerner, à modéliser et à généraliser.

Références

- Abbot DC, R.B. Harrison, O.G. Tatton, 1965. Organochlorine pesticides in the atmospheric environment. *Nature*, 208, 1317-1318
- Addiscot T.M., 1984. Modelling the interaction between solute leaching in soils : a review of modelling approaches. *J. Soil Sci.*, 36, 411-424
- Aderhold D., H. Nordmeyer, 1995. Leaching of herbicides in soil macropores as a possible reason for groundwater contamination. *In* : BCPC Monograph n° 62 : Pesticide Movement to Water, Warwick UK, 3-5 april 1995, 217-222
- Ahuja, L.R., 1986. Characterization and modeling of chemical transfer to runoff *Adv. Soil Science*, 4, 149-188
- Ahuja, L.R., O.R. Lehman, 1983. The extend and nature of rainfall-soil interaction in the release of solubles chemicals to runoff. *J. Environ. Qual.*, 12, 34-40
- Andrea M.M., R.Y. Tomita, L.C. Luchini, M.R. Musimeci, 1994. Laboratory studies on volatilisation and mineralization of 14C-p-p'DDT in soil, release of bound residues and dissipation from solid surfaces. *J. Environ. Sci. Health*, B29, 133-139
- Andreux F., J-M. Portal, M. Schiavon, G. Bertin, 1992. The binding of atrazine and its dealkylated derivatives to humic-like polymers derived from catechol. *Science of the Total Environment*, 117/118, 207-217
- Armstrong D.E., 1968. Adsorption catalyzed chemical hydrolysis of atrazine. *Environmental Science and Technology*, 2, 683-688
- Audus L.J., 1949. The biological detoxication of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in soils. *Plant and Soil*, 2, 31-36.
- Barriuso E., M. Schiavon, F. Andreux, J-M. Portal, 1991. Localization of atrazine non-extractable (bound) residues in soil size fractions. *Chemosphere*, 22, 1131-1140

- Bean B.W., F.W. Roeth, A.R. Martin, R.G. Wilson, 1988. Influence of prior pesticide treatments on EPTC and butylate degradation? *Weed Sci.*, 36, 70-77
- Beestman G.B., J.M. Deming, 1974. Dissipation of acetanilide herbicides from soils. *Agronomy J.*, 66, 308-311
- Bidleman TF, 1999. Atmospheric transport and air-surface exchange of pesticides. *Water, Air and Soil Pollution*. 115, 115-166
- Boiffin J., F. Papy, Y. Peyre, 1986. Système de production, système de culture et risque d'érosion dans le Pays de Caux, Ministère de l'Agriculture, DIAME, INA-PG, INRA, 157 p.
- Burt G.W., 1974. Volatility of atrazine from plant, soil and glass surfaces. *J. Environ. Qual.* 2, 114-117
- Calvet R., M. Terce, J.C. Arvieu, 1980. Adsorption des pesticides par les sols et leurs constituants. I.- Description du phénomène d'adsorption. *Annales Agronomiques*, 31, 33-62
- Capriel P., A. Haisch, S.U. Khan, 1985. Distribution and nature of bound (nonextractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after the herbicide application. *J. Agric. Food Chem.*, 33,567-569
- Chester G., G.V. Simsiman, J. Levy, B.J. Alhajjar, R.N. Fathulla, J.M. Harkin, 1989. Environmental fate of alachlor and metolachlor. *In : Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Springer-Verlag New York Inc., 110, 1-74
- Chevreuil M, M Garmouma, 1993. Occurrence of triazines in the atmospheric fallout on the catchment basin of the river Marne (France). *Chemosphere* 27, 1605-1608
- Chevreuil M, M Garmouma, M.J. Teil, A Chesterikoff, 1996. Occurrence of organochlorines (PCBs, pesticides) and herbicides (triazines, phenylureas) in the atmosphere and in the fallout from urban and rural stations of the Paris area. *The Science of the Total Environment* 182, 25-37
- Cliath M.M., W.F. Spencer, W.J. Farmer, T.D. Shoup, R. Grover, 1980. Volatilization of s-ethyl n,n-dipropylthiocarbamate from water and wet soil during and after flood irrigation of an alfalfa field. *J. Agric. Food Chem.* 28, 610-613
- Cooper J.R., J.J. Jenkins, A.S. Curtis, 1990. Pendimethalin volatility following application to turfgrass. *J. Environ. Qual.* 19, 508-513
- Dakhel N., 2001. Effet des paramètres pédo-climatiques sur les mécanismes responsables de la dissipation de l'amitrole dans les sols : adsorption, dégradation et stabilisation des résidus. Thèse de l'INA Paris-Grignon, 157 p.
- Dec J., Haider K., Rangaswamy V., Schäffer A., Fernandes E., Bollag J-M., 1997 - Formation of soil-bound residues of cyprodinil and their plant uptake. *J. Agric. Food Chem.*, (45), 514-520
- Deuet S., H. C. Dubourguier, P. Wijffels, 1995. Successful land farming bioremediation of soils highly contaminated by coal tar residues. Abstract 5th International KfK/TNO Conf. Cont. Soils, Maastricht, The Netherlands
- Ebing W., I. Schuphan, 1979. Studies on the behavior of environmental chemicals in plants and soil quantitatively investigated in closed cultivating systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 3, 133-143
- Foy C.L., 1964. Volatility and tracer studies with alkylamino-s-triazines. *Weeds* 12, 103-108

- Fusi P., 1991. Adsorption et décomposition catalytique des pesticides sur les minéraux argileux. XXI Congrès du Groupe Français des Pesticides, Nancy 22-23 mai 1991. 31-44
- Gaudet J-P., H. Jegat, G. Vachaud, P.J. Wierenga, 1977. Solute transfer, with exchange between mobile and immobile water, through unsaturated sand. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41, 665-671
- Gerke H.H., M. Th. van Genuchten, 1993. A dual-porosity model for simulating preferential movement of water and solutes in structured porous media. *Water Resour. Res.*, 29, 305-319
- Glotfelty D.E., A.W. Taylor, B.C. Turner, W.H. Zoller, 1984. Volatilization of surface-applied pesticides from fallow soil. *J. Agric. Food Chem.* 32, 638-643
- Graham-Bryce I.J., 1981. The behaviour of pesticides in soil. *In* : *The Chemistry Soil Processes*. D. Greenland and M.H.B. Hayes Edits., 620-670
- Green R.E., M.A. Khan, 1987. Pesticide movement in soil : Mass Flow and Molecular Diffusion, Chapter 9, *In* : *Fate of pesticides in the environment*. Proc. Technical Seminar, Oakland, Univ. California. Biggar J.W. and Seiber J.N. Eds., 87-92
- Jarvis N.J., P.E. Jansson, P.E. Dik, I. Messing, 1991. Modelling water and solute transport in macroporous soils. I, Model description and sensitivity analysis. *J. Soil Sci.*, 42, 59-70
- Jaunky A., 2000. Etude de la volatilisation des pesticides incorporés dans un sol agricole : études expérimentales et modélisation. Thèse de l'Université Louis Pasteur, 281 p.
- Jury W.A., H. Flühler, 1992. Transport of chemicals through soil : mechanisms, models and field applications. *Advances in Agronomy*, 47, 141-201
- Kearney P.C., T.J. Sheets, J.W. Smith, 1964. Volatility of seven s-triazines. *Weeds* 12, 83-87
- Khan S.U., H.A. Hamilton, 1980. Extractable and bound (nonextractable) residues of prometryn and its metabolites in an organic soil. *J. Agric. Food Chem.*, 28, 126-132
- Khan S.U., K.C. Ivarson, 1981. Microbial release of unextracted (bound) residues from an organic soil treated with prometryn. *J. Agric. Food Chem.*, 29, 1301-1303
- Klöppel H., W. Kördel, J. Haider, 1994. Herbicides in surface runoff : a rainfall simulation study on small plots in the field. *Chemosphere* 29, 4, 649-662.
- Kloskowski R., Führ F., Mittelstaedt W., 1992 - Plant availability of bound anilazine residues in a degraded loess soil. *J. Environ. Sci. Health*, (6), 487-505.
- Lafrance P., O. Banton, P. Gagne, 1997. Exportations saisonnières d'herbicides vers les cours d'eau mesurées sur six champs agricoles sous quelques ratiques culturales du maïs (Basses-Terres du St Laurent). *Revue des Sciences de l'Eau*, 4, 439-459
- Lawes J.B., J.H. Gilbert, R. Warrington, 1882. On the amount and composition of the rain and drainage waters collected at Rothamsted. III- The drainage water from land cropped and manured. *J. R. Agric. Soc. Engl.*, 18, 1-17
- Lecomte V., 1999. Transfert de produits phytosanitaires par le ruissellement et l'érosion de la parcelle au bassin versant. Thèse de l'ENGREF, Spécialité Science de l'eau, 212 p.

- Lee J.K., Führ F., Kyung K.S., 1996 - Fate of the herbicide bentazon in rice plant-grown lysimeters over four consecutive cultivation years. *J. Environ. Sci. Health*, (2), 179-201.
- Lennartz B., S. Meyer-Windel, 1995. The role of immobile water in unsaturated substrates. *Hydrogeologie*, 4, 75-83
- Mathur S.P., H.V. Morley, 1978. Incorporation of methoxychlor-¹⁴C in model humic acids prepared from hydroquinone. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 20, 268-274
- Mietinnen I., P. Martikainen, T. Vartiainen, S. Lötjönen, 1993. Biochemical and chemical degradation of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in surface and drinking water. *Chemosphere*, 27, 1707-1718
- Miller J.L., A.G. Wollum, J.B. Weber, 1997. Degradation of carbon-14-atrazine and carbon-14-metolachlor in soil from four depths. *J. Environ. Qual.*, 26, 633-638
- Mosimann T., A. Maillard, A. Musy, J-A. Neyroud, M. Rüttimann, P. Weisskopf, 1991. Lutte contre l'érosion des sols, Guide pour la conservation des sols. Rapport thématique du programme national de recherche "Utilisation des sols en Suisse"; Berne-Liebefeld, 1991, ISBN 3-907086-68-6, 187 p.
- Muir D.C.G., 1991. Dissipation and transformation of pesticides in water and sediment. *In* : Environmental Chemistry of Herbicides. CRCP, Inc., 1-87
- Nielsen D.R., J.W. Biggar, 1961. Miscible displacement in soils. I. Experimental information. *SSSA Proc.*, 25, 1-5
- Novak S., J-M. Portal, J-L. Morel, M. Schiavon, 1998. Mouvement des produits phytosanitaires dans le sol et dynamique de transfert de l'eau. *C.R. Académie Agriculture de France*, 84, 119-132
- Raveton M., Ravanel P., Serre A-M., Nurit F., Tissut M., 1997 - Kinetics of uptake and metabolism of atrazine in model plant systems. *Pestic. Sci.*, (49), 157-163.
- Ristori G.G., P. Fusi, 1995. Adsorption mechanisms and abiotic catalytic transformations of some agrochemicals by clay minerals. *In* : Environmental Impact of soil component interactions, volume 1 : natural and anthropogenic organics. CRCP Inc., 337-343
- Rousseaux S., 2001. Diversité taxonomique, génotypique et physiologique des souches bactériennes dégradant l'atrazine dans les sols. Thèse de l'Université de Bourgogne, UFR des Sciences de la Terre. 130 p.
- Saxena A. R. Bartha, 1983. Microbial mineralization of humic acid-3,4-dichloroaniline complexes. *Soil Biol. Biochem.*, 15, 59-62
- Scheunert I., H. Parlar, 1992 - Fate of pesticides in plant and in soil fauna. *In* : Terrestrial behavior of pesticides. Springer-Verlag Ed., 77-103
- Scheunert I., M. Mansour, Ph. Adrian, 1991. Formation of conversion products and bound residues of chlorinated anilines in soil. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 31/32, 107-112
- Scheunert I., E. Topp, J. Schmitzer, W. Klein, F. Korte, 1985. Formation and fate of bound residues of [¹⁴C]benzene and [¹⁴C]chlorobenzene in soil and plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 9, 159-170
- Schiavon M., C. Perrin-Ganier, J-M. Portal, 1995. La pollution de l'eau par les produits phytosanitaires : état et origine. *Agronomie*, 15, 157-170.

- Schiavon M., E. Barriuso, J-M. Portal, F. Andreux, J. Bastide, C. Coste, A. Millet, 1990. Etude du devenir de deux substances organiques utilisées dans les sols, l'une massivement (l'atrazine), l'autre à l'état trace (le metsulfuron-méthyl), à l'aide de molécules marquées au ^{14}C . Rapport SRETIE/MERE 7219. 75 p.
- Schiavon M., F. Jacquin, C. Goussault, 1978. Blocage de molécules s-triaziniques par la matière organique. IAEA-SM-211/78, 327-332
- Schroll R., T. Langenbach, G.Cao, U. Dörfler, P. Schneider, I. Scheunert, 1992 - Fate of [^{14}C]terbutylazine in soil-plant systems. *The Science of the Total Environment*, (123/124), 377-389.
- Schuphan I., E. Schärer, M. Heise, W. Ebing, 1987. Use of laboratory model ecosystems to evaluate quantitatively the behaviour of chemicals. *In* : Pesticide Science and Biotechnology, Greenhalgh and Roberts Ed., 437-444
- Senesi N., 1993. Organic pollutant migration in soils as affected by soil organic matter : molecular and mechanistic aspects. NATO ASI Series, 32, 47-74
- Somasundaram L., J.R. Coats, 1990. Pesticide transformation products in the environment. ACS symposium, series 459, 2-9
- Soulas G., 1991. La biodégradation des pesticides dans le sol. XXI Congrès du GFP, 22-23 mai 1991, Nancy. 120-137
- Soulas G., 1993. Evidence for the existence of different physiological groups in the microbial community responsible for 2,4-D mineralization in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 25, 443-449.
- Soulas G., 1999. Techniques d'évaluation de l'écotoxicité des substances xénobiotiques vis à vis de la microflore des sols. *Ingénieries-EAT* 19, 57-66
- Southwick L.M., G.H. Willis, R.L. Bengston, T.J. Lormand, 1990. Atrazine and metolachlor in subsurface drain water in Louisiana. *J. Irrigation and Drainage Engineering*. 116, 16-23
- Tal A., B. Rubin, J. Katan, N. Aharonson, 1989. Fate of ^{14}C -EPTC in soil exhibiting accelerated degradation of carbomothioate herbicides and its control. *Weed Sci.*, 37, 434-439
- Tasli S., 1995 - Devnir de l'atrazine en culture de maïs : étude en plein champ - site de la Côte Saint André, Isère, France - et au laboratoire. Thèse Université Grenoble I. 188p.
- Tillmann R.W., D.R. Scotter, B.E. Clothier, R.E. White, 1991. Solute movement during intermittent water flow in a field soil and some implications for irrigation and fertiliser application. *Agricultural Water Management*, 20, 119-133
- Welther-Sandor M., 1994. Photochemical degradation of acetachlor. *Acta Biologica Hungarica*, 45, 59-67
- Winkelman D.A., S.J. Klaine, 1991. Degradation and bound residue formation of four atrazine metabolites, deethylatrazine, deisopropylatrazine, dealkylatrazine and hydroxyatrazine in a western tennessee soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10, 347-354
- Wolfe N.L., 1990. Abiotic transformation of pesticides in natural waters and sediments. *In* : Pesticides in the Soil Environment : Processes, impacts and modeling. SSSA Book, Series 2, 93-104

Matière organique, infiltrabilité des sols et transfert de bentazone

Richard CHERRIER¹, Corinne PERRIN-GANIER¹, Pierre KERVEILLANT², Jean-Marie PORTAL³ et Michel SCHIAVON¹.

1.Laboratoire Sols et Environnement, ENSAIA-INRA, BP 172, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy.

Tél. : 33.(0)3.83.59.57.75 ; Fax : 33.(0)3.83.59.57.91 ;

e-mail : richard.cherrier@ensaia.inpl-nancy.fr

2.Station Expérimentale de Kerlavic - EDE , 29000 Quimper.

3.CNRS-Centre de Pédologie Biologique, 17 rue N.D. des Pauvres, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy.

Résumé : Le principal phénomène impliqué dans la contamination des eaux par les produits phytosanitaires en milieu agricole est le transfert par ruissellement et lessivage. L'importance du transfert vertical est déterminée d'une part par les caractéristiques physiques du sol impliquées dans la circulation de l'eau et d'autre part par sa composition chimique. La matière organique, en particulier, représente une composante majeure du système sol dont il convient de préciser le rôle dans le devenir des pesticides en fonction des conditions pédoclimatiques.

A cet effet, trois sols cultivés sous un même climat mais présentant des teneurs naturelles variées en matière organique (de 2 à 6 %), ont fait l'objet d'une caractérisation organique et physique et d'un suivi de la distribution verticale au cours du temps d'un herbicide, la bentazone.

Le sol présentant un fort potentiel de rétention des produits phytosanitaires dû à sa teneur élevée en matière organique (6 %) et une grande infiltrabilité, a donné lieu à des transferts rapides de bentazone. Au contraire, dans les sols présentant moins de matière organique et une porosité plus fine, le transfert vertical a été ralenti (davantage de sites d'adsorption rencontrés et dégradation plus intense lors d'un temps de séjour plus long). Ainsi, des niveaux de transferts variables peuvent être reliés à des statuts organiques et des porosités caractéristiques.

1. Introduction

Le principal phénomène impliqué dans la contamination des eaux par les produits phytosanitaires en milieu agricole est le transfert par ruissellement et lessivage (Lambert, 1965 ; Boesten, 1989). Ce dernier, encore appelé transfert vertical, est en priorité responsable de la pollution des ressources en eau de type nappe alluviale. L'importance du transfert est déterminée à la fois par les caractéristiques physiques du sol, impliquées dans la circulation de l'eau (entraînant les pesticides en solution) mais également par la composition chimique du sol (notamment la matière organique), responsable de la réactivité du sol vis à vis des pesticides (rôle de rétention) (Nicholls, 1988 ; Novak, 2001).

La matière organique, par son rôle dans la structuration du sol (Rost et Rowles, 1941; Greenland, 1971 ; Paré, 1999), la dégradation des pesticides (Stevenson, 1972 ; Burns, 1979 et Calderbank, 1989) et le relargage des produits phytosanitaires lors de l'humification, (Grathwohl, 1990 ; Paya-Perez, 1992) représente une composante majeure du système sol, à prendre en compte dans les études centrées sur la qualité de l'eau. Ceci est d'autant plus marqué en Bretagne où les teneurs en matière organique des sols cultivés peuvent atteindre 8 %, contre 1 à 2,5 % en moyenne dans les sols agricoles du reste de la France.

Des travaux précédents, menés en 1998 et 1999 sur le site de Kerlavic (présentant 6 % de matière organique) n'ont jamais montré de présence d'atrazine et d'isoproturon dans l'eau du sol prélevée à l'aide de bougies poreuses implantées à 80 cm de profondeur et ont révélé une faible migration dans le sol d'isoproturon, traduisant probablement des phénomènes de rétention des herbicides dans les couches supérieures à forte teneur en matière organique. Afin de vérifier cette hypothèse, une étude des mouvements de l'eau dans le sol à l'aide d'un traceur et du transfert vertical d'un pesticide présentant une forte solubilité a été entreprise, sous un même climat, entre cette situation et d'autres situations pédologiques (variant essentiellement en matière organique). Son objectif était de cerner au mieux les facteurs limitant ou favorisant le transfert de pesticides (notamment de bentazone) vers les eaux.

2. Matériel et Méthodes

2.1 Les sites

Les 3 sites retenus sont localisés dans les communes suivantes :

- Kerlavic (Finistère), Kerguéhennec (Morbihan) et Champ-Noël (Ille et Vilaine).

Les caractéristiques physico-chimiques des sols des trois sites sont regroupées dans le tableau 1. Les sols de Kerlavic et Kerguéhennec présentent une texture de limon sablo-argileux et celui de Champ-Noël une texture limoneuse (diagramme de texture GEPPA).

Site	Niveau (cm)	Granulométrie (%)					Carbone (%)	Azote (%)	pH eau
		Argile	Limons fins	Limons grossiers	Sables fins	Sables grossiers			
Kerlavic	0-25	18,6	22,8	21,1	11,0	26,5	3,58	0,39	5,9
Kerguéhennec	0-25	19,0	26,9	27,8	16,7	9,6	1,81	0,17	6,7
Champ-Noël	0-30	13,5	23,9	45,2	12,0	5,4	1,10	0,12	7,0

Tableau n° 1 : Caractéristiques physico-chimiques de la couche de labour des sols des sites expérimentaux.

2.2 Traitement phytosanitaire

En 1999/2000, les trois sites, semés en blé, ont été désherbés à l'aide de bentazone (3-isopropyl-(1H)-benzo-2,1,3-thiadiazin-4-one 2,2-dioxide) à la dose de 1200 g/ha (Basagran). Dans la bouillie de traitement a également été dissout un traceur de l'eau, le bromure de potassium, apporté à raison de 50 kg/ha de Br⁻.

2.3 Caractérisation des sols des sites

La caractérisation des sols des sites a comporté deux volets :

- Dans un premier temps, nous avons effectué une caractérisation du degré d'évolution de la matière organique des sols. Pour cela nous avons évalué la part d'humines, d'acides fulviques et d'acides humiques présents dans la fraction fine du sol, c'est à dire la fraction < 50 µm. La caractérisation du degré d'évolution de la matière organique s'est déroulée en deux étapes. Tout d'abord, nous avons réalisé un fractionnement physique du sol (séparation des fractions fine <50 µm et grossière > 50 µm) par tamisage sous un flux d'eau. Ensuite, nous avons effectué une séparation chimique des composants par extraction et séparation des fractions alcalino-solubles de la fraction fine. Cette dernière étape s'est déroulée en deux temps. D'abord en séparant les humines et les molécules carbonées par solubilisation en milieu alcalin puis en séparant les produits carbonés alcalino-solubles (acides humiques et acides fulviques) par précipitation des acides humiques en milieu acide.
- Dans un deuxième temps, nous avons déterminé la porosité (norme AFNOR X31-502) et l'état structural (norme AFNOR X31-506) des sols étudiés.

2.4 Protocole de suivi du traceur et de l'herbicide au champ

Suivi de la bentazone et du traceur dans les sols

Les suivis ont été effectués sur des surfaces de 260 m² (parcelles de 20 m sur 13 m), présentant chacune une légère pente de 2 à 3 %.

Un prélèvement « témoin » de sol a été effectué un mois avant l'apport de la bentazone.

Un prélèvement de sol a été réalisé le jour du traitement (26/11/99) puis 1, 2, 3 semaines, 1, 2, 3 et 6 mois après le traitement. Le dernier prélèvement n'a pu être effectué à Champ-Noël où le sol de la parcelle a été retourné à la mi-février.

A chacune de ces dates, les niveaux suivants ont été prélevés : 0-3, 3-10, 10-25, 25-50 et 50-80 cm.

Les échantillons de terre ont été prélevés à la sonde automatique, pour chaque horizon, en 10 points de la parcelle puis séchés à l'air libre, émiettés et tamisés manuellement à 2 mm.

L'extraction de la bentazone a été réalisée par 2 agitations successives de 50 g de sol avec 100 ml de méthanol (durée de l'extraction 16 h). Les extraits ont ensuite été concentrés par évaporation sous vide. Le dosage des résidus a été effectué par HPLC (Varian) muni d'un détecteur à barrette de diodes (colonne Kromasil C18, éluant acétonitrile/eau 50/50 avec 0,4 % d' H_3PO_4 , débit $0,8 \text{ ml mn}^{-1}$). Les résidus ont été identifiés grâce à une gamme d'étalons de bentazone (Cluzeau CIL, pureté > 99%) de concentrations 0,5-1-2,5-5 et 10 mg l^{-1} . Dans ces conditions, la limite de détection de la bentazone dans le sol est de $1,68 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Les bromures ont été extraits par agitation de 50 g de sol avec 100 ml d'eau milliQ pendant 1 h. Le mélange a ensuite été filtré sur papier filtre plissé puis sur filtre Sartorius $0,2 \mu\text{m}$. Pour précipiter les colloïdes restés en suspension, le filtrat a ensuite été centrifugé à $16\,000 \text{ tr/mn}$ pendant 1 h à 4°C . Les bromures ont été dosés par électrophorèse capillaire (capillaire $75 \mu\text{m} \times 60 \text{ cm}$; voltage 20 kV, courant 20 à $25 \mu\text{A}$, détection UV 254 nm; électrolyte dans l'eau milliQ : 25 ml l^{-1} de Waters CIA-Pak OFM anion BT + 50 ml l^{-1} de solution mère de chromate-acide sulfurique). Ils ont été identifiés grâce à une gamme étalon de KBr de 1, 5, 10, 50 et 100 mg l^{-1} . Dans ces conditions, la limite de détection des bromures dans le sol est de $0,07 \text{ mg kg}^{-1}$.

3. Résultats et discussion

3.1 Caractérisation des sols

Caractérisation organique des sols

Les teneurs en carbone organique total des sols des parcelles sont de 3,58 % à Kerlavic, 1,81 % à Kerguéhennec et 1,10 % à Champ-Noël (tableau 1). Si les parcelles de Kerguéhennec et de Champ-Noël reçoivent des apports organiques conventionnels, celle de Kerlavic n'a pas reçu d'apports organiques depuis 20 ans. Sa forte teneur en carbone est due à l'histoire du sol, ce site étant une ancienne lande bretonne avec un pH acide, ralentissant la biodégradation de la matière organique qui s'est progressivement accumulée. Actuellement, à Kerlavic, plus de 93 % du carbone total se trouve dans des composés humifiés (Figure 1). Il s'agit de matière organique ancienne.

A Kerguéhennec et Champ-Noël, les composés humifiés représentent 80 % du carbone total. La part de la matière organique fraîche (peu humifiée), issue d'apports récents, est plus grande qu'à Kerlavic (Figure 1).

A Kerlavic, l'absence d'apport organique depuis 20 ans se traduit par une faible présence de carbone dans la fraction peu humifiée, et cette parcelle présente une

stabilisation des composés organiques avec plus de 51 % d'humines et 22 % d'acides humiques (Figure 1). La nature de la matière organique de ce sol lui confère sans doute une forte capacité de rétention des pesticides, ceux-ci étant généralement davantage retenus par la matière organique humifiée que fraîche.

Le sol de la parcelle de Kerguéhennec représente un intermédiaire d'évolution entre Kerlavic et Champ-Noël. Il présente des parts plus faibles en acides fulviques et humiques respectivement de 15 % et 14 %. Ceux-ci représentent des composés humiques intermédiaires entre la matière fraîchement apportée et les composés humifiés très stables (humines).

Enfin, à Champ-Noël se trouve le sol avec le moins de composés humifiés (47 % d'humines et presque 20 % du carbone total dans la fraction non humifiée). Ce sol, comportant une matière organique moins riche et moins évoluée, présente probablement une réactivité moins marquée vis à vis des produits phytosanitaires et une structuration plus faible.

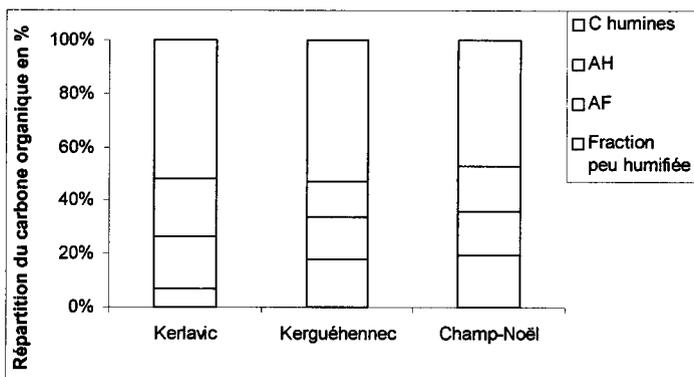


Fig. n° 1 : Répartition du carbone dans les différentes fractions de la matière organique des sols.

La nature de la matière organique a une importance majeure dans la rétention des pesticides par le phénomène d'adsorption ainsi que dans la structuration du sol. Ainsi les données précédemment obtenues nous serviront pour étayer nos hypothèses dans l'interprétation des suivis de la bentazone.

Caractérisation physique des sols

Densité apparente

Les sols des trois sites sont significativement différents en terme de densité (tableau 2) avec la densité la plus forte à Champ-Noël. Plus la densité est faible, plus le sol est poreux au moment du prélèvement et son évolution dépendra de la stabilité structurale.

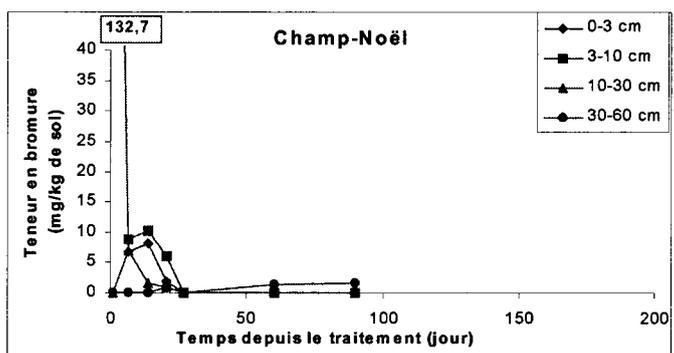
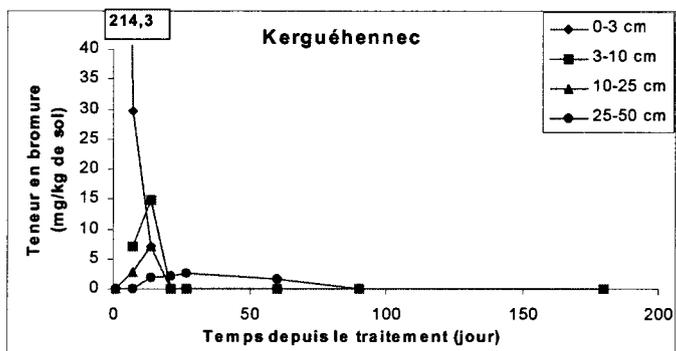
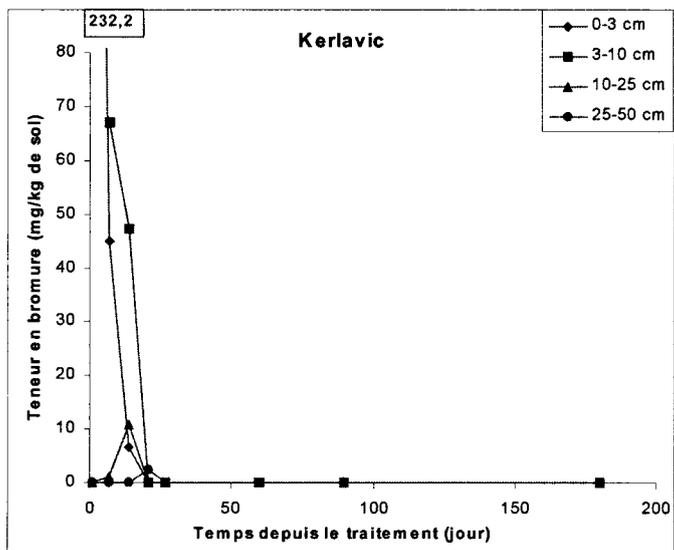


Fig. n° 3 : Evolution des teneurs en bromures dans les différentes couches de sols des 3 sites.

3.2 Suivi du traceur et de la bentazone au champ

Suivi du traceur dans les sols des trois sites

Les mouvements du traceur de l'eau du sol diffèrent d'un site à l'autre (Figure 3).

A Kerlavic, les bromures progressent rapidement et en quantité importante vers la profondeur, où se trouve un sous-sol filtrant avec une grande proportion de cailloux. Ils ne sont jamais détectés au delà de 50 cm, probablement en raison de leur concentration à ce niveau inférieure à la limite de détection ou de leur apparition à cette profondeur entre 2 dates de prélèvement. Trois semaines après l'apport, ils ne sont plus détectés dans le profil. Ceci provient d'une circulation très rapide de l'eau dans le sol de Kerlavic à la suite d'une pluviométrie importante (Figure 4). Le front de migration des bromures avec la lame d'eau a quitté le profil en moins d'un mois.

A Kerguéhennec, l'eau circule plus lentement et l'on peut suivre la progression des bromures jusqu'à 80 cm, pendant 3 mois au moins.

La situation est similaire à Champ-Noël, où l'on mesure de surcroît des concentrations moins élevées. Ces résultats sont certainement la conséquence d'une circulation matricielle de l'eau, au détriment des voies d'écoulement rapides, due à une porosité plus fine de ce sol en raison de sa texture limoneuse et de sa densité plus élevée.

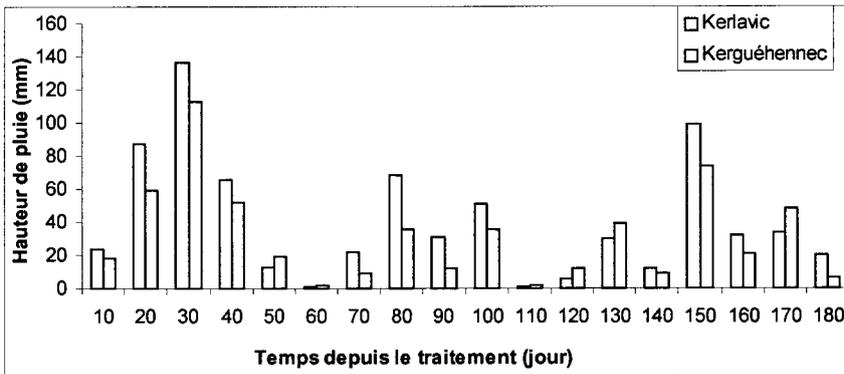


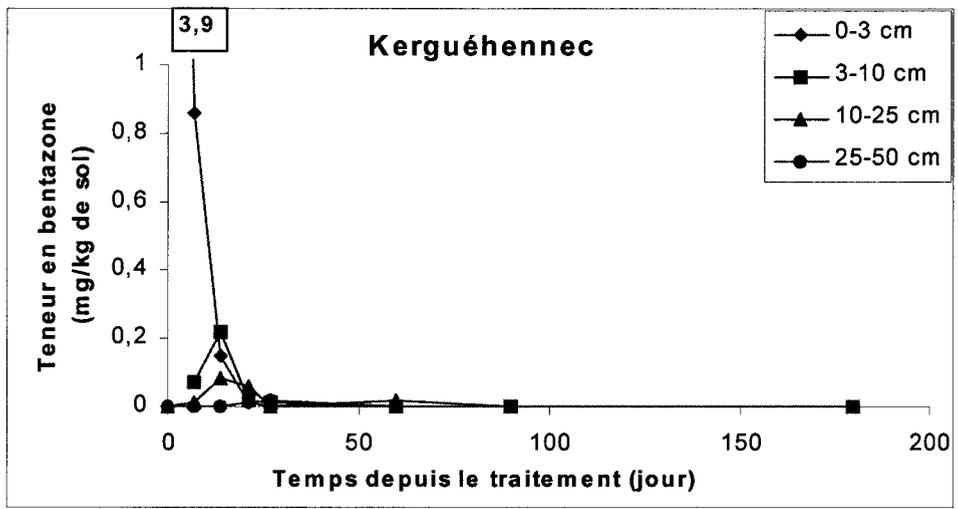
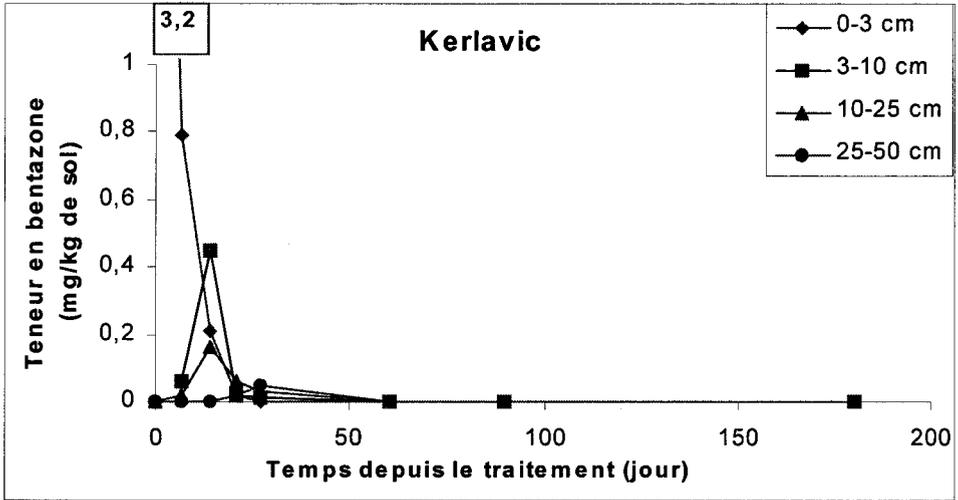
Fig. n° 4 : Pluviométrie en 1999/2000 à Kerlavic et Kerguéhennec, par décade suivant le traitement phytosanitaire du 26 novembre 1999.

Suivi de la bentazone dans les sols des trois sites

Les profils de distribution de la bentazone avec la profondeur et au cours du temps sur les 3 sites (Figure 5), montrent des situations assez différentes. Dans les trois cas, l'apparition de l'herbicide dans les couches proches de la surface (jusqu'à 30 cm) se présente sous la forme de pics. Cependant ceux-ci sont de plus en plus «aplatis» de Kerlavic à Champ-Noël. Ceci est à relier avec le type de circulation de

l'eau dans ces milieux pour lesquels nous avons montré que la porosité diminuait dans le même ordre.

A Kerlavic, les écoulements sont rapides, certainement avec une grande part de flux préférentiels (dans la porosité grossière). Des quantités importantes de bentazone sont retrouvées jusqu'à 30 cm. A Kerguéhennec et encore plus à Champ-Noël, l'aplatissement des pics de concentration en herbicide dans le sol traduit l'importance prépondérante de la circulation matricielle de l'eau dans ces sols. La bentazone se distribue alors dans la porosité fine du sol et circule plus lentement.



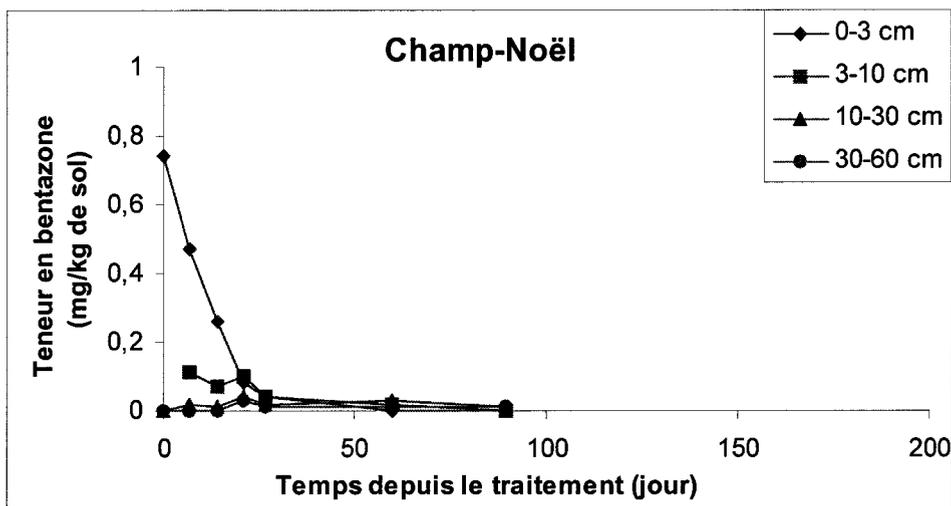


Fig. n° 5 : Evolution des teneurs en bentazone dans les différentes couches de sols des sites de Kerlavic, Kerguéhennec et Champ-Noël au cours du temps

Dans les trois cas, les teneurs en bentazone dans la couche 30-50 cm sont faibles ou nulles, probablement en raison de la présence de l'herbicide à des concentrations inférieures à la limite de détection dans le sol au moment des prélèvements. Plusieurs éléments peuvent expliquer cette situation.

Une première explication peut être trouvée dans la dynamique d'éluion de l'herbicide à travers le sol, qui peut conduire à un passage du «pic» de concentration dans cette couche (30-50 cm) entre les dates de prélèvement.

Une seconde explication peut se rapporter à la dissipation de la bentazone dans ces sols (c'est à dire à sa disparition du pool des résidus lessivables), soit par rétention par les constituants du sol (adsorption) soit par dégradation.

Il est probable que le premier mécanisme soit prépondérant à Kerlavic où la forte teneur en matière organique confère à ce sol une capacité d'adsorption élevée. Nous avons ainsi pu mesurer, dans la couche de labour du sol de Kerlavic, des capacités d'adsorption 2 à 4 fois supérieures à celles mesurées dans l'horizon superficiel d'un sol agricole lorrain, pour différents pesticides.

Dans le cas des sols de Kerguéhennec et Champ-Noël, le temps de séjour du pesticide dans les couches supérieures du sol est assez long en raison de l'infiltrabilité moindre de ces sols. Ces couches étant biologiquement les plus actives, on peut penser que c'est, cette fois, la dégradation du pesticide qui a été favorisée dans ces sols, par rapport au site de Kerlavic. Sous l'action des micro-organismes du sol, la molécule mère a pu disparaître au profit de produits de

dégradation, réduisant ainsi les quantités de bentazone susceptibles d'être entraînées en profondeur.

Enfin, il est à noter que seules des traces d'herbicide ont été retrouvées dans la couche 50-80 cm. A cette profondeur, la teneur en matière organique est très faible et la capacité d'adsorption de la bentazone très réduite. Par ailleurs, l'activité microbienne y est quasiment inexistante. Ainsi les molécules parvenues à ce niveau n'y séjournent pas et sont entraînées par l'eau mobile.

Conclusions

Le suivi simultané des trois sites a permis de mettre en évidence des situations assez différentes dans le contexte breton.

D'une part, il existe des sols qui présentent une faible infiltrabilité comme à Kerguéhennec et Champ-Noël, ce qui conduit à un transfert essentiellement matriciel de l'eau et à une exploration assez conséquente de la porosité fine. Cette circulation de l'eau permet aux pesticides de rencontrer de nombreux sites d'adsorption potentiels, ces interactions vont ralentir voir stopper le transfert vertical des molécules. De plus, ce temps de séjour plus long en surface va permettre une dégradation biologique des herbicides plus importante.

D'autre part, il existe des sites comme celui de Kerlavic, où la matière organique du sol, par sa teneur et sa nature, est capable de retenir une grande proportion du pesticide appliqué. La circulation de l'eau dans ces sols est rapide et concerne surtout la porosité grossière. L'exploration du milieu par l'eau est par ailleurs moins importante et les résidus libres sont rapidement entraînés verticalement.

Références bibliographiques

- Boesten J.J.T.I. (1989) Leaching of Herbicides to Groundwater : a review of Important Factors and Available Measurements. Proceedings 1987 British Crop Protection Conference. *Weeds.*, 2, 559-568.
- Burns R.G. (1979) Interaction of microorganisms, their substrates, and their products with soil surfaces. Adhesion of microorganisms to surfaces, Ellwood, Melling and Rutter Ed., *Academic Press Publ.*, 109-138.
- Calderbank A. (1989) The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 108, 71-102.
- Grathwohl P. (1990) Influence of organic matter from soil and sediments from various origins on the sorption of some chlorinated aliphatic hydrocarbons : implication on Koc correlations. *Environ. Sci. Technol.*, 24, 1678-1693.
- Greenland D.J. (1971) Interactions between humic and fulvic acids and clay. *Soil Sci.*, 111, 34-41.
- Lambert S.M., Porter P.E. et Schieferstein R.H. (1965) Movement and Sorption of Chemicals Applied to the soil. *Weeds.*, 13, 185-190.

- Nicholls P.H. (1988) Factors influencing entry of pesticides into soil water. *Pestic. Sci.*, 22, (2), 123-137.
- Novak S.M., Portal J.M. et Schiavon M. (2001) Influence of soil aggregate size on atrazine and trifluralin leaching. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 66, 514-521.
- Paré T., Diné H., Moulin A.P et Townley-Smith L. (1999) Organic matter quality and structural stability of a black chernozemic soil under different manure and tillage practices. *Geoderma.*, 91, 311-326.
- Paya-Perez A.B., Cortes A., Sala M.N., Larsen B. (1992) Organic matter fractions controlling the sorption of atrazine in sandy soils. *Chemosphere.*, (25;6), 887-898.
- Rost R.O. et Rowles C.A. (1941) A study of the factors affecting the stability of soil aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 5, 421-433.
- Stevenson F.J. (1972) Organic matter reactions involving herbicides in soil. *J. Environ. Qual.*, (1;4), 333-343.

Transfert du diuron et de l'oryzalin en lysimètres dans trois sols viticoles non perturbés (Vosne-Romanée, 21)

Leaching of diuron and oryzalin in undisturbed lysimeters of three vineyard soils (Vosne-Romanée, 21)

D. LANDRY, S. DOUSSET, F. ANDREUX

UMR INRA A111 Microbiologie des Sols - GéoSol
Université de Bourgogne, Centre des Sciences de la Terre
6, boulevard Gabriel, 21000 Dijon, FRANCE
Tel : 03 80 39 37 24 - Fax : 03 80 39 63 87
E-mail : david.landry@u-bourgogne.fr

Résumé : La mobilité du diuron et de l'oryzalin a été étudiée en colonnes de sol non perturbé au laboratoire. Les sols étudiés sont trois sols viticoles de la région Bourgogne (Vosne-Romanée, 21) et ont été prélevés selon une topolithoséquence. Leurs teneurs en carbone organique sont respectivement de 1,2 %, 1,7 % et 2,2 % pour le sol brun calcaire de mi-pente (SBC MP), le sol brun calcaire de bas de pente (SBC BP) et la rendzine. Après une hauteur de pluie simulée de 845 mm, les percolats respectifs de la rendzine, du SBC MP et du SBC BP contiennent des quantités plus importantes de diuron (3,2 %, 11,8 % et 18,8 %), que d'oryzalin (0,2 %, 4,9 % et 3,7 % des quantités appliquées). Dans les colonnes de sol, les quantités extractibles de résidus herbicides sont plus élevées pour le diuron (48,7 %, 31,1 % et 35,6 %) que pour l'oryzalin (12,7 %, 11,9 % et 15,5 %) dans la rendzine, le SBC MB et le SBC BP respectivement. La distribution des deux herbicides au sein des colonnes de sol et les quantités percolées semblent en relation avec la teneur en matière organique du sol en surface et avec la structure du sol en profondeur.

Abstract : *Mobility of diuron and oryzalin were studied in undisturbed soil columns in laboratory. Soils studied were three vineyard soils from Burgundy (Vosne-Romanée) and were chosen from a topolithoséquence. Organic carbon contents of this soils were 1,2 %, 1,7 % et 2,2 % for SBC MP, SBC BP and rendzine, respectively. After 845 mm of water applied, leachates of rendzine, SBC MP and SBC BP showed greater amounts of diuron (3,2 %, 11,8 % and 18,8 %) than oryzalin (0,2 %, 3,9 % and 4,7 % of applied) respectively. In soil columns, more residues were extractable for diuron (48,7 %, 31,1 % et 35,6 %) than for oryzalin (12,7 %, 11,9 % et 15,5 %) from the rendzine, SBC MB and SBC BP, respectively. Mobility of this two herbicides seems in relation to organic matter content in surface soils and to structure of the soils deeper.*

Mots clés : diuron, oryzalin, lysimètre, sol structuré, sol viticole, lessivage

Keywords : *diuron, oryzalin, lysimeter, undisturbed soil, vineyard soil, leaching*

Introduction

La viticulture est l'une des activités majeures de l'économie bourguignonne. La facilité d'emploi de produits phytosanitaires, dans un vignoble de coteau à la topographie difficile, a favorisé un développement rapide des techniques de désherbage chimique dans les années 70. Ces produits phytosanitaires ont constitué un progrès essentiel pour la production viticole en assurant des rendements réguliers et la nécessaire qualité des produits. Mais un usage intensif de ces molécules a engendré, dans certaines situations, la présence de résidus de pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine. Ainsi, depuis 1992, le suivi des analyses d'eau réalisé par la DDASS dans le captage en eau potable de Vosne-Romanée montre la présence de produits phytosanitaires (notamment de diuron) à des concentrations supérieures à la norme Européenne de $0,1 \mu\text{g.l}^{-1}$ (Vey, 1998). L'oryzalin, utilisé abondamment par les viticulteurs de Vosne-Romanée, n'a jamais été retrouvé dans ces eaux. Lors de la contamination des eaux souterraines, et plus particulièrement des eaux de captage par les produits phytosanitaires, l'origine et les temps de résidence de ces molécules peuvent être déterminés en évaluant leur mode de transfert et leur réactivité. Le processus de transfert dépend des caractéristiques physico-chimiques du sol, des propriétés de la molécule et des facteurs climatiques tels que pluviométrie et température (Doussset *et al.*, 1995). Le périmètre de protection éloigné du captage d'eau potable de Vosne-Romanée couvre une surface de 240 ha, dont 144 ha sont aujourd'hui plantés en vignes. Ce secteur a été choisi compte tenu de l'importance de la culture de la vigne dans cette région, de la présence de molécules herbicides dans les eaux du captage et de la volonté conjuguée du syndicat viticole et du syndicat des eaux de reconquérir la qualité de l'eau du captage de Vosne-Romanée. Les objectifs de ce travail sont donc d'étudier au moyen de lysimètres, dans le bassin-versant viticole de Vosne-Romanée, l'influence du type de sol sur le transfert du diuron et de l'oryzalin, et de déterminer les molécules herbicides présentant le moins de risque de contamination des nappes phréatiques. Ces résultats sont nécessaires pour la mise en place au terrain, de plans d'action compatibles avec les impératifs de la culture de la vigne et le respect de la qualité des eaux souterraines.

1. Matériel et méthode

1.1 Molécules

Le diuron [3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-diméthylurée], ses métabolites majeurs le DCPMU [N'-3,4-dichlorophenyl-N-méthylurée], le DCPU [3,4-dichlorophenylurée] et le 3,4-DCA [3,4-dichloroaniline], (Dalton *et al.*, 1966) ainsi que l'oryzalin [4-(dipropylamino)-3,5-dinitrobenzenesulphonamide] ont respectivement des puretés chimiques de 98,8 %, 99,9 %, 98,0 %, 99,0 % et 99,0 % (C.I.L., Bordeaux). Les caractéristiques chimiques de ces molécules sont présentées dans le tableau 1.

	diuron	oryzalin
Famille	Phénylurées substituées	Dinitroanilines
Formule chimique	C ₁₂ H ₁₈ N ₄ O ₆ S	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O
K_{oc} ml.g⁻¹	400	700-1100
Solubilité (eau, 25°C) mg.l⁻¹	36,4	2,6
T_{1/2} vie	4 à 8 mois	1,2 mois

Tableau n° 1 : Propriétés chimiques des molécules herbicides (d'après Tomlin et al., 1997)

1.2 Sols étudiés

Les trois sols Bourguignons (Vosne-Romanée (21), France) ont été prélevés dans la couche 0-20 cm, sur une topolithoséquence. Les caractéristiques principales de ces sols figurent dans le tableau 2. Sur le terrain, des monolithes de sol ont été isolés, en prenant soin de ne pas altérer la structure naturelle des sols. Des tubes en PVC (25 cm de long, 20 cm de diamètre interne) sont disposés autour de ces monolithes. Le vide existant entre le sol et le tube en PVC a été comblé par de la mousse expansée, afin de réduire les phénomènes d'écoulement préférentiel le long de la paroi interne des tubes. Les colonnes sont ensuite dégagées du sol et ramenées au laboratoire.

sols	> 2 mm^a (%)	pH_{eau}	Sables^b (%)	Limons^b (%)	Argiles^b (%)	C.O.^c (%)
rendzine	43,6	8,1	36,6	36,5	24,9	2,2
SBC MP	30,4	8,2	23,8	41,2	35,0	1,2
SBC BP	24,2	8,1	19,1	41,5	39,4	1,7

Tableau n° 2 : Propriétés physico-chimiques des sols étudiés

^a >2 mm : fraction grossière des sols supérieure à 2 mm (en % du poids de sol sec)

^b Analyses granulométriques, en pourcentage du poids de la fraction < 2 mm

^c C.O. : teneur en carbone organique

1.3 Mise en place du dispositif

Au laboratoire, les colonnes sont placées sur un dispositif vertical conçu à cet effet. La base des colonnes repose sur une plaque en PVC perforée de trous de 2 mm de diamètre. Une toile à bluter (105 µm d'ouverture des mailles) est placée à la base de chacune afin d'empêcher les particules fines d'être entraînées par l'eau. Pour chaque modalité de traitement, une colonne par type de sol a été utilisée. L'aspersion des colonnes est assurée par une pompe péristaltique (ISMATEC MP 25) à un débit de 1,3 cm.h⁻¹. Le volume d'eau total apporté en tête de colonne (845 mm) correspond à la pluviométrie annuelle (moyenne des 20 dernières années)

sur Vosne-Romanée. Un filtre en fibre de verre est placé sur la surface des sols, assurant une répartition homogène de l'eau à la surface de la colonne. Les percolats sont fractionnés et récupérés dans des flacons en polyéthylène toutes les 24 heures pendant les 15 jours de percolation.

1.4 Doses d'herbicides appliquées

Trente ml d'une solution méthanolique à 63,4 mg.l⁻¹ de diuron (équivalant à une dose de 3,6 kg.ha⁻¹) ou à 13,70 mg.l⁻¹ d'oryzalin (équivalant à une dose de 7,7 kg.ha⁻¹) sont uniformément appliqués à la surface du sol de chaque colonne. Les deux herbicides restent en contact pendant 48 heures avec le sol sec, avant d'appliquer la pluie simulée.

1.5 Collecte et analyse des percolats

Les percolats sont récupérés toutes les 24 heures. Les flacons sont pesés pour déterminer les volumes des échantillons. Ces derniers sont filtrés à 0,45 µm (filtres Millipore en nitrate de cellulose) et extraits en phase solide à l'aide de cartouches LC-18 (Supelclean). Les cartouches sont conditionnées par addition de 10 ml de méthanol puis de 10 ml d'eau distillée. Les résidus d'herbicides fixés par ces cartouches sont élués par 3 ml de méthanol puis évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à 30°C. Les résidus sont ensuite récupérés dans 3 ml de méthanol. Les molécules sont dosées en HPLC avec détection à barrettes de diodes. Les conditions analytiques sont les suivantes : colonne C₁₈ en phase inverse (15 cm x 4,6 mm), phase mobile composée d'acétonitrile et d'eau (70:30, v/v; débit de 0,8 ml.min⁻¹) pour l'analyse des phénylurées et (50:50, v/v; débit de 1,2 ml.min⁻¹) pour l'analyse de l'oryzalin. La détection UV est réalisée à 251 nm pour le diuron, le DCPMU et le DCA, à 247 nm pour le DCPU (Field *et al.*, 1997) et à 254 nm pour l'oryzalin (Kennedy, 1977). Les détections limites sont de 0,04 µg.l⁻¹ pour le diuron, de 0,06 µg.l⁻¹ pour le DCPMU, de 0,05 µg.l⁻¹ pour le DCPU, le DCA et l'oryzalin.

1.6 Extraction des sols et analyses

A la fin de la percolation, les colonnes de sol sont découpées en 4 niveaux de 5 cm de hauteur, séchées à l'air et tamisées à 2 mm. 50 g de sol sont extraits par 100 ml d'un mélange de méthanol/eau (80/20, v/v). Les échantillons sont agités pendant 10 heures à l'aide d'un agitateur rotatif, puis centrifugés pendant 20 minutes à 5500 rpm. Trois extractions successives sont effectuées. L'ensemble de ces extractions est mélangé puis évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (30°C). Les résidus sont repris dans 3 ml de méthanol et dosés par HPLC dans les conditions décrites précédemment.

2. Résultats et discussion

2.1 Teneur en résidus herbicides dans les percolats

Les quantités éluées cumulées des herbicides sont représentées en fonction des hauteurs éluées cumulées des percolats des colonnes (figure 1).

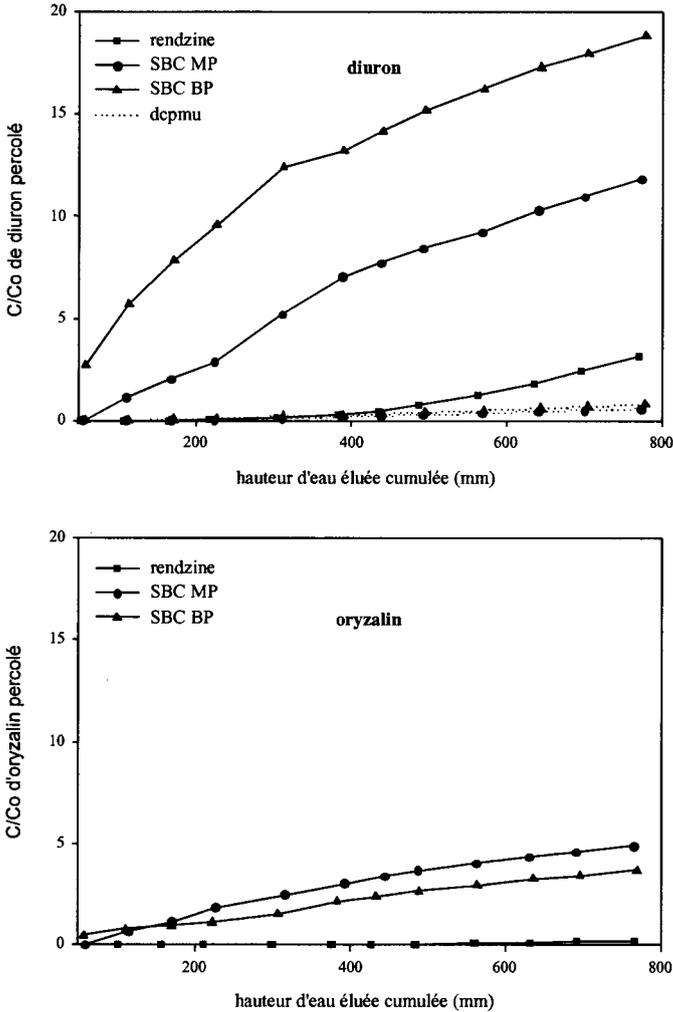


Fig. n° 1 : Quantités éluées cumulées d'herbicides (en % des quantités appliquées) en fonction de la hauteur d'eau éluee cumulée (mm)

Dans les percolats de la rendzine, du SBC MP et du SBC BP, le diuron est détecté à partir de 217 mm, 110 mm et 55 mm d'eau éluee respectivement. En fin d'expérience, soit pour une hauteur moyenne d'eau éluee de $773,8 \pm 4,8$ mm, les

percolats de la rendzine, du SBC MP et du SBC BP contiennent respectivement 3,2 %, 11,8 % et 18,8 % du diuron appliqué.

Le DCPU et le DCA ne sont retrouvés dans aucun des percolats. Le DCPMU n'est pas détecté dans les percolats de la rendzine mais dans ceux des deux SBC. Le DCPMU apparaît 7 jours après l'application du diuron dans le SBC MP, soit après 310 mm d'eau éluee et 4 jours après l'application du diuron, soit après 172 mm d'eau éluee, dans le SBC BP. Les quantités cumulées de DCPMU sont de 0,6 % et de 0,8 % du diuron appliqué dans les percolats respectifs du SBC MP et du SBC BP.

L'oryzalin est détecté dans les percolats des SBC MP et SBC BP pour des hauteurs d'eau éluees cumulées respectives de 114 mm et de 57 mm. L'oryzalin n'est détecté que dans 50 % des percolats de la rendzine. En fin de percolation, soit pour une hauteur moyenne d'eau éluee de $766,5 \pm 2,7$ mm, les pourcentages totaux d'oryzalin récupérés sont de 0,2 %, 4,9 % et 3,7 % dans les percolats respectifs de la rendzine, du SBC MP et du SBC BP.

2.2 Distribution des herbicides dans les sols

Les concentrations des herbicides dans les sols en fonction de la profondeur sont représentées figure 2. Les molécules sont entraînées par l'eau sur toute la hauteur des colonnes et leurs concentrations diminuent avec la profondeur.

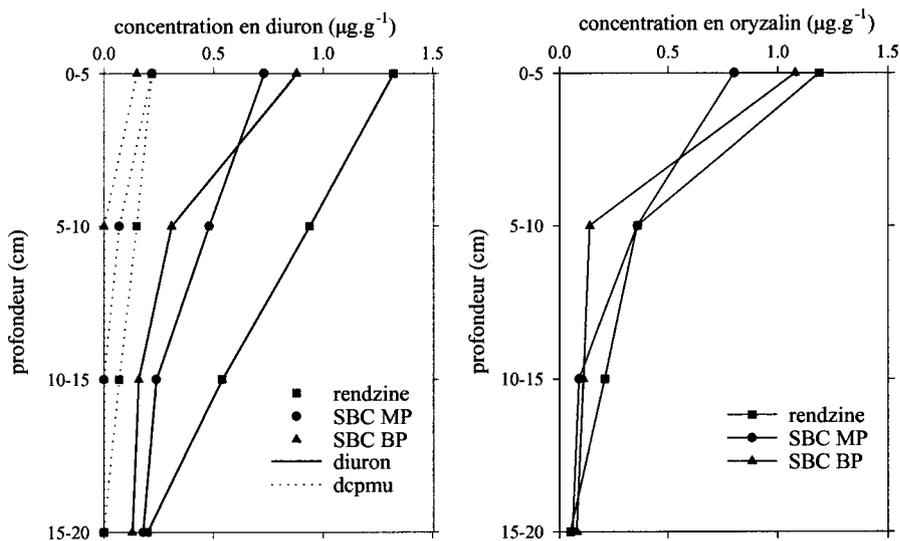


Fig. n°2 : Concentration en herbicide ($\mu\text{g.g}^{-1}$) dans les différents niveaux de sols

Les concentrations en diuron dans le niveau 0-5 cm sont de $1,32 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans la rendzine, de $0,88 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans le SBC MP et de $0,73 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans le SBC BP. Dans les niveaux 5-20 cm, les concentrations en diuron sont plus élevées dans la rendzine que dans les SBC. Les concentrations en diuron sont plus élevées dans le SBC MP que dans le SBC BP dans les niveaux 5-20 cm. Parmi les métabolites du diuron, le DCPMU et le DCA n'ont pas été retrouvés dans les sols. Dans la rendzine, le DCPMU migre le plus profondément à des concentrations variant de $0,22 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans l'horizon 0-5 cm à $0,07 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans l'horizon 10-15cm. Dans le SBC MP, le DCPMU est présent dans la couche 0-5 cm, à une concentration de $0,22 \mu\text{g.g}^{-1}$ et dans la couche 5-10 cm, à une concentration de $0,07 \mu\text{g.g}^{-1}$. Dans le SBC BP, le DCPMU est uniquement détecté dans l'horizon 0-5 cm, à une concentration de $0,15 \mu\text{g.g}^{-1}$.

Les concentrations en oryzalin dans l'horizon de surface 0-5 cm des sols sont de $1,19 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans la rendzine, de $0,8 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans le SBC MP et de $1,08 \mu\text{g.g}^{-1}$ dans le SBC BP. En profondeur, les concentrations en oryzalin sont plus élevées dans la rendzine que dans les deux SBC. Elles sont également plus élevées dans le SBC MP que dans le SBC BP.

Dans l'horizon de surface (0-5 cm), la rétention des herbicides est en relation avec la teneur en carbone organique des sols. En effet, les concentrations en diuron et en oryzalin sont les plus élevées dans la rendzine à 2,2 % de carbone organique et sont les plus faibles dans le SBC MP à 1,2 % de carbone organique. La teneur en matière organique des sols serait la première responsable de l'adsorption de l'oryzalin (Fourie, 1992 ; 1993) et du diuron (Madhun et Freed, 1987). En profondeur, un autre facteur interviendrait sur la mobilité des herbicides : la rendzine présente une fraction grossière de 43,6 % et contient plus de sables et moins d'argiles et de limons que les deux SBC. Ces caractères peuvent se traduire par une meilleure stabilité de la structure du sol, accordant un meilleur potentiel pour la migration des herbicides (Monnier, 1994 ; Futch et Singh, 1999). Le SBC MP présente une fraction grossière de 30,4 % et le SBC BP de 24,2 %. Cette différence peut également être à l'origine d'une plus grande mobilité des molécules dans le SBC MP en profondeur.

2.3 Bilan de masse

La figure 3 représente les quantités totales de résidus d'herbicides retrouvés dans les percolats et dans les sols. Ces pourcentages sont, respectivement dans la rendzine, le SBC MP et le SBC BP, de 51,85 %, 43,53 % et 55,23 % pour le diuron et de 13,19%, 16,82 % et 19,13 % pour l'oryzalin. Les faibles quantités d'oryzalin retrouvées pourraient s'expliquer par des processus de dégradation (Golab *et al.*, 1975 ; Fourie, 1992 ; 1993). L'absence d'étalons de métabolites de l'oryzalin n'a pas permis de quantifier ces résidus. La formation de résidus liés, réduisant rapidement les quantités disponibles pour la percolation, pourrait également être à l'origine des faibles quantités d'oryzalin retrouvées (Golab *et al.*, 1975). Les quantités d'oryzalin sont majoritairement retrouvées à la surface des sols.

Pour le diuron, 45 % à 55 % du diuron appliqué a disparu. Ce phénomène pourrait s'expliquer par une perte par photodécomposition et volatilisation de la molécule (Khan *et al.*, 1976), par la minéralisation du diuron (Khan *et al.*, 1976) ou par la formation de résidus liés (Hogue *et al.*, 1981).

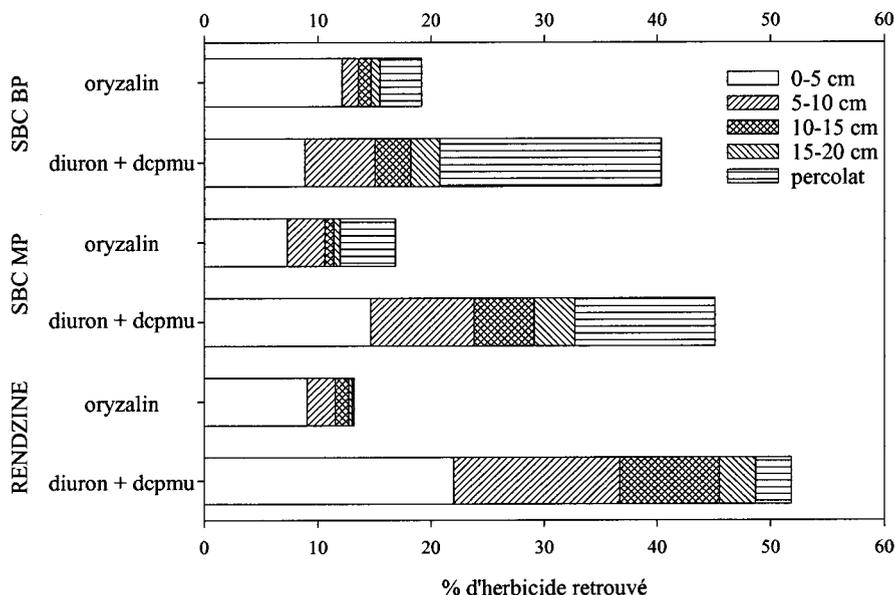


Fig. n° 3 : Quantités totales de résidus herbicides retrouvées en fonction des quantités appliquées

Conclusion

La distribution des deux herbicides dans les sols confirme leur relative mobilité dans les percolats. Au même taux d'application d'eau, la migration du diuron est supérieure à celle de l'oryzalin pour chacun des sols. Ces travaux confirment ceux de Futch et Singh (1999) quant à la mobilité plus grande du diuron par rapport à l'oryzalin. La rétention des molécules semblerait fortement liée à la teneur en carbone organique dans les horizons de surface des sols. En profondeur, la différence de structure des sols pourrait expliquer la plus forte mobilité des herbicides dans la rendzine comparée aux SBC. Des conditions expérimentales de l'étude, le lessivage au travers des trois sols viticoles, donc le risque potentiel de transfert vers les nappes phréatiques, s'avère plus important pour le diuron que pour l'oryzalin.

Références

- Dalton R.L., Evans A.W., Rhodes R.C., 1966 -Disappearance of diuron from cotton field soils, *Weeds*, 14, p. 31-33.
- Dousset S., Mouvet C., Schiavon, M., 1995 -Leaching of atrazine and some of its metabolites in undisturbed field lysimeters of three type soils, *Chemosphere*, 30 (3), p. 511-524.
- European Community, 1980 -Council Directive on the quality of water for human consumption, *Official Journal of the EC*, 80/778 EEC L229, p. 11-29.
- Field A.J., Reed R.L., Sawyer T.E., Martinez M., 1997 -Diuron and its metabolites in surface water and ground water by solid phase extraction and in-vial elution, *J. Agric. Food Chem.*, 45, p. 3897-3902.
- Fourie J.C., 1992 -Herbigation in a vineyard :persistence of four pre-emergence herbicides in a sandy loam soil, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 62 (2), p. 64-68.
- Fourie J.C., 1993 -Herbigation in a vineyard :persistence of five pre-emergence herbicides in a sandy soil, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 14 (1), p. 3-10.
- Futch S.H., Singh M., 1999 -Herbicide mobility using soil leaching columns, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62, p. 520-529.
- Golab T., Bishop C.E., Donoho A.L., Manthey J.A., Zornes L.L., 1975 -Behaviour of ¹⁴C oryzalin in soil and plants, *Pest. Biochem. and Physiol.*, 5, p. 196-204.
- Hogue E.J., Khan S.U., Gaunce A., 1981 -Leaching of four orchard herbicides in soils columns, *Can. J. Soil Sci.*, 61, p. 401-407.
- Kennedy JH., 1977 -High pressure liquid chromatographic analysis of oryzalin and other selected herbicides, *Journal of chromatographic science*, 15, p. 79-81.
- Khan S.U., Marriage P.B., Saidak W.J., 1976 -Persistence and movement of diuron and 3,4-Dichloroaniline in an Orchard soil, *Weed Science*, 24, p. 583-586.
- Madhun Y.A., Freed V.H., 1987 -Degradation of the herbicides bromacil, diuron and chloroluron in soil, *Chemosphere*, 16, p. 1003-1011.
- Monnier G., 1994 -Assemblage et organisation physique des particules, *In Bonneau M., Souchier B., Constituants et propriétés du sol, 2^{nde} édition*, p. 324-345.
- Tomlin C.D.S., 1997-The pesticide manual, BCPC, UK.
- Vey F., 1998 -Eau et produits phytosanitaires : diagnostic et plan d'action pour la reconquête de la qualité de l'eau du captage de Vosne-Romanée, *Rapport d'ingénieur ENESAD-SRPV*.

Etude des interactions des pesticides avec les apatites

STUDY OF THE INTERACTIONS BETWEEN PESTICIDES AND APATITES

A. BOUHAOUSS

Laboratoire de Chimie Physique Générale, Département de Chimie
B.P.1014 Faculté des Sciences, Rabat-Maroc
e-mail : Bouhaous@fsr.ac.ma

Résumé : La recherche des hôtes matrices solides qui peuvent piéger les micropolluants (métaux lourds, pesticides) s'avère nécessaire, afin de minimiser l'impact nocif de ces derniers sur l'environnement. Dans ce sens, nous avons alors élaboré par des méthodes adéquates, des apatites phosphocalciques carbonatées mal cristallisées analogues aux bioapatites, qui ont servi comme agent adsorbant des produits phytosanitaires. L'objectif de ce travail repose donc sur la rétention de la trifluraline et le dicofol par les apatites synthétisées dont la surface est riche en ions HPO_4^{2-} fortement réactifs et qui présentent une affinité vis à vis de ces pesticides. Le mécanisme de rétention de ces deux pesticides par les matériaux apatitiques a été discuté en se servant des résultats de la spectroscopie IR.

Abstract : Search for it some hosts strong matrixes which could trap the micropolluents (heavy metals, pesticides) prove out to be necessary, in order to minimize the harmful impact of these last on the environment. In this sense, we worked out then by some adequate methods, some carbonated phosphocalcic apatites crystallized analogous to the bioapatites, which served like adsorbent agent of the phytosanitaire products. The objective of this work rests therefore on the retention of the trifluralin and the dicofol by the synthesized apatites of which the surface is rich in ions HPO_4^{2-} greatly reactive and which presents an affinity lives to screw of these pesticides. The mechanism of retention of these two pesticides by the apatitic materials was discussed in serving some results of the IR spectroscopy.

Mots clefs : Apatites , pesticides, adsorption, désorption

Keywords : Apatites , pesticides, adsorption, desorption

1. Introduction

Les pesticides sont définis comme étant des substances toxiques destinées à lutter contre les parasites d'origine animale ou végétale. Grâce à leurs propriétés (insecticide, nématocide, acaricide, herbicide), leurs domaines d'utilisation sont très variés. C'est ainsi qu'ils permettent d'éliminer les parasites des cultures

(champignons, bactéries, nématodes, mauvaises herbes...) ou tout au moins les réduire à un seuil économiquement tolérable. Ils sont également utilisés lors du stockage des denrées alimentaires des semences pour les protéger des attaques de parasites divers. L'agriculteur n'est pas le seul utilisateur de pesticides, de nombreux autres industriels l'utilisent (les services des parcs et jardins des grandes villes). Les rejets d'industrie de fabrication de pesticides dans les rivières via des égouts sont également des sources de pollution de l'environnement et des eaux.

Parmi ces pesticides, l'imazapyr et le dicofol sont des herbicides appartenant à la famille des imidazolines et des organochlorés respectivement. Ils présentent un intérêt important vue leur utilisation dans les zones agricoles de betteraves et céréales au Maroc (région de Tadla) (1).

Pour contribuer à minimiser les risques de ces produits phytosanitaires, nous avons pensé à l'utilisation des apatites qui ont servi dans les traitements des déchets industriels et des métaux lourds (2-4). L'objectif de ce travail repose sur le phénomène d'adsorption de l'imazapyr et du dicofol par les phosphates synthétiques mal cristallisées.

2. Méthodologie expérimentale

1.1 Préparation de la matrice aptitique

L'apatite analogue aux biomatériaux, servant à la rétention des pesticides choisis a été élaborée par lyophilisation dont la méthode de préparation a été décrite récemment dans nos travaux antérieurs (5,6).

1.2 Cinétique d'adsorption

***Cas du dicofol :**

0.5 g de l'apatite AC/80 est mélangé avec 10 ml d'une solution d'hexane contenant des concentrations variées de dicofol à 20°C sous agitation mécanique. Après filtration, le dosage du dicofol dans le filtrat a été réalisé, en utilisant la spectroscopie UV-VIS (7).

***Cas de la trifluraline :**

Pour établir les cinétiques d'adsorption, 2 g de sol sont mis en suspension dans 10 ml de solution herbicide à 0,067 et 20,067 mg/l, dans des tubes en polypropylène.

Le contact adsorbant/adsorbat a été réalisé par agitation rotative dans une salle thermostatée à 20. Aux temps suivants : 0, 15, 30, 60, 120, 240, 480, 1440 et 2880 mn, pour chaque solution, 3 répétitions sont prélevées. Les phases solide et liquide sont séparées par centrifugation pendant 30 mn à 6000 g.

La radioactivité du surnageant est alors mesurée sur un aliquot de 1 ml en présence de 10 ml de scintillant (Ultima Gold, Packard) par scintillation liquide. La quantité de produit adsorbée par sol est alors calculée en prenant en compte la différence de radioactivité par référence à la solution initiale.

Parallèlement sont réalisés des blancs (absence de sol) contenant seulement les solutions radioactives, afin de vérifier l'absence d'adsorption, par exemple, de la trifluraline sur le polypropylène constituant le tube.

1.3 Isotherme d'adsorption

La procédure utilisée, dans chaque cas, est identique à celle de la cinétique d'adsorption.

3. Résultats et discussions

* Cas du dicofol

Nous avons étudié la cinétique d'adsorption par l'apatite AC/80 sur deux concentrations différentes du dicofol. Le surnageant est analysé après 2, 5, 10, 20, 80 et 160 min d'agitation. La figure 1 montre que l'équilibre est atteint après seulement 20 min. La quantité adsorbée du dicofol atteint $2.7 \cdot 10^{-6}$ et $4.2 \cdot 10^{-5}$ moles par gramme d'apatite pour des concentrations initiales du dicofol égales à $2.1 \cdot 10^{-4}$ M et $2.9 \cdot 10^{-3}$ M respectivement. Ceci montre une bonne adsorption du dicofol sur l'apatite.

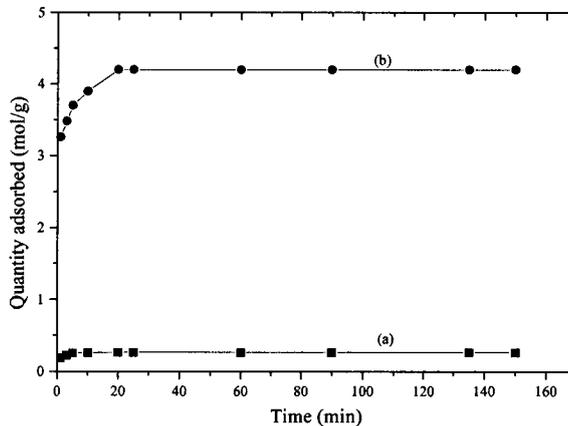


Fig. n° 1 : Cinétique d'adsorption du dicofol par l'apatite AC/80 pour deux teneurs différentes : $2,1 \cdot 10^{-4}$ M (a) ; $2,9 \cdot 10^{-3}$ M (b)

Le tracé de l'isotherme d'adsorption du dicofol a été effectué après 20 min pour les concentrations initiales suivantes : 212, 297, 594 et 1050 mg/l (figure 2). Ce résultat indique que le modèle de Freundlich décrit parfaitement l'isotherme obtenu. En effet, les isothermes d'adsorption de Freundlich peuvent être décrits par la relation suivante :

$$X/m = K_f C_e^{1/n_f}$$

Avec X/m : quantité adsorbée par unité de masse d'apatite (g/g)
 C_e : Concentration à l'équilibre dans la phase aqueuse (g/ml)
 K_f, n_f : constantes de Freundlich qui caractérisent l'isotherme d'adsorption.

A partir des valeurs expérimentales de C_e et X/m , nous avons calculé au moyen de la régression linéaire les valeurs de K_f et de n_f ; ces valeurs sont 115.7 et 0.9883 respectivement.

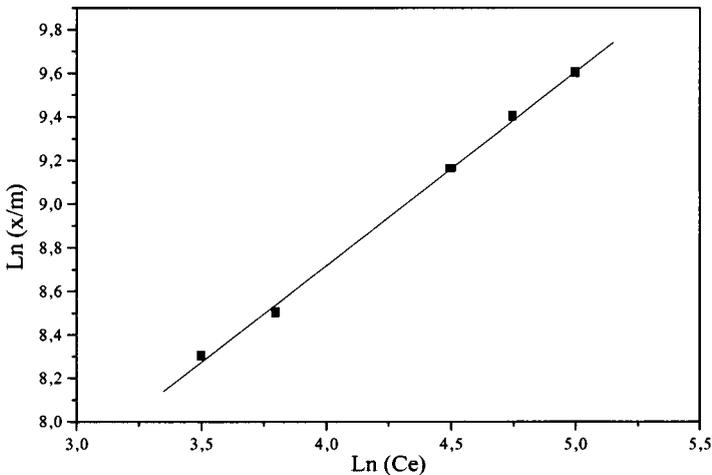


Fig. n° 2: Isotherme d'adsorption du dicofol sur l'apatite AC/80

La valeur de $1/n_f$ est proche de l'unité, ce qui indique une allure linéaire de l'isotherme d'adsorption obtenue, traduisant une répartition constante du soluté entre l'adsorbant et la solution. Tandis que le coefficient d'adsorption K_f traduit le pouvoir adsorbant de l'apatite pour le pesticide considéré. Donc, cette apatite est une bonne matrice pour l'élimination de ce pesticide.

L'apatite obtenue après la fixation du dicofol à différents temps d'agitation est séchée à l'air libre puis analysée par la spectroscopie IR. Cette dernière s'avère un bon outil pour visualiser les sites responsables de cette adsorption. D'après les spectres IR des apatites présentées à différents temps d'adsorption (figure 3), on constate que la bande vers 633 cm^{-1} attribuée à la vibration des ions OH^- dans un environnement apatitique s'intensifie graduellement de 5 min jusqu'à 20 min d'agitation. Les bandes vers 873 cm^{-1} et entre 1400 et 1500 cm^{-1} sont assignées

aux vibrations ν_2 et ν_3 des ions carbonate dans les sites des phosphates. La substitution des groupements trivalents (PO_4^{3-}) par des ions bivalents (CO_3^{2-}) dans le réseau apatitique provoque un déficit en charges négatives qui est compensé par la faible rétention des anions OH^- et par la suite la création de lacunes anioniques dans les tunnels des hydroxyles. Donc, la bande à 633 cm^{-1} attribuée aux groupements OH^- dans l'apatite de référence (AC/80) est absente ou au moins faible. L'augmentation de cette bande au cours de l'adsorption du dicofol peut alors être due à l'incorporation du groupement hydroxyle du dicofol dans les tunnels de l'apatite comme le montre sa formule développée :

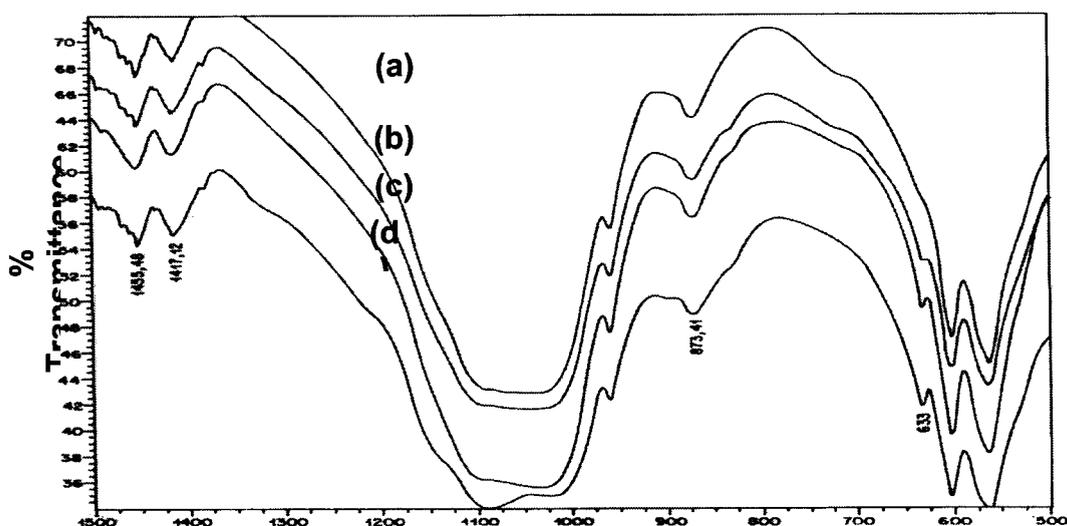
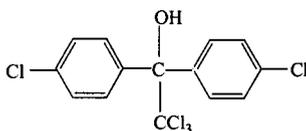


Fig. n° 3 : Spectres IR à des temps d'agitation croissants : (a) AC/80 pure ; (b) 5 min ; (c) 10 min ; (d) 20 min

*Cas de la trifluraline :

L'étude de l'adsorption de la trifluraline sur des matrices apatitiques a été également abordée au cours de cette année. Les cinétiques et les isothermes d'adsorption sont représentées respectivement par les figures 4 et 5.

Pour la cinétique, on observe une adsorption relativement intense sur un espace de temps de l'ordre de l'heure puis une chute. Cette évolution de la courbe ou "phénomène d'overshoot" pourrait être attribuée aux modifications importantes que subit l'apatite lors du contact avec la solution, aqueuse de trifluraline. On assiste alors à une compétition entre l'herbicide et l'eau vis à vis de l'adsorbant apatitique. A partir de 8 heures on atteint l'équilibre.

Les isothermes d'adsorption sont ici encore décrites par le modèle de Freundlich.

Le mécanisme d'adsorption et d'interaction, entre l'apatite et la trifluraline sera élucidé en s'appuyant sur les résultats de la spectroscopie I.R., en cours de réalisation.

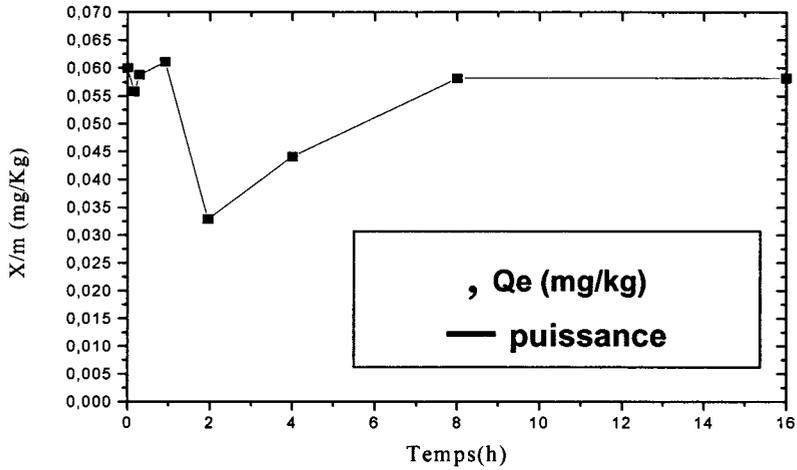


Fig. n° 4 : Cinétique de l'adsorption de trifluraline sur l'apatite non maturée

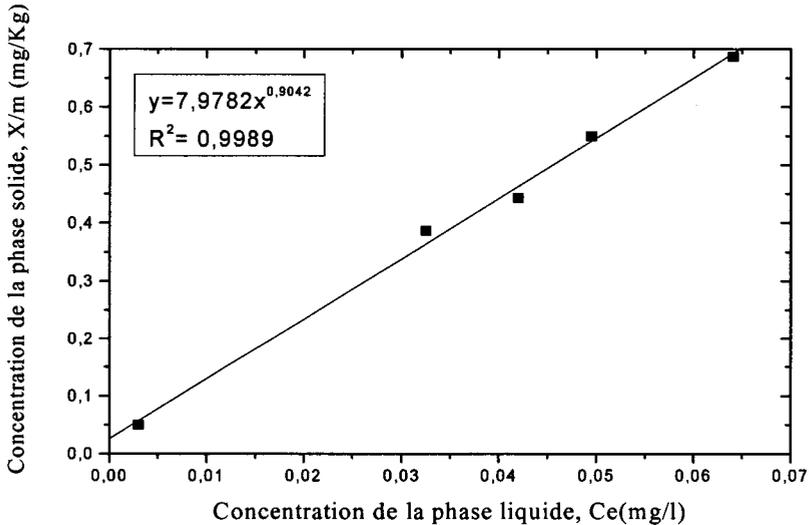


Fig. n° 5 : Isotherme d'adsorption de trifluraline sur l'apatite non maturée

4. Implications biologiques possibles

L'apatite présente une forte réactivité d'adsorption du dicofol et de la trifluraline. Rappelons que la même apatite a été aussi utilisée avec succès, dans nos travaux antérieures, pour la rétention de l'imazapyr (8). Les tissus calcifiés, qui sont généralement des apatites, présentent les mêmes réactivités vis-à-vis de l'adsorption des protéines et des peptides (9). Comme il a été prouvé, l'existence de ces pesticides dans les eaux de surface ou souterraines (10,11) peut avoir des effets nocifs sur la santé de l'Homme et l'animal puisqu'ils peuvent être facilement adsorbés par les os et les dents dont la structure est similaire à l'apatite carbonatée utilisée, et être compétitif aux molécules biologiques.

5. Conclusion

Dans ce travail, nous avons montré, en utilisant deux méthodes spectroscopiques adéquates (UV et IR) et la scintillation liquide, que les apatites peuvent servir comme agents adsorbants du dicofol et de la trifluraline. Leurs propriétés d'adsorption sont dues à leur surface riche en ions HPO_4^{2-} fortement réactifs et à l'existence des lacunes anioniques où peuvent être incorporés les groupements moléculaires.

Références

- [1] M. El Azzouzi, Thèse de Doctorat d'Etat, Université Mohamed V, Rabat (1999)
- [2] Q.Y. Ma, Environ. Sci. Technol., 28, 7, 1219 (1997)
- [3] A. Bensaoud, T. Marghich, N. El Hrech, M. El Moussaouiti, A. Bouhaouss, M. Ferhat, Ann. Chim. Sci. Mater. ; Vol.25 ; p.S103 (1999)
- [4] Y. Xu, F.W. Schwartz, Environ. Sci. Technol., 28, n°8, 1472 (1994).
- [5] A. Bensaoud, M. El Azzouzi, E. Mechrafi, A. Bouhaouss, A. Dahchour, M. Mansour ; Fresenius Environ. Bull., 8 : 486 (1999)
- [6] A. Bensaoud, A. Bouhaouss, M. Ferhat, C. Rey, Ann. Chim. Sci. Mater. (accepté)
- [7] K.Aboufadi, A. Bensaoud, K.El Kacemi, M. El Azzouzi, A. Bouhaouss, M.Schiavon ; Fresenius Environ. Bull., Vol.10 ; N° 2 : p.174 (2001)
- (8) A.bouhaouss, A.Bensaoud, M.El Azzouzi, C.Perrin-Ganier, M.Schiavon ; Chem.News, Vol.1 ; p.115 (2001)
- [9] O.Suzuki, Y.Yagishita, T.Amamo, and T.Aoba J.Dent. Res. 74(11), Nov 1764 (1995).
- [10] E.I.F. Pearce, Calcif. Tissue Int, 33, 395 (1981)
- [11] Carole Kérvéran-Moreau, Doctorat National, Université d'Orléans (1998).

Effet biostimulant d'une culture de maïs sur la capacité d'un sol à dégrader l'atrazine

PIUTTI S., MARTIN-LAURENT F., ROUSSEAU S., HALLET S., LAGACHERIE B. ET SOULAS G.

INRA-CMSE

Laboratoire de Microbiologie des Sols

17, rue de Sully

BP 86510

21065 Dijon Cedex

Résumé : L'effet d'une culture de maïs sur la dégradation microbienne de l'atrazine dans un sol a été étudié lors d'un essai en serre constitué de pots contenant du sol mis en présence ou non de maïs et/ou d'atrazine. A la fin du cycle cultural, un effet plante très significatif a été mis en évidence sur la biomasse microbienne. De plus, les sols ayant reçu de l'atrazine lors du cycle cultural présentent, dans un test réalisé au laboratoire, une minéralisation de l'atrazine significativement plus rapide sans corrélation avec la biomasse microbienne. La structure des communautés microbiennes analysée par RISA sur l'ADN extrait directement du sol est modifiée en sol cultivé par comparaison au sol nu. Par contre le traitement avec de l'atrazine en serre ne la modifie pas. Une quantification de la présence du gène *atzC* dans les échantillons a été menée par PCR gicogne compétitive. Ce gène est initialement présent en plus grande quantité dans les sols cultivés et est détecté de façon transitoire après le retraitement avec de l'atrazine pour atteindre un maximum après 4 jours en sols cultivés et 7 jours en sol nu. Finalement il apparaît que le maïs stimule la biodégradation de l'atrazine dans ce sol en assurant une meilleure survie des communautés dégradantes par rapport au sol nu.

Introduction générale

Face à la dispersion des substances actives dans l'environnement, une directive européenne concernant la qualité des eaux destinées à la consommation fixe à 0,1µg/l la concentration maximale admissible pour les résidus. En respect de cette norme les pouvoirs publics ont mis en place au niveau national des suivis de qualité des eaux superficielles et profondes. Parmi les contaminants les plus fréquemment retrouvés dans les analyses d'eau (ressources superficielles ou souterraines) des points de prélèvements du réseau de surveillance français, l'atrazine et ses métabolites de dégradation constituent un réel problème. En ce qui concerne la persistance de l'atrazine, le temps de demi-vie de ce produit au champ est très variable et s'étend d'un mois (Seiler *et al.*, 1992) à un an. Des applications répétées d'un même pesticide sur un sol peuvent conduire au développement de populations microbiennes très actives capables de le dégrader

totalemment et de façon très rapide. Ce phénomène est connu sous le nom de biodégradation accélérée. Des études ont ainsi montré qu'après des applications répétées d'atrazine certains sols présentent une capacité accrue de dégradation de l'atrazine (Barriuso et Houot, 1996 ; Pussemier *et al.*, 1997).

Face aux problèmes de contamination des sols et des ressources en eau par les produits phytosanitaires, différentes techniques de bioremediation sont envisageables. La contamination de l'environnement par les produits phytosanitaires résulte majoritairement des interactions sol-pesticides avant la dégradation. La présence d'une couverture végétale comme les bandes enherbées peut donc limiter l'érosion et le transport des produits vers les ressources en eau (Patty *et al.*, 1997). D'autre part, la présence d'une plante peut accélérer la dégradation des polluants organiques par stimulation de l'activité microbienne de façon à limiter les transferts. Cette stimulation ou rhizodégradation est surtout utilisée dans le cas des pollutions par des composés organiques type pesticides, PCB ou HAP (Hsu et Bartha, 1979 ; Reddy et Sethunathan, 1983, Shimp *et al.*, 1993, Anderson et Coats, 1995; Anderson *et al.*, 1995; Buyanovsky *et al.*, 1995 ; Shann, 1995; Boyle et Shann, 1995, 1998; Haby et Crowley , 1996).

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail consiste à étudier l'effet bio-stimulant d'une culture de maïs, sur la capacité initiale d'un sol à dégrader l'atrazine. Après 8 semaines de culture en serre et le traitement des sols avec de l'atrazine, nous avons testé au laboratoire la capacité de dégradation de ce produit sur les sols (témoins et traités) restés 8 semaines en serre. La détermination de la biomasse microbienne a été effectuée sur les différents échantillons de sol de façon à tenter d'expliquer les différences de minéralisation par cet indice global. Enfin pour essayer de mieux comprendre la mise en place de la biodégradation accélérée, nous avons extrait l'ADN des sols pour tenter de mettre en évidence des différences génétiques (modification de la structure des communautés bactériennes et présence des gènes de dégradation de l'atrazine) au sein des échantillons de sols nus ou cultivés traités ou non avec de l'atrazine.

Matériels et méthodes

1. Sol

Le sol utilisé pour cette étude a été collecté dans une parcelle du domaine expérimental de la Bouzule (ENSAIA Nancy) sur une épaisseur de 20 cm. Les caractéristiques du sol les suivantes : 51,3% de limon, 33,3% d'argile, 15,4% de sable, 26,4% de matière organique, pH 5,8. La parcelle n'a pas reçu d'atrazine depuis 1991. Le sol, tamisé à 5 mm, est placé dans des pots en PVC de 2,5 litres sur un filet de billes d'argile expansée.

2. Dispositif expérimental

Quatre traitements ont été choisis pour étudier l'effet du maïs sur la dégradation de l'atrazine dans le sol : sol non cultivé (SN), sol non cultivé traité avec de l'atrazine en serre (SNT), sol cultivé en maïs non traité (M) et sol cultivé en maïs traité avec de l'atrazine en serre (MT). Pour chaque traitement, 5 répétitions ont été réalisées. Les graines de maïs ont été stérilisées avec de l'hypochlorite de calcium (33 mg/l) pendant 5 minutes puis sont rincées à l'eau permutée stérile avant d'être semées (4 graines par pot). Le traitement avec l'atrazine non formulée s'effectue directement après le semis à raison de 1,5 mg/kg de sol (équivalent poids sec). L'essai est conduit selon un dispositif en randomisation totale et les pots subissent une rotation journalière. Les conditions de la culture en serre sont les suivantes, photopériode de 11 heures, température de 19°C de jour et 15°C de nuit, d'hygrométrie de 60%. Les pots «sont arrosés» au poids tous les 2 jours avec de l'eau permutée (sol nu) ou de la solution nutritive dans le cas des sols cultivés de façon à maintenir l'humidité du sol à 80% de la capacité au champ. Après 8 semaines de culture, tous les pots sont récoltés et les échantillons de sol sont récupérés pour réaliser des tests en laboratoire.

3. Etudes microbiennes réalisées sur les sols au laboratoire

3.1 Tests de minéralisation d'atrazine marquée au carbone 14 dans le sol

La minéralisation de l'atrazine au laboratoire a été étudiée sur les sols issus de l'essai en serre (sol non cultivé et sol cultivé en maïs non traités, sol non cultivé et sol cultivé en maïs traités à l'atrazine en serre). Les tests s'effectuent en enceinte radiorespirométrique étanche. Il s'agit de bocal dans lequel on place, un pot en verre contenant le sol traité (10 g équivalent poids sec), une fiole à scintillation liquide contenant 5 ml de soude 0,2 M qui assure le piégeage du $^{14}\text{CO}_2$ dégagé lors de l'incubation et une fiole à scintillation liquide contenant 10 ml d'eau permutée afin d'assurer la saturation en eau de l'atmosphère du bocal. Dix grammes de sol équivalent poids sec sont placés dans un pot en verre. L'humidité est ajustée à 100% de la capacité de rétention du sol en tenant compte des 0,5 ml de solution aqueuse contenant le produit radioactif. Le traitement apporte 1,5mg/kg de sol du produit et environ 1,7 kBq par échantillon. L'incubation en bocal se fait dans une salle climatisée à 20°C. Un échantillon de sol par pot du dispositif en serre est testé. Les pièges de soude sont prélevés et remplacés régulièrement. Le $^{14}\text{CO}_2$ piégé est dosé à l'aide d'un compteur à scintillation liquide (Packard 1900TR-Tri-carb) après ajout de liquide scintillant (ACS II, Amersham).

Parallèlement à cette cinétique de dégradation d'atrazine marquée, une cinétique avec de l'atrazine froide a été effectuée et aux mêmes temps de prélèvement des

pièges, des aliquotes de 250 mg de sol ont été prélevés et congelés à -80°C dans le but de réaliser des études moléculaires.

3.2 Mesure de la biomasse microbienne des échantillons

Afin d'évaluer le carbone présent dans les micro-organismes des différents échantillons de sol, nous avons utilisé la technique de fumigation-extraction (Vance *et al.*, 1987). Cette méthode permet de déterminer le carbone organique extractible du sol suite à un traitement biocidal. Le traitement utilisé est une fumigation du sol avec des vapeurs de chloroforme pendant 16 heures sur des échantillons de 10 g équivalent poids sec. Parallèlement à cela, des échantillons témoins non fumigés sont pesés. L'extraction du carbone organique est réalisée sous agitation pendant 45 minutes à l'aide de 50 ml d'une solution de K_2SO_4 25mM sur les échantillons fumigés et sur les témoins. Ensuite les échantillons après décantation ont été filtrés sur papier Whatman® en fibres de verre. Enfin les échantillons ont été conservés à -20°C après ajout de 3 à 4 gouttes d'acide orthophosphorique pur (stabilisation par acidification). Le carbone extractible a été mesuré par une technique initialement suggérée par Chaussod *et al.* (1988) puis reprise par Wu *et al.* (1990). Il s'agit d'un dosage du CO_2 issu de l'oxydation du carbone sous UV en présence de persulfate de potassium (Dohrman DC80). Les résultats sont donnés en milligrammes de carbone par litre. Les résultats obtenus à partir des échantillons non fumigés (carbone organique non microbien) sont retranchés de ceux des échantillons fumigés (carbone organique non microbien + carbone organique microbien). Les valeurs obtenues sont ensuite divisées par le coefficient d'extractibilité du sol ou K_{EC} . La valeur finale du résultat est exprimée en mg de carbone/kg de sol.

4. Analyses moléculaires réalisées sur les sols au laboratoire

Ces études ont été réalisées pour tenter d'expliquer les différences de minéralisation de l'atrazine dans les échantillons de sol.

4.1 Extraction d'ADN du sol

Le sol (250 mg) congelé après prélèvement aux différents temps de la cinétique « froide » de dégradation de l'atrazine est soumis à une extraction afin de purifier les acides nucléiques (ADN). Le protocole d'extraction mis au point au laboratoire (Martin-Laurent *et al.*, 2001a), consiste à mettre en présence 0,25g de sol et des billes (106 μm et 1mm) dans un tampon d'extraction et à extraire l'ADN par lyse mécanique et centrifugations successives en présence de différents tampons. Après précipitation à l'isopropanol et lavage à l'éthanol 70%, l'ADN est purifié sur colonne de Sépharose, récupéré et congelé jusqu'à son utilisation. L'ADN extrait

de chaque échantillon de sol est dosé à 260 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Chaque ADN est dilué de façon à obtenir une concentration finale de 10 ng/μl.

4.2 Analyse de la région intergénique de l'ADNr 16S (RISA)

Il s'agit d'amplifier la région intergénique de l'opéron ribosomique comprise entre les deux gènes codant pour l'ADNr 16S et 23S. Deux amorces universelles (72F et 38R) ont été utilisées car elles se situent dans les zones conservées de ces deux gènes. Contrairement à l'ADNr 16S, la région intergénique 16S-23S n'est pas soumise à une pression de sélection. Elle présente par conséquent un polymorphisme de longueur qui permet une analyse de la diversité au niveau de l'espèce.

La réaction est conduite dans un volume de 25μl contenant 2,5μl de tampon Taq polymérase 10X, 200μM de chaque dNTP, 1,5 mM de MgCl₂, 1μM de chaque amorce, 1,25 U de Taq polymérase et 25ng d'ADN. La PCR a été réalisée dans un thermocycleur programmable constitué d'un bloc chauffant à effet Pelletier (PTC 200, MJ Research). Le nombre de cycles effectués est ici de 35. Après amplification les produits sont séparés sur un gel vertical à 6% d'acrylamide. La migration s'effectue pendant 17 heures à 8 mA. Les gels sont révélés après coloration à l'aide d'un intercalant (Sybr green) pendant 35 minutes et ils sont lus au phospho-imager à l'aide d'un détecteur à fluorescence bleue (λ_{ex} 450 nm, λ_{em} 520 nm).

4.3 Quantification du gène *atzC* par PCR compétitive dans les échantillons de sol

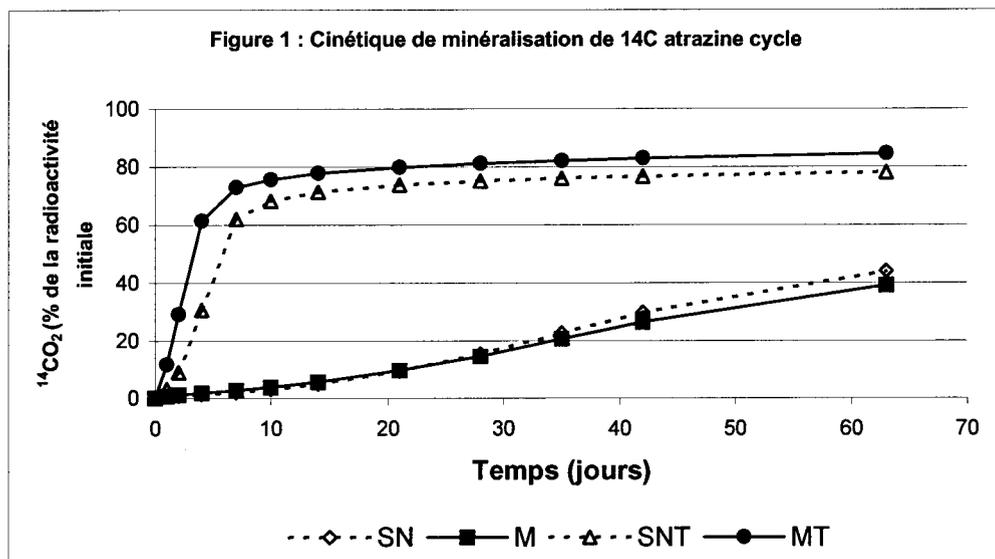
Sur chaque ADN extrait des échantillons de sol, nous avons tenté d'amplifier le gène *atzC* avec les amorces décrites par de Souza *et al.* (1998). Après une amplification unique, les produits correspondant au gène *atzC* n'ont pas pu être mis en évidence. Par conséquent, une PCR gigogne constituée de deux amplifications successives a été mise au point (Martin-Laurent *et al.*, 2001b) afin d'augmenter la sensibilité de la réaction.

La réaction de l'amplification primaire est réalisée avec les amorces NatzC et CR. L'amorce NatzC a été dessinée dans la séquence du gène *atzC* en amont de l'amorce CR décrite par de Souza *et al.* (1998). La PCR primaire génère un produit de 734 pb. Pratiquement, à l'issue de la PCR primaire, les amplifiats sont dilués au 1000^{ème} et sont repris comme ADN cible pour la PCR secondaire. En plus de cet ADN cible, on ajoute dans chaque tube de réaction une quantité identique d'ADN étalon interne. (constitué du fragment du gène *atzC* amplifié et délété de 70 pb). Une gamme étalon a été réalisée à partir d'une quantité d'ADN connue (ADN de la souche ADP isolée par Mandelbaum *et al.* 1995) et de l'étalon interne afin de pouvoir quantifier l'ADN cible. Après ces 2 amplifications successives, les produits d'amplification sont séparés sur un gel natif à 1,8 % d'agarose. Après migration à

80V, le gel est coloré 15 minutes dans une solution de bromure d'éthidium (2µg/ml), brièvement rincé à l'eau et révélé sous UV.

Résultats

1. Minéralisation de l'atrazine (figure 1)



Deux types de courbes se distinguent. Le premier type concerne les sols traités une première fois en serre avec de l'atrazine (SNT et MT) tandis que le deuxième type regroupe les sols non traités en serre (SN et M). Dans le premier cas, les courbes présentent les caractéristiques d'une adaptation à la dégradation de l'atrazine c'est à dire une phase de latence inexistante, une durée de demi-vie très réduite (entre 3 et 5 jours) et enfin un plateau atteignant plus de 80%. Les courbes de minéralisation relatives aux deux autres sols non traités en serre présentent des caractéristiques de sols en cours d'adaptation présentant une phase de latence d'environ 10 jours.

Afin de comparer l'effet des facteurs présence/absence de maïs et traitement ou non à l'atrazine sur la minéralisation de l'atrazine, nous avons choisi d'ajuster un modèle mathématique sur les courbes afin de déterminer les paramètres du modèle pour chaque échantillon de sol. Le modèle retenu est le modèle cinétique de Gompertz déjà utilisé pour son adéquation aux cinétiques de minéralisation (Soulas, 1993). Un terme linéaire a été ajouté à l'équation du modèle afin de tenir

compte du turnover du 14C-carbone au sein de la biomasse. L'équation de ce modèle est alors :

$$CO_2 = p \cdot \exp[-\exp(-k(t-t_i))] + c \cdot t$$

L'interprétation des paramètres est la suivante :

- p représente le pourcentage de minéralisation maximal atteint au plateau
- k représente la constante de vitesse de minéralisation
- t représente le temps
- t_i représente l'abscisse du point d'inflexion
- c représente le pourcentage de minéralisation du carbone microbien par unité de temps.

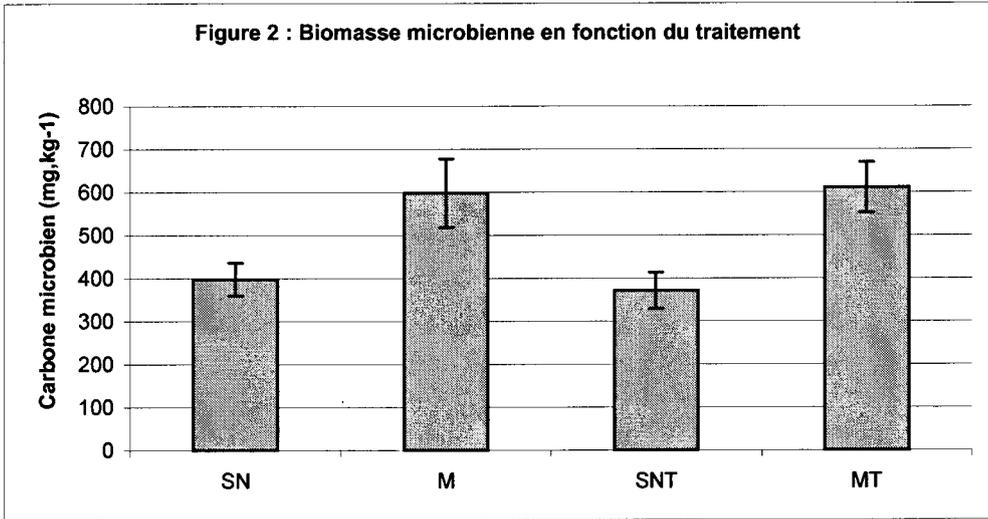
L'ajustement du modèle a été réalisé sur le logiciel Sigmaplot c de la société SPSS Inc. Les paramètres obtenus pour les cinétiques de minéralisation de l'atrazine marquée sur le cycle sont les suivants :

	SN	M	SNT	MT
p	43,9 a	48,7 a	71,1 b	75,4 b
k	0,056 a	0,042 a	0,5 b	0,71 c
t _i	32,83 a	33,31 a	3,58 b	1,92 c
c	0,14 ND	0,04 ND	0,12 ND	0,167 ND

Une analyse de variance a été réalisée sur les paramètres obtenus à partir de la modélisation de chaque courbe de minéralisation obtenue pour chaque échantillon de sol issu d'un cycle de culture en serre. Cette analyse met en évidence un effet très significatif du traitement atrazine en serre sur les paramètres cinétiques, p, k et t_i. De plus, pour les paramètres k et t_i, l'effet plante en sols traités est significatif. Ainsi par comparaison au sol nu, la vitesse de minéralisation est plus importante et la valeur de l'abscisse du point d'inflexion est réduite.

2. Mesure de la biomasse microbienne (figure 2)

La détermination du carbone microbien a été effectuée sur chaque échantillon de sol dès sa sortie de serre. La biomasse microbienne est significativement supérieure ($p < 0,05$) en sol cultivé qu'en sol nu. Par contre l'application d'atrazine en serre n'induit aucun changement significatif par comparaison aux valeurs de biomasse déterminées dans les sols non traités.



3. Etudes moléculaires sur les différents échantillons de sol

3.1 Etude des communautés microbiennes du sol

Les profils RISA des sols traités à l'atrazine une première fois en serre et retraités lors de la cinétique de dégradation au laboratoire (figure 3) laissent apparaître une différence entre les sols cultivés en maïs (pistes MT) et les sols nus (pistes SNT). Comme précédemment, les bandes majoritaires en sols nus (SNT) présentent une intensité plus faible dans les sols cultivés (MT). Il semblerait donc que la culture du maïs modifie la structure des communautés présentes dans le sol, essentiellement en modifiant l'équilibre des phylotypes présents initialement.

Figure 3

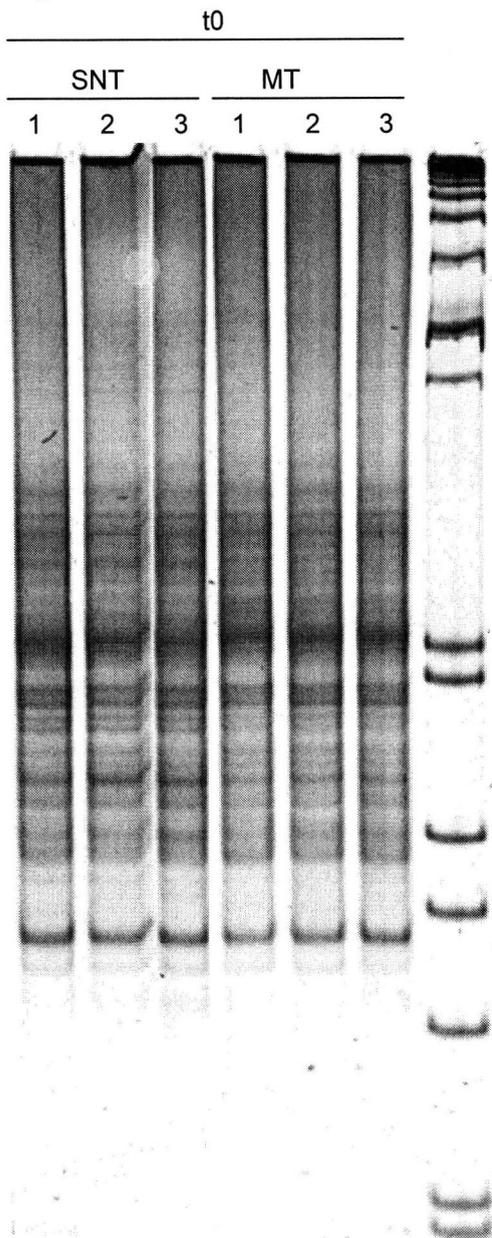
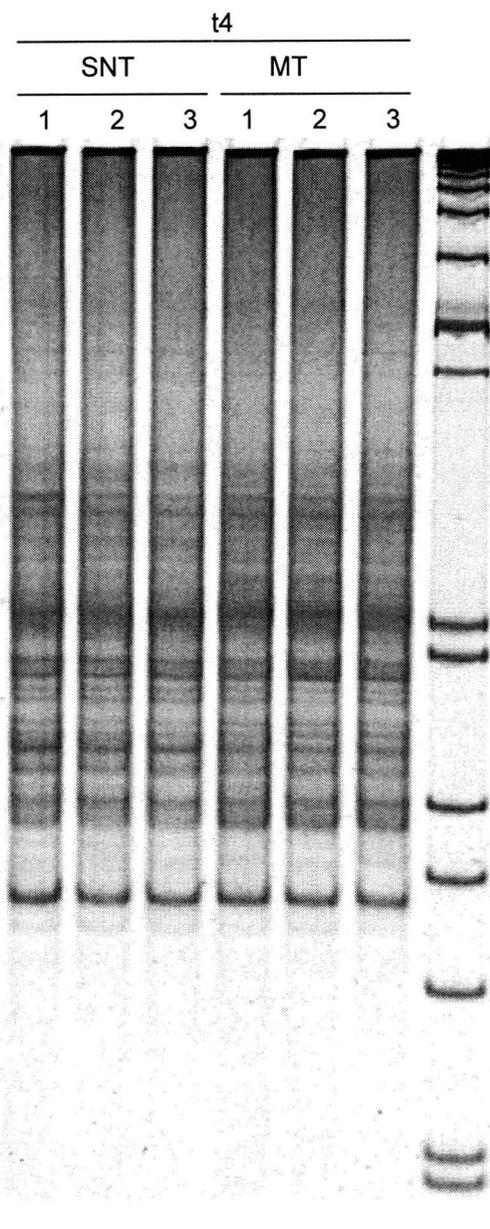


Figure 4

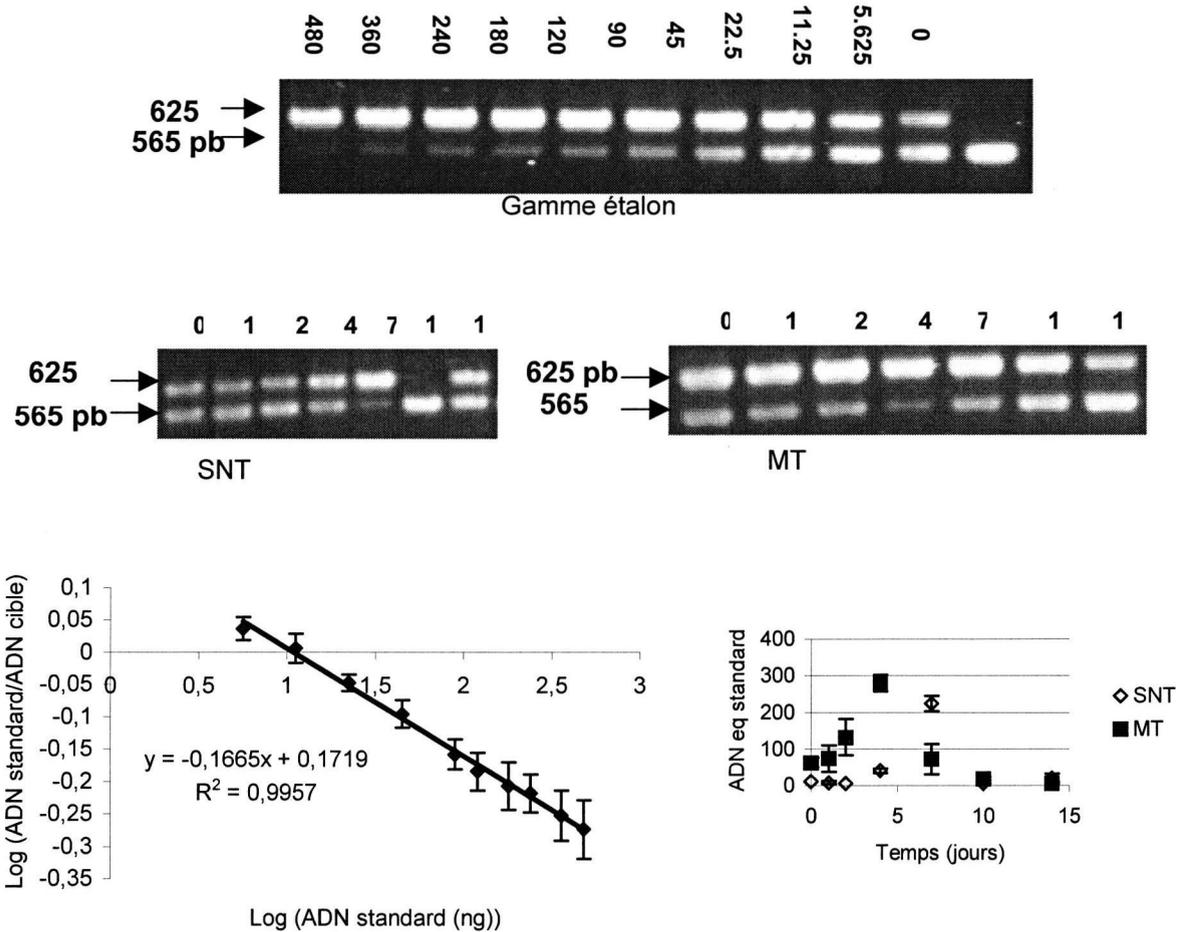


Si on compare les profils obtenus sur les échantillons prélevés aux différents temps de la cinétique de dégradation de l'atrazine au laboratoire, on retrouve à nouveau le même profil qu'à t0 (figure 4). Le traitement avec l'atrazine au laboratoire n'induit pas l'apparition de bandes nouvelles sur le profil.

3.2 Essai de quantification du gène *atzC* dans le sol

Des essais d'amplification des gènes de dégradation de l'atrazine sur les ADN extraits des différents sols ont été effectués. Les premières conclusions de cet essai montrent qu'après une amplification directe avec les amorces du gène *atzC*, aucun produit d'amplification n'est détecté. De ce fait l'utilisation de la PCR gigogne a été envisagée pour mettre en évidence ce gène dans les échantillons de sol. Pour permettre la quantification du gène dans les différents échantillons de sol, une gamme étalon a été établie avec différentes quantités d'ADN (de 5.6 à 480 ng/μl) de *Pseudomonas* ADP, souche référence possédant une copie du gène *atzC*. Les résultats de la PCR gigogne compétitive sont présentés sur la figure 5. Les résultats de cette expérience sont représentés sur la figure ci-dessous.

Figure 5



Les résultats montrent que la quantité de gène *atzC* détecté varie au cours du temps et en fonction du type d'échantillon (SN ou M). Plus précisément, au début de la cinétique (temps 0), le gène *atzC* est déjà cinq fois plus présent dans les échantillons de sol cultivés et traités en serre que dans les sols nus traités. De plus, la quantité détectée du gène *atzC* augmente de manière transitoire. En effet, pour les sols cultivés traités, elle augmente au cours de la cinétique pour atteindre un maximum à 4 jours et diminue en fin de cinétique. Pour les sols nus traités, après une phase de latence de t_0 à t_2 , la quantité de gène *atzC* détectée augmente jusqu'à t_7 puis diminue jusqu'à t_{14} .

Discussion et conclusion

La culture d'une même plante de façon successive dans un sol est à l'origine d'une augmentation du carbone et de la biomasse microbienne dans ce dernier. En effet, la présence de la plante dans le sol produit un effet rhizosphère qui se traduit par une augmentation du nombre et de l'activité des micro-organismes (Haller et Stolp, 1985). L'expérimentation que nous avons menée confirme ce phénomène qui a pu être observé à la fin culture de maïs. En effet, le carbone microbien a significativement été augmenté dans les sols cultivés par comparaison aux sols nus.

En ce qui concerne la mise en place de l'adaptation du sol à dégrader l'atrazine, il semble que le facteur essentiel soit l'application du produit. En effet, une application en serre suivie d'un retraitement au laboratoire 8 semaines après sur un sol qui n'a pas reçu d'atrazine depuis une dizaine d'années suffit à mettre en place la biodégradation accélérée de l'atrazine. De plus, la dégradation démarre significativement plus vite dans les sols cultivés avec du maïs que dans les sols nus. Cette différence dans les vitesses initiales de minéralisation pourrait être due à un effet bénéfique de la plante durant la culture sur l'installation puis le maintien des populations capables de dégrader l'atrazine dans les sols. Alvey et Crowley (1996) avaient avancé la même hypothèse pour expliquer la survie 30 fois plus importante d'un consortium dégradant l'atrazine en sol cultivé en maïs qu'en sol nu sachant que la plante n'affecte pas directement la minéralisation du produit. Pour les sols n'ayant reçu aucun traitement avec de l'atrazine en serre, la capacité de minéralisation au laboratoire est significativement plus faible que dans les sols traités en serre. On retrouve donc l'effet incontournable de l'atrazine sur la mise en place de sa dégradation accélérée. Si le traitement avec l'atrazine est déterminant pour la mise en place de l'adaptation du sol utilisé, il ne produit pas d'effet significatif sur la biomasse microbienne. Les traitements répétés à l'atrazine semblent sélectionner spécifiquement une partie de la microflore du sol particulièrement capable de dégrader ce produit. Les résultats de l'étude moléculaire montrent que la structure des communautés bactériennes est modifiée dans les sols cultivés par rapport aux sols nus. En effet, il a été notamment observé que l'intensité des phylotypes majoritaires dans le sol nu était diminuée dans le sol cultivé. La culture du maïs induit certainement la mise en place de conditions écologiques différentes dans le sol par rapport à un sol nu. Notamment,

la plante peut exercer une sélection des bactéries les mieux adaptées à la rhizosphère. De plus, l'atrazine ne semble pas induire l'apparition de bandes spécifiques au niveau des profils RISA. Les bactéries capables de dégrader l'atrazine représentent une proportion très faible des bactéries totales du sol. La technique RISA utilisée ici permet de révéler les phylotypes majoritaires. Elle n'est peut être pas assez sensible pour mettre en évidence l'apparition en faible nombre d'espèces dégradantes au sein des échantillons de sol analysés.

Les essais de quantification du gène *atzC* par PCR gigogne compétitive montrent que la présence du gène *atzC* est 5 fois plus importante en début de cinétique de dégradation (temps 0) dans les sols cultivés que dans les sols nus. Ceci rejoint les conclusions précédentes quant à l'effet bénéfique de la culture de maïs sur le potentiel de dégradation du sol. L'augmentation transitoire de la quantité de ce gène dans les échantillons de sols traités révèle un effet stimulant de l'application d'atrazine sur le niveau de présence du gène *atzC*, d'où l'hypothèse d'une prolifération très rapide des micro-organismes possédant le gène *atzC*, capables de dégrader l'atrazine. La présence initiale plus importante de ce gène dans les sols cultivés est probablement responsable du démarrage plus rapide (vitesse initiale supérieure en sols cultivés) de la minéralisation de l'atrazine dans les sols cultivés que dans les sols nus. De plus, l'évolution de la présence du gène *atzC* dans les échantillons est corrélée à la cinétique de minéralisation obtenue. La quantification par PCR gigogne compétitive apparaît donc comme un indicateur permettant le suivi des populations dégradantes dans le sol.

Références bibliographiques

- Alvey, S. et D.E. Crowley (1996). Survival et activity of an atrazine-mineralizing bacterial consortium in rhizosphere soil. *Environ. Sci. Technol.* 30:1596-1603.
- Anderson, T.A., et J.R. Coats (1995). Screening rhizosphere soil samples for the ability to mineralize elevated concentrations of atrazine and metolachlor. *J. Environ. Sci. Health.* B30:473-484.
- Anderson, T.A., White, D.C. et B.T. Walton (1995). Degradation of hazardous organic compounds by rhizosphere microbial communities. *Biotransformations: Microbial Degradation of Health Risk Compounds*. Ved Pal Singh, editor. Elsevier Science B.V. 205-225.
- Barriuso E. et Houot S. (1996). Rapid mineralization of s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. *Soil Biol. Biochem.*, 28 : 1341-1348.
- Boyle, J.J. et J.R. Shann (1995). Biodegradation of phenol, 2,4-DCP, 2,4-D et 2,4,5-T in field-collected rhizosphere et non rhizosphere soils. *J. Environ. Qual.* 24:782-785.
- Boyle, J.J. et J.R. Shann (1998). The influence of planting et soil characteristics on mineralisation of 2,4,5-T in rhizosphere soil. *J. Environ. Qual.* 27:704-709.

- **Buyanovsky, G.A., Kremer, R.J., Gajda, A.M. et H.V. Kazemi** (1995). Effect of corn plants et rhizosphere populations on pesticide degradation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55:689-696.
- **Chaussod R., Houot S., Guiraud D. et Hétier J.M.** (1988). Size and turnover of the microbial biomass in agricultural soils : laboratory and field measurements. In Nitrogen efficiency in agricultural soils, Eds., Jenkinson DS and Smith KA, 312-326 Elsevier Applied Science, Amsterdam.
- **de Souza M.L., Newcombe D., Alvey S., Crowley D.E., Hay A., Sadowsky M.J. et Wackett L.P.** (1998). Molecular basis of a bacterial consortium : interspecies catabolism of atrazine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 178-184.
- **Haby, P.A. et D.E. Crowley** (1996). Biodegradation of 3 chlorobenzoate as affected by rhizodeposition et selected carbon substrates. *J. Environ. Qual.* 25:304-310.
- **Haller, T. et H. Stolp** (1985). Quantitative estimation of root exudation of maize plants. *Plant and Soil.* 86:207-216.
- **Hsu, T.S. et R. Bartha** (1979). Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 37:36-41.
- **Mandelbaum R.T., Allan D.L. et Wackett L.P.** (1995). Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 1451-1457.
- **Martin-Laurent, F., Philippot, L., Hallet, S., Chaussod, R., Germon, J.C., Soulas, G. et G. Catroux** (2001a). DNA extraction from soils : old bias for new microbial diversity analysis. *Applied and Environmental Microbiology.* 65:1-6.
- **Martin-Laurent, F., Piutti, S., Hallet, S. et G. Soulas** (2001b). Nested competitive PCR as a new tool to monitor 16S, 18S and atzC genes directly from DNA extracted from soils. En preparation pour AEM.
- **Patty L., Réal B. et J.J. Gril** (1997). The use of grassed buffer strips to remove pesticides, nitrate and soluble phosphorus compounds from runoff water. *Pesticide Science.* 49:243-251.
- **Pussemier L., Goux S., Vanderheyden V., Debongnie P., Tresinie I. et Foucart G.** (1997). Rapid dissipation of atrazine in soils taken from various maize fields. *Weed research,* 37: 171-179.
- **Reddy, B.R. et N. Sethunathan** (1983). Mineralization of parathion in the rice rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:826-829.
- **Seiler A., Brenneisen P. et Green D.H.** (1992). Benefits and risks of plant protection products-possibilities of protecting drinking water : case of atrazine. *Water Supply,* 10:31-42.
- **Shann, J.R.** (1995). The role of plants et plant/microbial systems in the reduction of exposure. *Environmental Health Perspectives.* 103:13-15.
- **Shimp, J.F., Tracy, J.C., Davis, L.C., Lee, E., Huang, W. et L.E. Erickson** (1993). Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials. *Critical reviews in environmental science et technology.* 23:41-77.
- **Soulas G.** (1993). Evidence for the existence of different physiological groups in the microbial community responsible for 2,4-D mineralization in soil. *Soil Biol., Biochem.* 4:443-449.

- **Vance E.D., Brookes P.C. et Jenkinson D.S.** (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19: 703-707.
- **Wu, J., Brookes, C. et D.S. Jenkinson** (1990). Evidence for the use of a control in the fumigation incubation method for measuring microbial biomass carbon in soil. *Soil Biol. Biochem.* 28:511-518.

Mise en evidence du transfert de pesticides d'origine agricole dans l'atmosphère sur deux sites urbain et rural en région Ile de France.

EVIDENCE FOR THE ATMOSPHERIC TRANSFER OF AGRICULTURAL PESTICIDES ON TWO CITY AND RURAL SITES IN THE ILE-DE-FRANCE REGION.

Jean-Jacques AARON,^{a*} Pierre PERNOT,^{a**} Jean-Paul QUISEFIT^b,
Didier TESSIER et Johann PINART^c

^a Institut de Topologie et de Dynamique des Systèmes de l'Université Paris 7-Denis Diderot, associé au CNRS, 1, rue Guy de la Brosse, 75005 Paris.

^b LISA, UMR CNRS 7583, Université Paris 7 et Paris 12, Faculté des Sciences, 61, avenue du Général de Gaulle, 94010 Créteil Cédex.

^c Equipe Plasma Chimie de l'Atmosphère, ITODYS, Université Paris 7, 1, rue Guy de la Brosse, 75005 Paris.

* Auteur pour la correspondance

** Adresse actuelle : Lig'Air, 135 Faubourg Bannier 45000 Orléans

Résumé : Du fait des techniques d'épandage utilisées, l'emploi des pesticides dans l'agriculture peut entraîner le transfert de produits phytosanitaires dans l'atmosphère et leur diffusion en zone urbaine exempte d'activité agricole. Or, différentes études toxicologiques ont montré les effets néfastes de ces produits sur la santé humaine. Il s'avère donc important d'évaluer précisément l'impact géographique de cette pollution. Dans ce travail, nous avons établi des procédures analytiques permettant de prélever, caractériser et quantifier les pesticides d'origine agricole dans l'atmosphère et nous les avons appliquées dans la région Ile-de-France. Les prélèvements ont été effectués sur des sites urbain (Paris) et rural (Aube) à l'aide de pompes à fort débit ($15 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) sur des filtres en quartz et des mousses de polyuréthane. Après extraction des échantillons et concentration des solutions récupérées, les analyses ont été réalisées par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) avec détection UV. La présence de traces d'atrazine, d'acide chlorophénoxyalcanoïques (mécoprop, MCPA, 2,4-D, MCPB) et de linuron a pu être mise en évidence dans les échantillons atmosphériques étudiés. Des niveaux de pesticides compris entre 0,5 et 43 ng/m^3 d'air ont été quantifiés sur le site urbain, selon la nature du composé et les conditions météorologiques, indiquant des phénomènes notables de transport de ces produits phytosanitaires dans l'atmosphère.

Abstract : *Because of the spreading techniques which are being utilized in agriculture, the use of pesticides in the fields can provoke the transfer of these compounds in the atmosphere and their diffusion in urban areas not concerned by agricultural activity. A number of toxicological studies have shown the harmful effects of pesticides on human health. Therefore, it is important from the environmental standpoint to precisely evaluate the*

geographic impact of this type of pollution. The aim of this work was to establish the analytical methods needed for the sampling, characterization and determination of agricultural pesticides in the atmosphere, and to apply these methods in the Ile-de-France region. The samplings were carried out on city (Paris) and rural (Aube district) sites using high volume pumps (15 m³/h) on quartz filters and polyurethane foams (PUF). After extracting the samples and concentrating the recovered solutions, high performance liquid chromatography (HPLC) analyses with UV detection were performed. The presence of atrazine, chlorophenoxy acids (mecoprop, MCPA, 2,4-D, MCPB) and linuron residues was found in the atmospheric samples under study. Pesticide levels ranging from 0.5 to 43 ng/m³ of air according to the compound and weather conditions, were determined on the urban site, suggesting the occurrence of atmospheric transfer processes for these pesticides.

Mots-clés : pollution atmosphérique ; pesticides ; atrazine ; acides chlorophenoxyalcanoïques ; linuron ; CLHP.

Keywords : air pollution ; pesticides , atrazine ; chlorophenoxy acids ; linuron ; HPLC.

Introduction

L'usage intensif de pesticides, comme les insecticides, herbicides, fongicides, a permis d'améliorer de manière notable les rendements agricoles et de diversifier les cultures, ce qui a conduit à satisfaire la demande nutritionnelle liée à l'accroissement de la population mondiale. Cependant, cette utilisation a aussi provoqué des effets indirects et néfastes sur l'environnement, résultant de la présence de résidus de pesticides dans les aliments [1] et dans les eaux souterraines et superficielles [2].

Par contre, on ne s'est intéressé que très récemment à la présence de pesticides dans l'atmosphère. En effet, les pesticides employés en milieu agricole à proximité des zones urbaines peuvent constituer un risque important de pollution atmosphérique, notamment en raison de la volatilité et de la semi-volatilité de ces composés. Suite aux opérations d'épandage et de pulvérisation en milieu rural, ainsi qu'à divers phénomènes naturels, comme l'érosion, les vents, les précipitations, il a été montré qu'une partie importante des produits phytosanitaires n'atteignait pas les aires traitées et se dispersait dans l'atmosphère [3]. Suivant les conditions météorologiques et les modes d'application, de 25 % à 75 % des produits phytosanitaires ne se déposent pas sur les cultures, ce taux pouvant même atteindre 90 % sur des sols humides [4]. Les pesticides peuvent donc s'introduire dans l'atmosphère directement lors de leur application mais aussi après leur dépôt en se volatilisant ou encore en y diffusant par des phénomènes d'érosion [5]. De plus, cette forme de pollution n'est pas localisée aux régions agricoles, car les conditions atmosphériques (vents, différences de température et de pression) peuvent entraîner sa diffusion, notamment en milieu urbain [6]. Les concentrations trouvées dans l'atmosphère sont de l'ordre de 0,1 à 10 ng/m³ d'air par pesticide [7]. Compte tenu du grand nombre de pesticides employés, on peut évaluer leur concentration totale à environ 70 ng/m³, ce qui correspond à une quantité de 1,7 µg inhalée par jour chez un adulte [8]. A titre de comparaison, on admet en général qu'un individu absorbe quotidiennement environ 0,75 µg de

pesticide en consommant 1,5 L d'eau potable. Ces concentrations sont donc relativement faibles, mais, étant donné la persistance dans l'environnement et le caractère toxique et/ou cancérigène de la plupart de ces produits [4, 9], il importe d'évaluer leurs conséquences sur la santé humaine.

Dans ces conditions, il s'avère essentiel de prendre en considération les questions suivantes : la présence des pesticides dans l'atmosphère se limite-t-elle aux zones agricoles, ou peut-elle s'étendre à l'atmosphère urbaine et périurbaine ? Si la réponse à cette dernière question est positive, il s'agira de déterminer les concentrations atmosphériques des différents pesticides d'origine agricole en milieu urbain et périurbain, en vue de mieux cerner le niveau de cette pollution atmosphérique. Plusieurs méthodes analytiques, essentiellement chromatographiques, ont été proposées récemment pour tenter d'identifier et de déterminer quantitativement la contamination de l'atmosphère ou des précipitations par des traces de pesticides [5-8, 10-12].

Les objectifs de cette étude sont donc, tout d'abord, de mettre au point les protocoles d'échantillonnage, d'extraction et d'analyse des pesticides dans l'atmosphère, puis, dans une seconde étape, de caractériser et quantifier des pesticides sélectionnés, sur des échantillons atmosphériques prélevés en sites urbain et rural, en région Ile-de-France. Aux fins d'analyse, nous avons retenu la méthode de chromatographie liquide à haute performance (CLHP) avec détection UV.

1. Choix et présentation des pesticides

Dans ce travail préliminaire, nous avons sélectionné un nombre limité de pesticides typiques de ceux contenus dans les préparations commerciales et généralement employés en milieu agricole. Il s'agit de neuf composés appartenant à quatre familles chimiques : les triazines (atrazine), les acides phénoxyalcanoïques (2,4-D, MCPA, MCPB, MCPP), les dipyridiles (diquat, paraquat) et les dérivés de l'urée (isoproturon, linuron).

2. Méthodologies

2.1 Prélèvements

Pour les prélèvements, nous avons employé un échantillonneur grand volume TE-PUF (Compagnie Tisch Environmental) avec un débit d'air réglé à $15 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ (Fig. 1). Les supports permettant de recueillir les polluants sous forme particulaire étaient des filtres en quartz (traités préalablement à $400 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 5h) ; pour fixer les polluants sous forme gazeuse, nous avons employé des mousses en polyuréthane (PUF) traités préalablement au Soxhlet pendant 24h avec l'acétone. Nous avons étalonné l'échantillonneur avant les campagnes de prélèvement. Les prélèvements ont été effectués à Paris (pendant des périodes de 24h) et à

Viapres-le-Petit (milieu rural, 150 km de Paris au nord de Troyes) pour des périodes de 36 h.

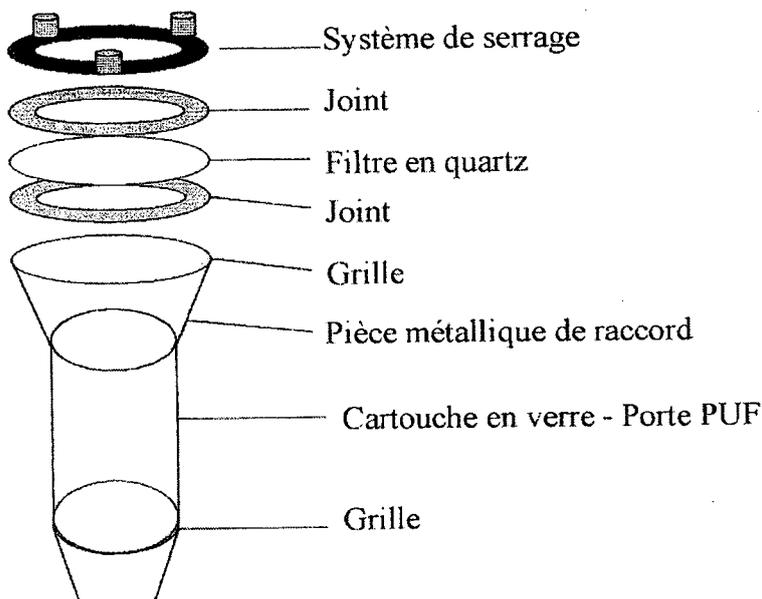


Fig. n° 1 : Schéma du module échantillonneur.

2.2 Extractions

Les extractions de prélèvements ont été effectuées à l'aide d'un Soxhlet : le solvant d'extraction (mélange n-hexane/oxyde de diéthyléther 90/10 v:v) est distillé, condensé et forcé à passer continuellement à travers les échantillons (filtres de quartz et mousse PUF) placés ensemble dans le Soxhlet. Cette opération dure 24 h.

2.3 Analyse CLHP

Les échantillons sont tout d'abord concentrés par évaporation à sec, après l'extraction, car l'hexane ne doit pas être injecté dans la colonne de CLHP. On réalise ensuite une reprise du produit d'évaporation avec 2 mL d'éluant (39% acétonitrile + 59% eau + 2% acide acétique).

L'appareillage CLHP employé est schématisé dans la Figure 2. Les conditions d'analyse CLHP (avec détection UV) ont été préalablement optimisées afin que le

temps d'analyse reste raisonnable (40 min) et que les pesticides sélectionnés soient séparés de manière satisfaisante et correctement détectés :

- composition de l'éluant : 39% acétonitrile + 59% eau + 2% acide acétique (élution isocratique)
- volume d'injection : 50 μ L
- longueur d'onde d'absorption : $\lambda_A = 227$ nm.

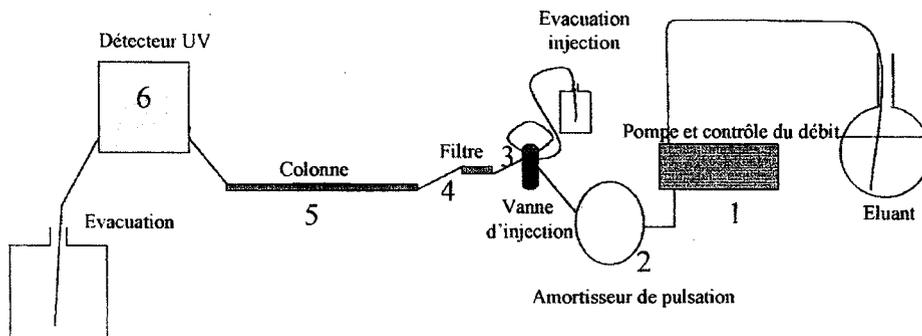


Fig. n° 2 : Caractéristiques de l'appareil de CLHP utilisé.

- 1 : Pompe chromatem 380, Touzart & Matignon ;
- 2 : Amortisseur 2113, Touzart & Matignon ;
- 3 : Vanne d'injection 7725 Rhéodyne et boucle d'injection 50 μ L ;
- 4 : Filtre A316 Upchurch Scientific ;
- 5 : Colonne Stability RP Pesticides 5 μ -250 x 3 mm CIL Cluzeau ;
- 6 : Absorbance Detector AD 20 Dionex (pilote par un logiciel Dionex).

3. Résultats

3.1 Etude des solutions standard de pesticides

Nous avons présenté dans la Figure 3 le chromatogramme d'un mélange standard de pesticides. On constate que tous les pesticides sont bien séparés en moins de 35 min, à l'exception du MCPA et du 2,4-D, qui ne donnent qu'un seul pic au même temps de rétention. Les composés ont été identifiés en comparant les temps de rétention obtenus dans les mélanges (ou dans les prélèvements) avec ceux des solutions standard préparées pour chaque pesticide. Nous avons trouvé que les limites de quantification des pesticides dans l'air (évaluées par CLHP) s'échelonnaient entre 0,6 et 2,5 ng/m^3 , selon le composé.

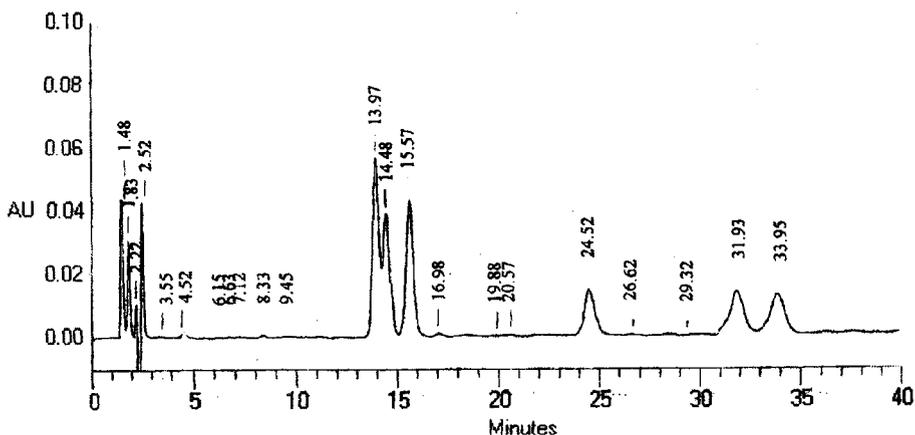


Fig. n° 3 : Chromatogramme (CLHP) d'un mélange standard de pesticides.
 Temps de rétention (min) : 1,82 et 1,52 : éluant ; 1,48 : diquat ; 13,97 : atrazine ;
 14,48 : isoproturon ; 15,57 : MCPA et 2,4-D ; 24,52 : MCPP ; 31,93 : linuron ;
 33,95 : MCPB.

3.2 Rendements d'extraction

Pour obtenir une séparation optimale et une identification précise des aires des pics CLHP, nous avons distingué 2 groupes de pesticides, le 1^{er} groupe comprenant l'isoproturon, le MCPA, le MCPP et le MCPB et le 2^{ème} groupe incluant le diquat, l'atrazine, le 2,4-D et le linuron. L'efficacité réelle de l'extraction varie entre 50 et 90% selon les pesticides, sauf pour le diquat qui donne un rendement d'extraction nul. La faiblesse relative des rendements d'extraction obtenus peut être attribuée à la procédure d'évaporation à sec. Il s'avère donc possible de détecter la présence de 7 pesticides dans les prélèvements, après extraction. Il est évidemment nécessaire de prendre en compte les valeurs des rendements d'extraction à des fins de quantification des pesticides.

3.3 Analyse des prélèvements en milieu urbain (Paris)

Nous avons réalisé des prélèvements en atmosphère urbaine pendant l'été 2000 (juillet-août), au cours de différents épisodes climatiques (nuageux, ensoleillé et forts orages). Nous avons ensuite extrait et préparé les échantillons selon le protocole décrit précédemment. Les chromatogrammes des prélèvements ont été comparés à ceux de solutions standard de pesticides et de "blancs" (Fig. 4). Ils font apparaître la présence certaine d'atrazine (0,5 à 1,3 ng/m³ d'air) et de MCPP (14 à 62 ng/m³ d'air) dans le site urbain, les concentrations variant avec la période de prélèvement.

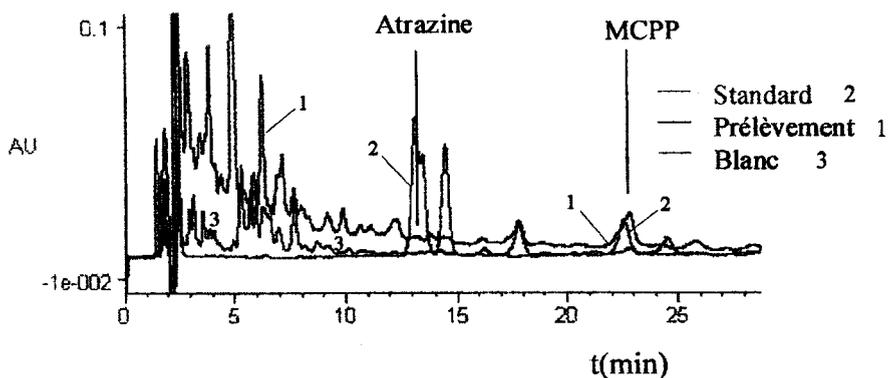


Fig. n° 4 : Exemple de chromatogramme d'un prélèvement atmosphérique en milieu urbain (Paris). Courbe 1 : prélèvement ; courbe 2 : mélange standard ; Courbe 3 : blanc.

3.4 Analyse des prélèvements en milieu rural

Nous présentons dans la Figure 5 le chromatogramme d'un prélèvement effectué en milieu rural en septembre 2000 (temps pluvieux). Après traitement de l'échantillon selon le même protocole et comparaison avec des solutions standard de pesticides, nous avons mis en évidence la présence de MCPP (14 ng/m³ d'air) et de 2,4-D + MCPA (36 ng/m³ d'air, pour les deux pesticides au total) sur le site rural (Fig. 5).

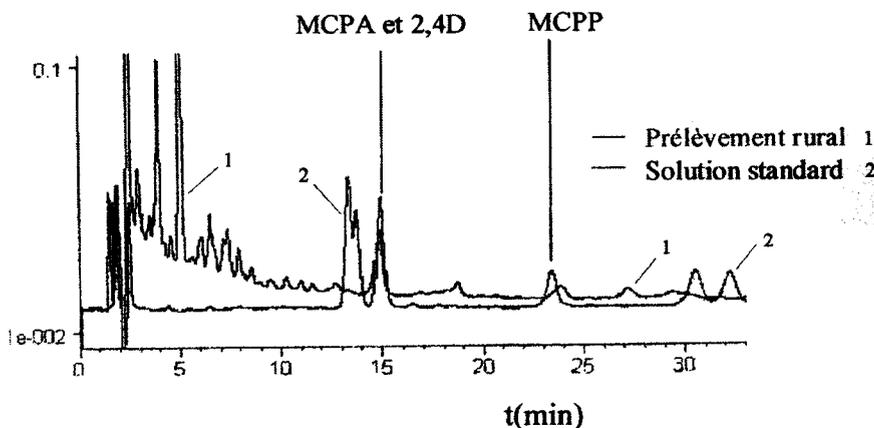


Fig. n° 5 : Chromatogramme d'un prélèvement atmosphérique en milieu rural (Viapres-le-Petit, Aube). Courbe 1 : prélèvement ; courbe 2 : mélange standard.

3.5 Interprétation

Nos résultats préliminaires et ceux obtenus dans d'autres études menées en milieu urbain en Alsace (Strasbourg) [7] et au Japon [5] apparaissent tout à fait cohérents. La présence de traces d'atrazine et de MCPP a pu être quantifiée en atmosphère urbaine. Les concentrations de MCPP en zone rurale et en milieu urbain s'avèrent proches. Dans les conditions climatiques de notre étude et avec une activité agricole réduite, il ne semble pas y avoir de différence significative de concentration de pesticides entre les zones urbaine et rurale. Enfin, ce travail exploratoire paraît établir une corrélation entre les conditions météorologiques et les teneurs atmosphériques en pesticides mesurées.

Conclusions et perspectives

Dans ce travail, nous avons pu optimiser de manière assez satisfaisante les procédures de prélèvement, d'extraction et d'analyse par CLHP des pesticides étudiés. Nous avons également mis en évidence et quantifié plusieurs pesticides au niveau des ng/m^3 dans l'atmosphère, en milieu urbain et rural. Nos résultats préliminaires sont encourageants et nous pouvons suggérer plusieurs améliorations importantes.

Ainsi, il nous paraît essentiel d'augmenter le nombre de pesticides susceptibles d'être détectés par notre approche analytique, compte tenu de la grande variété des produits phytosanitaires employés en milieu rural dans les régions Ile-de-France et Champagne. Il serait également possible d'améliorer les limites de détection et de quantification de ces pesticides à l'aide de méthodes spectrofluorimétriques. Nous nous proposons aussi de confirmer l'identité des pesticides quantifiés en employant la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) ainsi que la CLHP avec détecteur UV à barrettes de diodes. En outre, nous envisageons de mettre en place une étude plus détaillée des produits phytosanitaires dans l'atmosphère en prenant en compte les conditions météorologiques, ainsi que le déroulement et la nature des activités agricoles. Pour cela, il sera nécessaire de réaliser des campagnes de prélèvements étalées dans le temps sur une période minimum de deux années.

Remerciements

Nous remercions vivement l'ADEME et le Ministère de l'Environnement et de l'Aménagement du Territoire pour le soutien financier de ce travail (Etude ADEME n° 99-75063).

Références

- [1] P. CUNNIF, Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Ed., Editeur : Alington, VA : *JAOAC International*, 1995.
- [2] A. DI CORCIA, M. MARCHETTI, *Environm. Sci. Technol.*, 26 (1992), 1319.
- [3] D.E. GLOTFELTY, M.J. MAJEWSKI, J.N. SEIBER, *Environm. Sci. Technol.*, 24 (1990), 353.
- [4] I. NADEAU, *Environm. Magaz.*, n° 1587 (2000), 14.
- [5] K. HARAGUCHI ; E. KITAMURA, T. YAMASHITA, A. KIDO, *Atmos. Environm.*, 28 (1994), 1319.
- [6] M. CHEUVREUIL, M. GARMOUMA, M.J. TEIL, A. CHESTERIKOFF, *The Science of the Total Environment.*, 182 (1994) 25-37.
- [7] A. SANUSI, M. MILLET, H. WORTHAM, P. MIRABEL, *Analysis*, 26 (1997) 302.
- [8] M. MILLET, H. WORTHAM, A. SANUSI, P. MIRABEL, *Environm. Sci. Pollut. Res.*, 4 (1997) 172.
- [9] B.N. AMES, *J. AOAC International*, 75 (1992), 1.
- [10] J. SCHARF, R. WIESIOLLEK, K. BACKMAN, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 342 (1992), 813.
- [11] T. BIDLEMAN, M.D. WALLA, R. ROURA, E. CARR, S. SCHMIDT, *Marine Pollut. Bull.*, 26 (1993), 258.
- [12] Z. POLKOWSKA, A. KOT, M. WIERGOWSKI, L. WOLSKA, J. NOMIESNSK, *Atmos. Environm.*, 34 (2000) 1233.

Etude expérimentale des transferts sol-air de pesticides à l'échelle d'une parcelle. Utilité de déterminer des flux de volatilisation

Field experiment to assess pesticide post-application transfers to the atmosphere. About determining volatilization fluxes

Olivier BRIAND¹, Florence BERTRAND¹, Maurice MILLET^{1,2}, René SEUX¹

¹Ecole Nationale de la Santé Publique – L.E.R.E.S – Avenue du Professeur Léon Bernard – F-35043 Rennes cedex – E-mail : obriand@ensp.fr

²Equipe de Physico-Chimie de l'Atmosphère – UMR 7517 CGS/ULP – 1, rue Blessig – F-67084 Strasbourg cedex

Abstract : *The consideration of pesticides in atmosphere is recent in France. And it doesn't exist surveillance program of atmospheric contamination by pesticide products as it exists for other industrial pollutants (ozone, NOx...). Indeed it is not of quantifying an unique pollutant but more than 500 different active materials in about 7000 commercial formulations. It is imaginary to believe that the next years will see being born an universal method allowing to measure all the susceptible pesticides to be present in the atmosphere. We turn more credibly to the development of mathematical models for the estimation of fluxes transfers of pesticides towards the air compartment from the treated surfaces. These last ones coupled with distribution and deposit models will allow to estimate contamination levels according to removal from sources.*

Three different phenomena are at the origin of the presence of pesticides in the air. The departures in the atmosphere are made from treatments (spray - drift); then by eolian erosion from treated grounds (contaminated dusts) and by more complex phenomena (transfers under gas phase and co-distillation). The development of mathematical models of transfers of pesticides since the treated surfaces passes by understanding the phenomena of transfers and the identification of the factors which control them. The nature of the ground, the climatic conditions during the application and the physico-chemical properties of compounds are so many factors which influence mechanisms and importance of these departures towards the atmosphere.

LERES developed a technique of trapping and analysis of some compound presents in the air. It bases on a trapping of compounds on a resin, then a thermal desorption before analyze by GC/MS. This technique, which allows to treat quickly a great number of samples, allowed us to determine a vertical gradient of concentrations of two herbicides, atrazine and alachlore, applied on maize, during 4 days following the treatment. Coupled with micrometeorological measures, these data allow to determine fluxes of transfers.

Mots clefs : Pesticide, atmosphère, concentration, flux, atrazine et alachlore.

Keywords : Pesticide, atmosphere, concentration, flux, atrazine and alachlor.

Introduction

La prise en compte des pesticides dans l'atmosphère est récente en France. Et il n'existe pas à ce jour de réseau de surveillance de la contamination de l'air par les produits phytosanitaires comme il en existe pour d'autres polluants industriels (ozone, NOx, ...). En effet il ne s'agit pas de quantifier un polluant unique mais plus de 500 matières actives différentes dans près de 7000 formulations commerciales. Il est illusoire de croire que les prochaines années verront naître une méthode universelle permettant de doser l'ensemble des pesticides susceptibles d'être présents dans l'atmosphère. Nous nous orientons plus vraisemblablement vers le développement de modèles mathématiques d'estimation des flux de transferts des pesticides vers le compartiment aérien depuis les surfaces traitées. Ces derniers couplés à des modèles de diffusion et de dépôts permettront d'estimer les niveaux de contamination de l'atmosphère en fonction de l'éloignement aux sources.

Trois phénomènes distincts sont à l'origine de la présence des produits phytosanitaires dans l'air. Les départs dans l'atmosphère se font dès les traitements (dérive ou spray-drift); puis par érosion éolienne des sols traités (transferts sous forme de particules de sols ou de poussières contaminées) et par des phénomènes plus complexes (transferts sous forme gazeuse et entraînement à la vapeur d'eau).

Le développement de modèles mathématiques de départs de pesticides depuis les surfaces traitées passe par la compréhension des phénomènes de transferts et l'identification des facteurs qui les contrôlent. Le couvert végétal, la nature du sol, les conditions climatiques lors de l'application et les propriétés physico-chimiques des composés sont autant de facteurs qui influencent les mécanismes et l'importance de ces départs vers l'atmosphère.

C'est dans ce sens que le LERES a développé une technique de prélèvement et d'analyse de quelques composés présents dans l'air. Elle repose sur un piégeage des composés sur une résine, puis une désorption thermique avant analyse par CPG/SM.

Cette technique, qui permet de traiter rapidement un grand nombre d'échantillons, nous a permis de déterminer un gradient vertical de concentrations de deux herbicides, l'atrazine et l'alachlore, appliqués sur le maïs pendant 4 jours après le traitement. Couplées à des mesures micrométéorologiques, ces données permettent de déterminer des flux de transferts.

1. Détermination des flux de pesticides

La détermination des flux de produits phytosanitaires depuis les sols ou les plantes traités dans l'environnement est une tâche difficile car les départs sont diffus et faibles (quelques $\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ soit quelques $\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Ils sont de plus très variables dans le temps et l'espace.

Les transferts de pesticides depuis les surfaces traitées sont gouvernés par de nombreux facteurs propres aux composés appliqués (pression de vapeur, constante de Henry, coefficient de partage octanol/eau...), à l'état du sol et de la végétation (température, humidité relative...), aux techniques agricoles et de pulvérisation (préparation du sol, volume appliqué...) et aux conditions microclimatiques. Les concentrations mesurées au dessus des parcelles sont le résultat de ces dépôts et des turbulences générées par le vent.

Plusieurs méthodes permettent, à partir d'un gradient vertical de concentrations et de données micrométéorologiques de calculer des flux d'émission. Lors de cette étude les taux de volatilisation de deux herbicides (atrazine et alachlore) ont été calculés pour chaque période de prélèvement par une méthode aérodynamique classique (Majewski, 1999).

Le flux (F) est déterminé comme étant le produit d'un gradient vertical de concentrations (mesurées à 4 hauteurs) par le coefficient de diffusivité de Eddy (K_c).

$$F(t) = -\phi K_c \frac{\partial C(x, y, z, t)}{\partial z}$$

K_c est fonction des conditions micrométéorologiques et calculé à partir d'un gradient vertical de vitesse du vent et de température (déterminé à 2 hauteurs). Les conditions de stabilité atmosphérique sont prises en compte à partir de fonctions de correction empiriques, calculées pour chaque période de prélèvement.

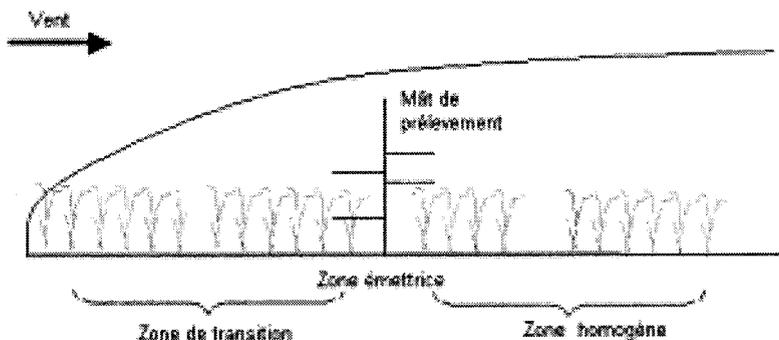


Fig. n° 1 : Méthode aérodynamique à l'échelle de la parcelle

Pour l'étude des échanges de pesticides à l'échelle d'une parcelle agricole deux contraintes majeures doivent être prises en considération :

- on suppose les transferts verticaux, pour cela les échanges latéraux sont négligés en se plaçant dans le cas d'une parcelle uniforme suffisamment étendue (illustration figure 1).
- on ne dispose pas d'appareils de mesure directe des concentrations en phytosanitaires dans l'air, il est donc nécessaire de piéger ces substances

sur une résine. Il convient donc d'adapter la durée de prélèvement aux performances de la technique analytique (limites de détection) et surtout à la fréquence des phénomènes à observer.

2. La détermination des concentrations en pesticides

2.1 Parcelle expérimentale

Cette étude a été conduite sur une parcelle de maïs de 10 ha de la station expérimentale de l'INRA de Rennes.

Le traitement est réalisé au stade 3 feuilles avec de l'atrazine et de l'alachlore aux doses recommandées (respectivement $1000 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ et $2400 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$) le 5 juin 2000.

2.2 Station micrométéorologique

Les gradients verticaux de température et de vitesse du vent sont déterminés à partir de mesures réalisées à 2 hauteurs différentes (50 et 150 cm). Le pas de temps d'acquisition des données est fixé à 15 minutes.

Ces mesures de température et de vitesse du vent sont complétées par le suivi de paramètres tels que la direction du vent, les rayonnements solaires totaux et incidents, la température et l'humidité relative du sol.

2.3 Dispositif de prélèvements

Un mât est placé au centre de la parcelle à la fin du traitement. Il permet de fixer à 4 hauteurs différentes (20, 40, 80 et 160 cm) les tubes de prélèvement. Ils sont constitués de tubes en acier inoxydable de 6 x 60 mm remplis de résine adsorbante Tenax TA (125 mg) et distribués par la société Perkin Elmer.

Les tubes sont connectés à une pompe asservie qui assure un débit constant pendant toute la durée du prélèvement, $0,6-0,7 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.

Les premiers prélèvements débutent une heure après la fin du traitement et se poursuivent pendant 5 jours. La durée de pompage est fixée à 4 heures.

2.4 Technique analytique

Ce type d'étude nécessite une méthode d'extraction et d'analyse rapide, en effet le nombre d'échantillons à traiter est très élevé. Elle doit aussi être fiable et sensible puisque le gradient de concentrations ne sera valable que dans les cas où l'écart des concentrations entre deux hauteurs est supérieur à l'incertitude de la mesure.

Pour ces raisons, nous avons retenu la thermodésorption comme technique d'extraction et la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse pour l'analyse.

La chaîne analytique complète est entièrement automatisée (système de thermodésorption Perkin Elmer - ATD 400 – couplé à un GC/MS Hewlett Packard). La méthode développée au laboratoire a été validée (Clément et al., 2000) et permet de déterminer des concentrations en pesticides dans l'air de l'ordre du ng.m^{-3} avec une précision de l'ordre de 10 %.

3. Résultats

3.1 Les concentrations

Les concentrations observées (figure 2a) pour l'atrazine varient de quelques ng.m^{-3} à quelques dizaines de ng.m^{-3} , avec un maximum de 250 ng.m^{-3} . Les concentrations en alachlore (figure 2b) sont généralement plus élevées et varient entre quelques centaines de ng.m^{-3} et quelques $\mu\text{g.m}^{-3}$.

Les profils de concentrations de l'atrazine et de l'alachlore sont assez similaires, avec des maxima en milieu ou fin de journée et des concentrations élevées en début de journée et pendant la nuit.

Il faut toutefois noter les forts écarts entre les niveaux de concentrations de ces deux produits, très en faveur de l'alachlore. Ils s'expliquent par l'écart de volatilité de ces deux composés, estimée à partir de leur constante de Henry et leur pression de vapeur (Atrazine V_p : $3.85.10^{-5} \text{ Pa}$, 25°C ; K_H : $1.5.10^{-4} \text{ Pa.m}^3.\text{mol}^{-1}$; Alachlore V_p : $2.1.10^{-3} \text{ Pa}$, K_H : $2.3.10^{-3} \text{ Pa.m}^3.\text{mol}^{-1}$) et des doses d'application.

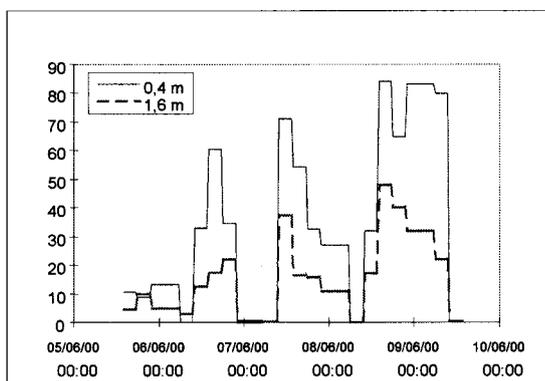


Fig. n° 2a : Evolution temporelle des concentrations en atrazine mesurées à 2 hauteurs (en ng.m^{-3})

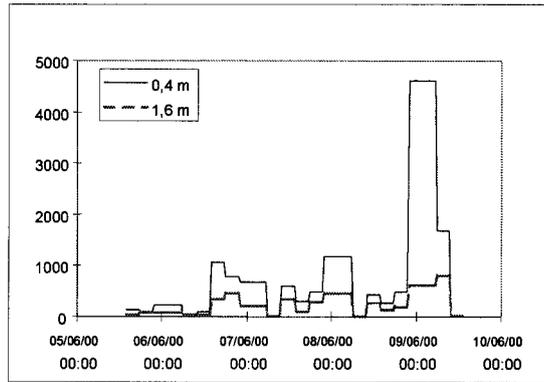


Fig. n° 2b : Evolution temporelle des concentrations en alachlore mesurées à 2 hauteurs (en ng.m^{-3})

Les gradients de concentrations obtenus sont dans tous les cas des profils de départs, c'est à dire que les concentrations sont décroissantes avec la hauteur.

3.2 Les Flux

Les flux de volatilisation de l'atrazine et de l'alachlore sont calculés à partir des gradients de concentrations obtenus, en imposant une concentration nulle à 20 m. Les flux obtenus pour l'atrazine et l'alachlore sont respectivement de l'ordre de $0.5 \text{ ng.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et $5 \text{ ng.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour le premier jour. Ils augmentent ensuite de façon régulière pour l'alachlore jusqu'à atteindre $50 \text{ ng.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ le cinquième jour. Les flux d'atrazine sont plus irréguliers avec un maximum le troisième jour à $5 \text{ ng.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Les départs d'atrazine et d'alachlore sont rythmés par des cycles diurnes-nocturnes très marqués. Ils sont faibles en début de journée, augmentent rapidement avec un maximum en milieu d'après-midi, puis décroissent brutalement en fin de journée jusqu'à des valeurs extrêmement faibles voire nulles pendant la nuit.

Ces observations sont en accord avec ce que Glotfelty et al. (1989) obtenaient pour l'alachlore.

Les flux cumulés sur toute la durée de la campagne sont difficiles à déterminer en absence de donnée sur les quantités réellement appliquées sur la parcelle. Une estimation peut toutefois être proposée en considérant la dose théorique appliquée. Les départs d'atrazine représenteraient en 5 jours moins de 1% de cette dose et quelques % dans le cas de l'alachlore.

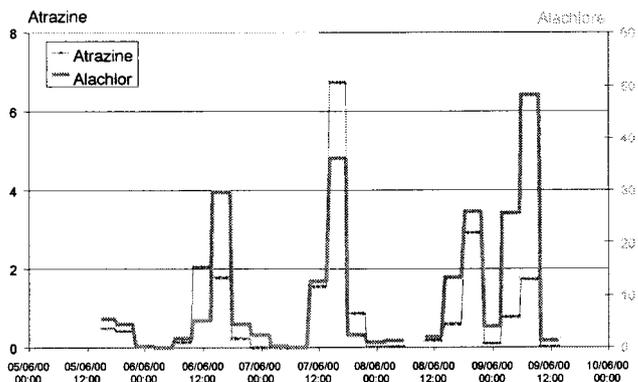


Fig. n° 3 : Flux de volatilisation de l'atrazine et de l'alachlore (en $\text{ng.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, flux moyennés sur la durée du prélèvement)

Conclusion

La détermination des flux de produits phytosanitaires nécessite la mise au point d'une méthode de prélèvement et d'analyse extrêmement fiable puisque la précision des résultats obtenus dépend directement de la précision avec laquelle on détermine le gradient de concentrations.

Il s'agit d'une expérience lourde à mettre en place et coûteuse en moyens humains et financiers. Mais la détermination des flux de volatilisation est un outil d'investigation des processus de départs très puissant.

Les observations réalisées à partir des calculs de flux permettent de caractériser des départs différents de ce que les concentrations laissaient supposer, notamment celles très élevées observées en milieu de nuit. Ces dernières peuvent s'expliquer par des départs faibles (flux inférieurs au $\text{ng.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) et une accumulation des produits à la surface de la parcelle due à la réduction nocturne de la vitesse du vent.

Ceci illustre parfaitement la nécessité de calculer des flux de volatilisation, plutôt que de ne considérer que des concentrations qui sont le résultat des départs et des turbulences de l'air générées par le vent.

Ces données vont permettre d'analyser les processus conduisant aux émissions et d'analyser les facteurs qui les contrôlent. Les données obtenues pour des conditions locales devraient permettre de construire et/ou de calibrer des modèles de départs depuis les surfaces traitées puis de les valider. Elles permettront aussi de réaliser des bilan environnementaux et de comparer les fuites de produits phytosanitaires vers l'atmosphère aux autres pertes (ruissellement, dégradation, infiltration...).

Références bibliographiques

M. Clément, S. Arzel, B. Le Bot, R. Seux, M. Millet. *Chemosphere*, **40** (2000)

D.E. Glotfelty, M.M. Leech, J. Jersey, A.W. Taylor. *J. Agric. Food Chem.*, **37** (1989)

M.V. Majewski. *Water, Soil and Air Pollution*, **115** (1999)

Remerciements

Ce travail a bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Environnement (Contrat N° DGAD/SRAE/97143) et du programme PRIMEQUAL-PREDIT (Contrat DAGAL 9975065).

Les auteurs tiennent également à remercier Carole Bedos et Pierre Cellier (INRA, Grignon, Equipe Grandes Cultures) pour leur aide aux calculs des flux de volatilisation.

Enfin, un remerciement tout particulier à Paul Robin et Michel Maquère (INRA, Rennes) ainsi qu'à leur équipe pour leur aide sur le terrain.

Ecotoxicologie et toxicologie des produits phytosanitaires

De l'obligation réglementaire à la protection des milieux

*Ecotoxicological and toxicological aspects of pesticides
From regulatory risk assessment to environmental monitoring*

Jean-Louis Rivière

INRA-Structure Scientifique Mixte

Centre de Recherche de Versailles, 78026 Versailles Cedex

Date de révision : avril 2001

Résumé : Depuis la Directive européenne 91/414, l'évaluation du risque environnemental est une obligation réglementaire pour toute nouvelle substance active phytopharmaceutique. En France, l'homologation dépend du Ministre de l'Agriculture, après avis de la Commission des Toxiques et du Comité d'Homologation. Le risque environnemental se détermine en combinant les 2 composantes du risque, danger et exposition. L'exposition se caractérise par le calcul des concentrations environnementales prévisibles dans l'environnement (PEC), et le danger par des données d'écotoxicité, déterminées à partir d'essais sur différentes espèces animales et végétales. Le risque est caractérisé par un rapport toxicité/exposition, comparé ensuite à une valeur-seuil. Le système est simple, probablement assez efficace, et peut être encore amélioré, en fonction des progrès scientifiques. Cependant, les limites de l'approche réglementaire sont connues, la principale étant la variété des situations environnementales. Enfin, les autorisations de mise sur le marché concernent des produits et ne peuvent intégrer la grande variété des pratiques agricoles. Une biosurveillance des milieux s'impose.

Abstract : Risk assessment is needed for registration of each new phytopharmaceutical active substance at EU level. In France, the competent authority for registration is the Minister of Agriculture, taking into account opinions from "Commission des Toxiques" and "Comité d'Homologation". In regulatory risk assessment, environmental risk is estimated by the usual approach, combining exposure and hazard to calculate risk. Exposure is characterized by estimation of predicted environmental concentrations (PEC); hazard is estimated from ecotoxicological assays with different plant and/or animal species. Risk is characterized as a toxicity/exposure ratio, which is compared to a trigger value. This approach is simple, probably efficient, and could be scientifically improved. However, the system is not perfect, the main limitation being the variety of local environmental conditions. Furthermore, authorizations are based on specific products, and can not integrate a variety of agricultural practices. Biomonitoring is needed.

Mots-clés : évaluation du risque, réglementation

Keywords : risk assessment, registration

Introduction

L'obligation réglementaire découle de la directive européenne 91/414 (1) :

"considérant que, au moment de l'autorisation des produits phytopharmaceutiques, il est nécessaire de s'assurer que, lors d'un usage approprié au but poursuivi, ils sont suffisamment efficaces et n'exercent aucun effet inacceptable sur les végétaux ou les produits végétaux, aucune influence inacceptable pour l'environnement en général et, en particulier, aucun effet nocif sur la santé humaine ou animale ou sur les eaux souterraines".

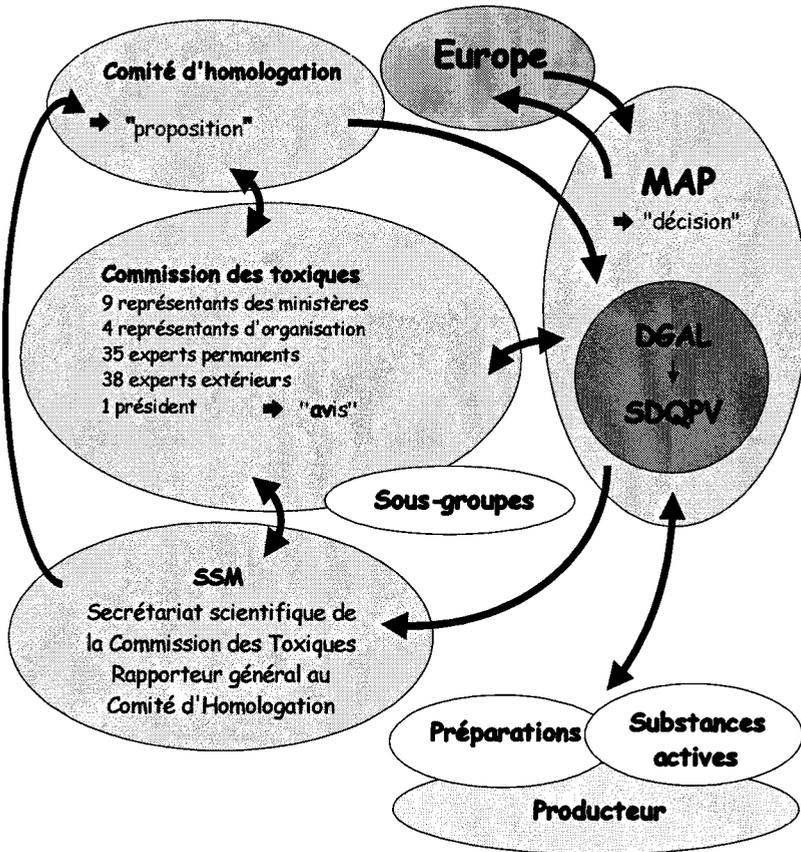


Fig. n° 1 : Schéma général de l'homologation française

En France l'homologation dépend du Ministère de l'Agriculture, après avis de deux Commissions, la Commission d'Etude de la Toxicité des produits Antiparasitaires et le Comité d'Homologation (figure n° 1).

L'environnement est défini par la suite comme "L'eau, l'air, la terre, la faune et la flore sauvage, ainsi que toute inter-relation entre ces divers éléments et toute relation existant entre eux et tout organisme vivant"

Un pesticide doit donc être évalué *a priori* par une autorité compétente pour son efficacité (dossier "biologique"), les risques pour l'opérateur, le consommateur et l'environnement (dossier "toxicologique"). L'évaluation des substances actives est européenne ("Etat-membre rapporteur"). Elle est obligatoire et systématique pour les nouvelles substances ; les anciennes substances sont ré-évaluées progressivement selon des listes établies par la Commission européenne. L'évaluation des préparations (formulations) se fait pour l'instant au niveau national. La 1^{ère} inscription à l'annexe (liste positive) a eu lieu en décembre 1997. Actuellement, ~ 9 substances existantes et 5 nouvelles sont inscrites.

1. Les exigences réglementaires

La Directive 91/414 comprend une partie A, "Substances chimiques" et une partie B "Micro-organismes et virus". On ne s'intéressera ici qu'à la partie A. Les données qui doivent être fournies par le notifiant (société demandant l'autorisation) pour une nouvelle substance active sont résumées dans le tableau 1 :

1. Identité de la substance active
2. Propriétés physiques et chimiques de la substance active
3. Autres informations sur la substance active
4. Méthodes d'analyse
5. Etudes de toxicité et de métabolisme sur la substance active
6. Résidus dans ou sur les produits traités, les denrées alimentaires et les aliments pour animaux
7. Sort et comportement dans l'environnement
8. Etudes écotoxicologiques sur la substance active
9. Résumé et évaluation des points 7 et 8
10. Propositions [...] en matière de classification et d'étiquetage

Tableau n° 1 : Exigences pour le dossier d'une nouvelle substance active

Les points 7 et 8 ont été précisés par la suite (tableaux n° 2 et 3) :

- > *Devenir et comportement dans le sol*
 - * Voie de dégradation aérobie, études complémentaires
 - * Vitesse de dégradation : études de laboratoire (dégradation aérobie et anaérobie), études au champ
 - * Adsorption et désorption
 - * Mobilité dans le sol : études de lixiviation sur colonnes, lixiviation sur colonnes de résidus vieillis, études lysimétriques ou études de lixiviation au champ
- > *Devenir et comportement dans l'eau et l'air*
 - * Voie et vitesse de dégradation dans les systèmes aquatiques: hydrolyse, dégradation photochimique, dégradation biologique (biodégradabilité facile, étude en système eau-sédiment), dégradation dans la zone saturée
 - * Voie et vitesse de dégradation dans l'air
- > *Définition du résidu*
- > *Données de surveillance*

Tableau n° 2 : *Devenir et comportement dans l'environnement (Directive 95/36)*

- > *Effets sur les oiseaux*
 - * Toxicité orale aiguë
 - * Toxicité alimentaire à court terme
 - * Toxicité subchronique et reproduction
- > *Effets sur les organismes aquatiques*
- > *Effets sur les arthropodes*
 - * Abeilles
 - Toxicité aiguë
 - Essai d'alimentation du couvain d'abeilles
 - * Autres arthropodes
- > *Effets sur les vers de terre*
 - * Toxicité aiguë
 - * Effets sublétaux
- > *Effets sur les micro-organismes non-cibles du sol*
 - > *Effets sur d'autres organismes non-cibles (flore et faune) supposés être exposés à un risque*
 - > *Effets sur les méthodes biologiques de traitement des eaux usées*

Tableau n° 3 : *Etudes écotoxicologiques (Directive 96/12)*

2. Un exemple : le risque pour les organismes aquatiques

Une demande d'homologation a pour objet :

- une préparation
- un usage (par ex., vigne)
- une maladie/un ravageur (par ex., oïdium)
- une dose (par ha ou hl)
- un type de traitement (par ex., traitement des parties aériennes)

Dans la pratique, l'évaluation suivra un schéma classique de caractérisation de l'exposition, du danger, et finalement du risque.

2.1 Caractérisation de l'exposition

La contamination de l'eau peut provenir de :

- la dérive de pulvérisation
- le ruissellement
- la décharge dans les drains
- l'application directe sur l'eau
- le traitement des récoltes

La dérive de pulvérisation est considérée comme le "pire cas". Dans ce cas, la contamination de l'eau dépendra :

- de la dose en surface de l'eau (dose appliquée x % de dérive)
- de la profondeur du plan d'eau
- de la distance au plan d'eau

Distance [m]	Céréales	Vignes	
		application précoce	application tardive
1	4.0 [†]	-	-
5	0.6	1.6	5.0
10	0.4	0.4	1.5
50	-	0.1	0.2

[†] pourcentage de dérive

Tableau n° 4 : Table de Ganzelmeier (1995), simplifiée

Pratiquement, on calcule une concentration environnementale prévisible ("PEC") en utilisant la table de Ganzelmeier (1995, tableau n°4) qui indique le pourcentage de dérive (c.à.d., le pourcentage de la dose d'application retombant à la surface de l'eau à une distance déterminée de l'extrémité du pulvérisateur). Un exemple numérique est donné dans la figure ci-dessous :

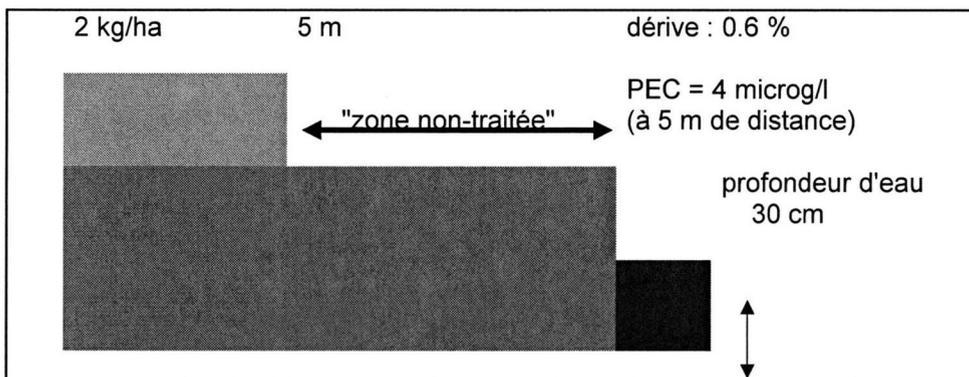


Fig. n° 2 : Calcul des PEC

$$PEC \text{ (microg substance active/l)} = (\text{kg substance active/ha}) \times (\% \text{ dérive}) \times (10/3)$$

2.2 Caractérisation du danger

Il repose, en 1^{ère} approche, sur des essais de laboratoire :

- Toxicité aiguë pour les poissons
- Toxicité chronique pour les poissons (essai de toxicité chronique pour les poissons juvéniles, essai de toxicité dans les premières phases de la vie, essai sur le cycle biologique)
- Bioconcentration chez le poisson
- Toxicité aiguë pour les invertébrés aquatiques
- Toxicité chronique pour les invertébrés aquatiques
- Effets sur la croissance des algues
- Effets sur les organismes sédimentaires
- Plantes aquatiques

Chacun de ces différents essais permet de déterminer des valeurs de toxicité : concentration létale 50 (CL50) et/ou dose sans effet observée (DSEO).

2.3 Calcul du risque

Le risque est calculé par une méthode de quotient : on calcule le rapport Toxicité (CL50 ou DSEO)/PEC, la valeur de ce rapport est comparée ensuite à un facteur de sécurité de 10 ou 100, selon les cas. Si le rapport est élevé, le risque est acceptable ; si le rapport est faible, il y a risque. Dans ce cas, une 2^{ème} évaluation

(approfondie) est nécessaire, utilisant des outils plus sophistiqués pour caractériser l'exposition et/ou la toxicité. Pour l'exposition, on utilise la modélisation, par exemple les scénarios FOCUS. Pour l'écotoxicité, une large gamme d'essais est disponible : essais (monospécifiques) dans des conditions d'exposition modifiées, essais sur populations et/ou communautés en "cosmes", modèles de populations, données de terrain.

2.4 Les risques écotoxicologiques : synthèse

Le schéma général d'évaluation de l'ensemble du risque écotoxicologique est résumé dans la figure ci-dessous :

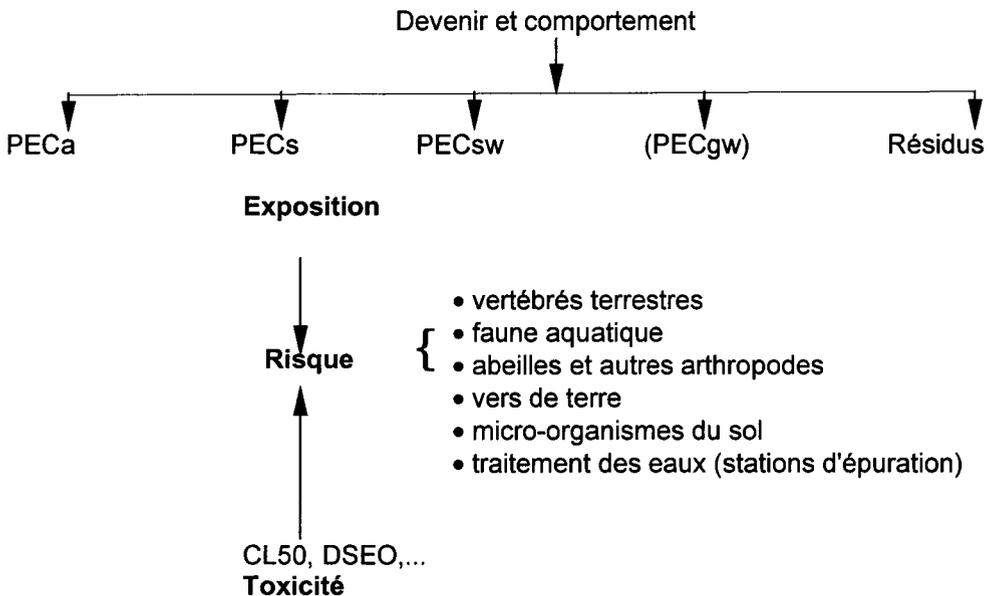


Fig. n° 3 : Résumé de l'évaluation du risque écologique.

3. Intérêt et limites du système

Le système d'homologation actuel, nécessaire et obligatoire, présente des avantages certains (la 1^{ère} évaluation est simple et probablement assez efficace), mais il n'est cependant pas parfait : beaucoup de pesticides nécessitent une 2^{ème} évaluation complexe, pour laquelle il n'y a pas d'approche harmonisée, ni d'approche commune. Les essais sont longs, difficiles à interpréter (compétences scientifiques "pointues") et les critères décisionnels d'acceptabilité du risque ne sont pas encore fixés.

3.1 Amélioration du système actuel

La recherche peut améliorer le modèle existant (l'objectif est de diminuer l'incertitude des prévisions) :

- développement de scénarios et modèles : scénarios de contamination des milieux (eau de surface, eaux profondes, air), scénarios d'exposition des organismes (par ex., vertébrés terrestres), modélisation des populations/communautés aquatiques et terrestres
- développement des outils de caractérisation du risque (par ex., approches probabilistes, méthodes d'extrapolation)
- développement d'outils d'évaluation pour de nouveaux points finaux importants (par ex., perturbateurs endocriniens)

Ces outils doivent être validés avant d'être – éventuellement – incorporés dans la réglementation

3.2 Limites des autorisations nationales

L'inscription d'une *substance active* à l'Annexe I se fait pour un usage particulier (~par type de culture) avec, parfois, l'indication de risques particuliers à surveiller et la nécessité de mesures de gestion (par ex., nécessité de zones non-traitées en bordure des plans d'eau,...). Les autorisations des *préparations* par les Etats-membres doivent en tenir compte et peuvent aussi être modulées en fonction des conditions géographiques et climatiques locales (mesures de restriction). Cependant, les autorisations ne tiennent pas compte des itinéraires techniques (mélanges extemporanés, séquences de traitements,...), des consommations totales (choix des agriculteurs, aléas climatiques) et des mésusages.

Un suivi des milieux s'impose (suivi de la contamination et suivi des impacts).

Suivi, par un biocapteur enzymatique, de la dégradation photochimique du parathion-méthyl

Corrélation entre la toxicité des photoproduits, leur nature et leur concentration

Monitoring of the methyl parathion photodegradation using enzymatic biosensor.

Correlation between the photoproducts toxicity, their nature and their concentration.

J.M. Chovelon^{1*}, S. Dzyadevytch^{1,2}

1 Laboratoire d'Application de la Chimie à l'Environnement, LACE, UMR 5634, Université Claude Bernard Lyon 1, 43 Bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex

Tel : 04.72.43.26.38

Fax : 04.72.44.81.14

Email : chovelon@univ-lyon1.fr

2 Institute of Molecular Biology & Genetics, NAS of Ukraine, 150 Zabolotnogo St., Kiev 03143, Ukraine

Résumé : Dans ce travail, des biocapteurs enzymatiques ont été développés pour évaluer la toxicité de solutions provenant de la dégradation photochimique du parathion-méthyl. Les résultats montrent que les valeurs de toxicité les plus élevées ont été observées pour des mélanges de photoproduits correspondant à des temps de photodégradation à peu près équivalents à la durée de vie photochimique du parathion-méthyl. De même, en ce qui concerne la toxicité, un fort effet de synergie entre le parathion-méthyl et le paraoxon-méthyl a été mis en évidence.

Abstract : *An assessment of the toxicity of methyl parathion and its photodegradation products in water can be done using conductometric biosensors. It was shown that the highest toxicity levels could be attributed to photoproducts mixture obtained after a time of degradation close to the photolytic lifetime. In addition, concerning the toxicity, a strong synergistic effect occurred between methyl parathion and methyl paraoxon.*

Mots clés : biocapteurs, conductimètre, parathion-méthyl, photodégradation, toxicité

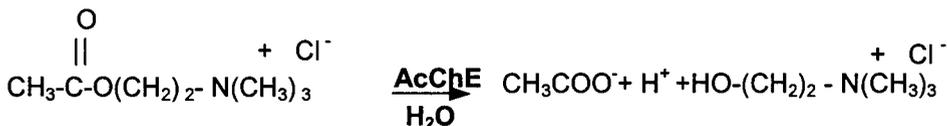
Keywords : *biosensors, conductimeter, methyl parathion, photodegradation, toxicity*

1. Introduction

L'utilisation massive des pesticides dans les régions agricoles pose de sérieuses questions sur la qualité de notre environnement ainsi que sur les problèmes de santé qui peuvent en résulter. Parmi ces pesticides, certains sont stables alors que d'autres peuvent se dégrader par des processus biologiques ou (photo)chimiques en des métabolites persistants et très toxiques. Pour lutter efficacement contre ces pesticides ainsi que leurs métabolites, il convient d'abord de mettre au point des outils analytiques capables de les détecter rapidement (en quelques minutes et sans pré-traitement), qui soient en outre facilement transportables et utilisables et à des coûts relativement faibles (early warning system). Aujourd'hui des biocapteurs enzymatiques répondent à ces exigences [1-2]. Leur principe repose sur l'inhibition d'une enzyme déposée à la surface du transducteur, par les polluants. Par exemple les insecticides de la famille des organophosphorés ou de la famille des carbamates, sont capables d'inhiber des enzymes du système nerveux telle que l'acétylcholinestérase (AcChE). L'inhibition intervenant sur le groupement sérine au niveau du site actif de l'enzyme, suivant le schéma réactionnel suivant.



Sans inhibiteur, ces enzymes catalysent les réactions d'hydrolyses du chlorure d'acétylcholine (AcChCl) selon la réaction suivante.



Il est intéressant de noter que les produits issus de cette réaction peuvent être suivis par différents types de capteur. Par exemple, puisqu'il y a libération de protons, des mesures potentiométriques (mesure des variations du pH en fonction de la concentration en substrat) permettront de suivre l'activité de cette enzyme. De même, il est possible d'utiliser des capteurs conductimétriques puisqu'il y a variation de la force ionique après réaction.

Pour la détection des insecticides, leur présence sera alors déterminée en comparant l'activité enzymatique avant et après le contact avec les polluants.

Ce travail a consisté à mettre au point un biocapteur enzymatique de type conductimétrique, adapté au suivi de la dégradation photochimique du parathion-méthyl. Ce pesticide a été choisi parce que de nombreux travaux y font référence, notamment en ce qui concerne sa dégradation photochimique [3]. Le paramètre qui a été évalué ici était la toxicité estimée vis-à-vis de l'inhibition de l'acétylcholinestérase. Cette toxicité a été corrélée aux concentrations des principaux polluants présents pendant la photodégradation (parathion-méthyl, paraoxon-méthyl, 4-nitrophénol) par chromatographie en phase liquide (HPLC).

2. Matériels et méthodes

2.1 Réactifs chimiques

Les enzymes butyrylcholinestérase (EC 3.1.1.8, sérum de cheval, 255 u.mg⁻¹) et acétylcholinestérase, (EC 3.1.1.7, raie électrique, type VI-S, 225 u.mg⁻¹), ainsi que le BSA proviennent de chez Sigma. Le parathion-méthyl provient de chez Shell research Ltd (USA), le paraoxon-méthyl vient de chez Riedel-de Haen (Allemagne) tandis que le 4-nitrophenol vient de chez Acros.

2.2 Le capteur conductimétrique [2]

Le capteur est constitué de deux paires d'électrodes interdigitées en platine déposées sur un substrat Si/SiO₂. Ces électrodes ont été fabriquées à l'Institut für Chemo und Biosensorik de Münster en Allemagne.

2.3 Préparation de la membrane enzymatique

L'enzyme a été co-réticulée avec une protéine de charge telle que le BSA (Bovin Serum Albumin) en utilisant un agent bifonctionnel sous forme vapeur : le glutaraldéhyde. Celui-ci va réagir avec les groupements NH₂ terminaux provenant soit de l'enzyme, soit de la protéine. L'enzyme est alors fixée de façon covalente au support et par conséquent peu d'enzymes seront perdus au cours de l'utilisation du capteur.

2.4 Analyse par le biocapteur enzymatique

Les mesures ont été réalisées dans une solution phosphate (5 mM) tamponnée à pH 7,5. La toxicité des solutions, a été évaluée en comparant la réponse des biocapteurs en mode stationnaire, avant et après exposition aux polluants. Après inhibition des enzymes, ces dernières peuvent être réactivées après immersion dans une solution 15 mM de 2-pyridinealdoxime méthiodide (PAM-2).

2.5 Conditions d'irradiation

Toutes les expériences ont été effectuées à 19°C, à pression atmosphérique et sous agitation magnétique. La source lumineuse est une lampe PHILIPS HPK 125 W (haute pression de vapeur de mercure). Le flux photonique efficace déterminé par actinométrie est de $7,5 \cdot 10^{16}$ photons cm⁻².s⁻¹.

2.6 Conditions CLHP

L'appareil utilisé pour les analyses CLHP est un SHIMADZU SPD-M10A-vp équipé d'un détecteur à barrettes de diodes. La colonne est de type C₁₈ HYPERSIL High Purity Elite, 5µm, (125×4 mm). Un débit de 1 mL/min; et un volume d'injection de 20µL ont été choisis. La phase mobile est constitué d'un mélange 50/50 d'acétonitrile/eau.

3. Résultats et discussions

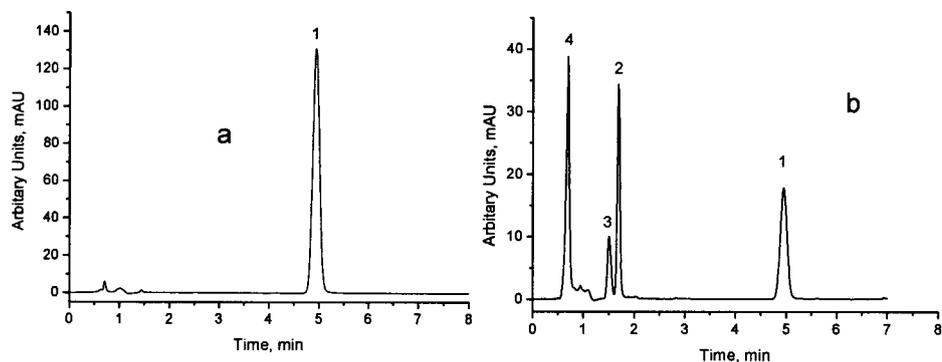


Fig. n° 1 : Chromatogrammes obtenus avant (a) et après (b) irradiation du parathion-méthyl (1). Les produits 2 et 3 ont respectivement été attribués au paraoxon-méthyl et au 4-nitrophénol. Le pic 4 correspond au volume mort.

3.1 Analyse qualitative et quantitative par CLHP

La figure 1 présente deux chromatogrammes, le premier avant irradiation, le second après 90 minutes d'irradiation. Les pics 2 et 3 ont clairement été identifiés grâce à des standards comme étant respectivement le paraoxon-méthyl et le 4-nitrophénol. Puisque nous disposons de standards, nous avons pu quantifier la présence de ces produits au cours des dégradations photochimiques. La figure 2 représente les cinétiques de disparition ou de formation de ces produits. D'après la courbe de dégradation photochimique du parathion-méthyl on en déduit que l'ordre de la réaction est de 1 et que la durée de vie photochimique de ce produit (dans les conditions de l'expérience) est de 38 minutes.

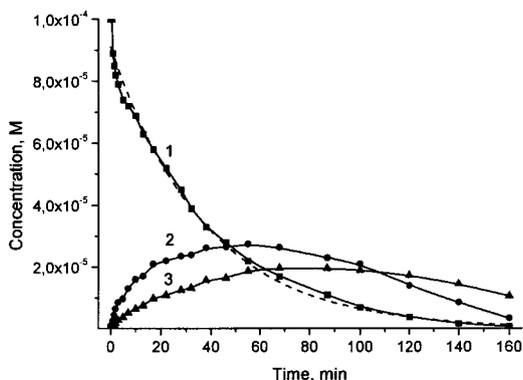


Fig. n° 2 : Cinétiques d'évolution du parathion-méthyl (1), du 4-nitrophénol (2) et du paraoxon-méthyl (3).

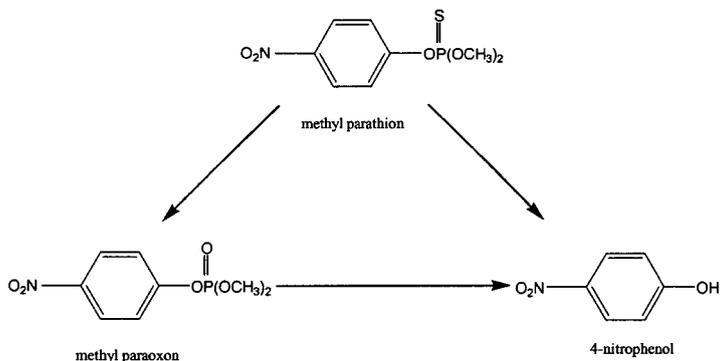


Fig. n° 3 : mécanisme de photodégradation du parathion-méthyl

En s'appuyant sur les données de la littérature ainsi que sur nos résultats, nous avons pu proposer un mécanisme de dégradation photochimique (Fig. 3).

3.2 Analyse qualitative et quantitative par les biocapteurs enzymatiques

Avant de commencer à suivre la dégradation photochimique par les biocapteurs, il est nécessaire de les optimiser d'une part et de les calibrer d'autre part. La figure 4 présente deux expériences d'inhibition par les polluants avec deux enzymes différentes : l'acétylcholinestérase (a) et la butyrylcholinestérase (b). Ces figures montrent clairement d'une part que pour les espèces recherchées, c'est l'AchCE

qui est l'enzyme la plus efficace, (le 4-nitrophénol n'inhibe pas les enzymes cholinestérases). D'autre part, plus le temps de contact est important, meilleure est l'inhibition (résultats obtenus après 60 minutes d'inhibition). De façon à trouver un compromis entre les temps d'analyses et des valeurs élevées des taux d'inhibition, nous avons choisi des temps d'inhibition de 10 minutes pour la suite des expériences. Bien évidemment, un temps plus long nous permettrait d'obtenir des limites de détection plus faible.

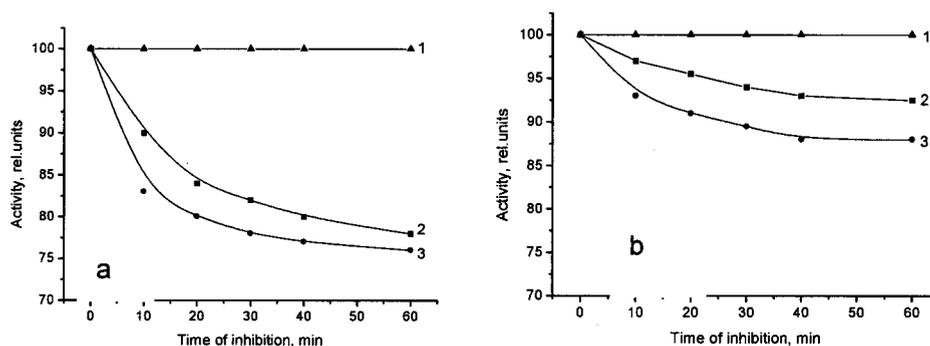


Fig. n° 4 : Suivi de l'activité de l'acétylcholinestérase (a) et de la butyrylcholinestérase après contact avec du 4-nitrophénol (1), du parathion-méthyl (2) et du paraoxon-méthyl (3)

La figure 5 présente les courbes de calibration obtenues avec le biocapteur enzymatique (enzyme AchCE) pour le paraoxon-méthyl (1) et le parathion-méthyl (2).

3.3 Evaluation de la toxicité des produits issus de la photodégradation

La figure 6 présente tout comme la figure 2 les cinétiques d'évolution des produits organophosphorés, mais figure en plus les résultats d'inhibition obtenus avec le biocapteur. Ces résultats montrent que dès que la photodégradation commence, la toxicité vis-à-vis de l'enzyme augmente considérablement. Par ailleurs des valeurs de toxicité maximums (proche de 100%) ont été obtenues pour des temps de réaction compris entre 50 et 60 minutes. Par exemple pour 60 minutes, les concentrations en parathion et paraoxon-méthyl ont été trouvées comme étant égales à $2,0 \cdot 10^{-5}$ M (5,8 et 4,9 ppm respectivement).

La courbe de calibration de la figure 5 nous permet d'estimer les taux inhibition obtenus pour ces deux polluants à ces concentrations. On obtient des valeurs de 2 et 25 % pour le parathion et le paraoxon-méthyl respectivement. Ces valeurs sont beaucoup plus faibles que celles correspondantes aux mélanges obtenus après un

temps de 60 minutes. Cette différence nous laisse supposer qu'un effet de synergie se produit entre les différents polluants. Pour connaître les polluants impliqués dans cet effet de synergie, nous avons réalisé différents mélanges de polluants (4-nitrophénol, paraoxon, parathion) à des concentrations identiques à celles obtenues au cours des réactions de photodégradation. Il apparaît que cet effet de synergie se manifeste essentiellement pour le mélange parathion/paraoxon.

Il existe différentes manières d'évaluer ces effets de synergie. Par exemple Abbott [5] propose la relation suivante (méthode valable si le taux d'inhibition des polluants pris individuellement est inférieur à 70%) :

$$C_{\%} = A + B - (AB/100)$$

Dans cette expression A et B représentent le taux d'inhibition obtenu pour les polluants individuellement. Cette valeur doit être comparée au taux d'inhibition (C_{exp}) obtenu expérimentalement pour le mélange. Si le rapport $C_{exp}/C_{\%}$ est supérieur à 1, on peut en conclure qu'il y a un effet de synergie. Dans notre cas les valeurs de A et de B sont de 2 et 25 % respectivement ce qui donne une valeur de $C_{\%}$ de 26,5 et un rapport $C_{exp}/C_{\%}$ de 3.4. On peut donc conclure qu'il existe un effet de synergie entre ces deux polluants.

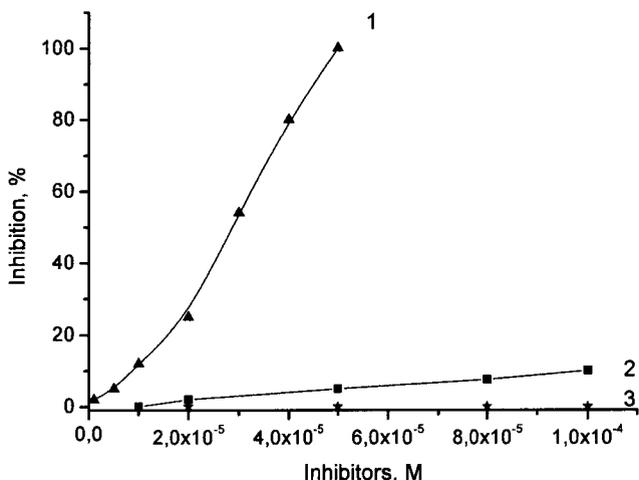


Fig. n° 5 : courbe de calibration des biocapteurs obtenues pour le paraoxon-méthyl (1) et la parathionb-méthyl (2).

Aucune inhibition n'a été obtenue avec le 4-nitrophénol.

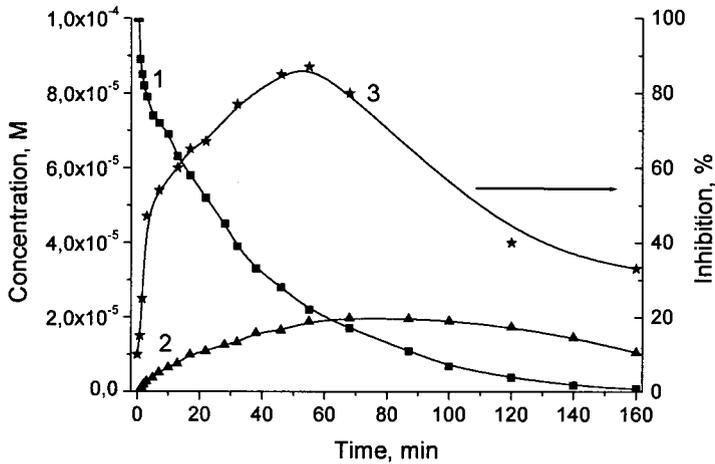


Fig. n° 6 : Evaluation de la toxicité de solutions correspondant à des mélanges de photoproduits obtenus pour différents temps

Références bibliographiques

- [1] Wan K., Chovelon J.M., Jaffrezic-Renault N., Soldatkin A.P., 1999 - Sensitive detection of pesticide using ENFET with enzymes immobilized by cross-linking and entrapment method, *Sensors and Actuators*, B58, 399-408.
- [2] Dzyadevych S.V., Shul'ga A.A., Soldatkin A.P., Nyamsi Hendji A.M., Jaffrezic-Renault N., Martelet C., 1994 - Conductimetric biosensors based on cholinesterases for sensitive detection of pesticides, *Electroanalysis*, 6, 752-758.
- [3] Meallier P, Nury J, Pouyet B, Coste C, Bastide J. 1977 - Photodégradation de molécules phytosanitaires. Cinétique et mécanisme de photodégradation du parathion. *Chemosphere*, 12, 815-820
- [4] Abbott, W.S., 1925 - A method of computing effectiveness of an insecticide, *J. Econ. Entomol.*, 18, 265.

Sciences, société, politique et réglementation : une perspective constante d'actions pour l'UIPP

*Sciences, society, policy and regulation : an ongoing
perspective of actions for UIPP*

Jean-Claude Tournayre, UIPP, 2 rue Denfert-Rochereau
F- 92100 Boulogne-Billancourt
Tél 0141315200 - Fax 0141315210 - e-mail : Tournayrejcl@aol.com

Date de révision : 17 mai 2001

Résumé : Sous l'explosion de la connaissance scientifique dans tous les domaines de la science et en particulier dans celle du vivant, l'extrême médiatisation des dernières acquisitions scientifiques et des récentes problématiques alimentaires a entraîné une perte certaine de confiance au sein de la société civile. Cette perte de confiance affecte, à des titres divers, la plupart des acteurs de la vie économique.

Alors que, globalement, la sécurité ne cesse de progresser du fait de l'évolution logique et souhaitable des connaissances scientifiques, du renforcement des moyens de contrôle et de réglementations européennes ou nationales de plus en plus contraignantes, le consommateur, paradoxalement, voit son inquiétude grandir. Faut-il voir dans ce décalage une des conséquences au recours parfois exagéré du législateur au principe de précaution.

L'industrie de la protection des plantes n'échappe en aucune façon à ce tourbillon et fait face en engageant des efforts sans précédent pour conforter la qualité des produits qu'elle met au point pendant une décennie d'études et même, dans de nombreuses situations, en allant, au quotidien, au-delà de ce qui est demandé par la réglementation.

Cette présentation fait un point rapide sur cette nouvelle donne et met en perspective l'ensemble des actions conduites par l'Union des Industries de la Protection des Plantes depuis plus de quarante ans pour améliorer sans cesse et rendre plus performantes et plus sûres les spécialités qui contribuent, aujourd'hui à une protection raisonnable des cultures.

Abstract : *With the explosion of scientific knowledge in life sciences and on the basis of recent food problematics, a loss of confidence at consumer level has developed, supported by high media coverage. Most of economic sectors are affected.*

The precautionary principle was set up by politicians; European and national regulations are becoming more and more compelling as well as expansive without increasing the perceived degree of consumer confidence.

The pesticide industry does not escape this turmoil despite an increasing number of studies to better assess the risk of chemicals : more than 10 years are now necessary to launch a compound on the market.

This publication tries to put into perspective political decisions built on society concerns and appropriate actions undertaken by the pesticide industry to keep chemicals of crop protection safer than ever and to ensure a sustainable crop protection.

Mots clés : Sciences, produits de protection des plantes, réglementation, société, agriculture raisonnée.

Introduction

Une activité de près de 35 ans dans le domaine de la protection des plantes tant au niveau de la recherche de base que du développement des produits phytosanitaires a permis de vivre une expérience excitante et dans toute sa complexité : 'découvrir' une matière active, préparer son lancement sur le marché, répondre à la question des résidus éventuellement présents dans les aliments ou l'environnement !

Cette expérience a aussi été vécue avec le questionnement constant des consommateurs sur les risques induits par la présence de résidus de produits phytosanitaires dans l'alimentation : ce souci n'a-t-il pas fait les ordres du jour des premières réunions du Groupe Français des Pesticides, il y a une trentaine d'années !

Cette question, si elle est encore d'actualité, fait moins recette car, aujourd'hui, la question essentielle est celle de l'environnement. Il paraît utile, avec ce recul, de mettre les actes de chacun en perspective, ceux des industries de la protection des plantes en particulier, et de voir comment les sociétés de l'UIPP ont pu anticiper les attentes de la société civile.

1. Les années 50

Pour tracer cette perspective, l'Europe semble bien être l'entité politique dans laquelle cette réflexion s'inscrit.

Tout démarre en 1957 avec le Traité de Rome qui pose le fondement de la politique agricole commune avec l'objectif d'établir la suffisance alimentaire pour les européens au sortir de la deuxième guerre mondiale.

Au plan scientifique, c'était le développement industriel de la chimie, les premiers pas de la biologie appliquée à la médecine et les premières réflexions conduites sur la biologie des plantes. C'était aussi le temps pour quelques rares chercheurs d'analyser quelques produits chimiques particuliers au niveau du 'mg/l' et encore avec une certitude toute relative.

Pour l'industrie phytosanitaire, c'était le début de la protection chimique des plantes, la chimie minérale cédant la place aux produits organiques de synthèse dont l'activité pouvait déjà être spécifique pour certains d'entre eux.

2. Les années 70

Ces années confirmaient le besoin d'une nourriture abondante, à bon marché, et pour les agriculteurs français, de faire face à cette demande.

Au plan politique, le Sommet de Paris se tenait en 1972 avec les premières réflexions sur l'environnement.

Ce nouveau domaine d'activité qu'était devenu la protection des plantes faisait se développer les études sur les modes et sites d'action des produits phytosanitaires tandis que les produits organochlorés considérés comme persistants étaient interdits.

3. Les années 80

L'agriculture avait fait face avec succès aux défis qu'on lui avait proposés de relever ; les premières discussions et mesures pour contrôler la production laitière intervenaient.

La directive dite 'Eaux de boisson' était promulguée par Bruxelles et prenait pour principe d'interdire toute trace de produits de protection des plantes dans les eaux en fixant un seuil d'interdiction des pesticides dans l'eau de boisson à la limite jamais atteinte en routine de 0,1 µg/l par produit. Dans d'autres pays ou autres organisations internationales, de telles réflexions étaient conduites mais aboutissaient à l'établissement de limites fixées par produit et en fonction des risques encourus.

Dans le domaine scientifique, la biologie moléculaire s'était fortement développée, permettant d'affiner la sélection de nouvelles molécules à potentialité biologique et à mode d'action spécifique. La pression commençait à s'exercer chez les analystes pour déceler le 0,1 µg/l.

En France, la commission Hénin avait pour mission de faire le point sur l'impact des activités agricoles sur l'environnement ; elle permettait de conclure que, à l'exception de quelques cas, les pesticides n'étaient pas décelés dans les eaux de surface : il faut cependant rappeler que les limites de quantification sur lesquelles reposaient les publications de cette époque étaient bien souvent comprises entre 0,02 et 0,05 mg/l soit environ 500 fois plus élevées que celles pratiquées aujourd'hui.

Au début de la décennie, la société Ciba publiait des résultats de contrôle réalisés sur les grands fleuves européens et nord américains sans pour autant attirer l'attention de beaucoup de scientifiques et des autorités.

L'UIPP lançait la première campagne de surveillance d'une vingtaine d'eaux de captage en collaboration avec un des principaux acteurs de la distribution d'eau en France. Les résultats montraient l'existence de traces de quelques produits dans quelques forages et pour un nombre très limité de matières actives.

4. Les années 90

Ce sont, avant tout, les années de la directive sur l'homologation européenne des produits de protection des plantes (CEE 91/414) complétées par plusieurs autres afin de faciliter l'interprétation de la directive de base ; la plus importante reste cependant la directive sur les Principes Uniformes qui a pour objectif une application commune à tous les états membres de la directive 91/414 et qui a nécessité près de 7 ans de travail pour sa mise au point.

Le Sommet de Rio posait les principes du développement durable et les agriculteurs s'engageaient à produire mieux afin de répondre aux attentes manifestées par la société civile.

La directive 'Eau de boisson' faisait progresser les techniques analytiques et le 0,1 µg/l devenait un défi qui commençait à être franchi par plusieurs laboratoires, sans pour autant l'être de façon routinière.

L'industrie phytosanitaire s'engageait elle aussi dans la voie de la qualité environnementale en participant de façon active au développement du concept de l'agriculture raisonnée : Protection des Plantes et Environnement (PPE) devenait FARRE (Forum de l'Agriculture Raisonnée Respectueuse de l'Environnement).

Deux sociétés phytosanitaires participaient à l'action européenne ISMAP (Integrated System for the Management of Agricultural Pollution) en étroite coopération avec un des leaders du marché de la distribution d'eau en France ; cette action conduisait à mettre en évidence les premières causes possibles de la contamination des eaux et permettait le développement du concept de l'analyse multi-résidus de produits phytosanitaires dans les eaux tout en visant en routine une limite de quantification de l'ordre du 0.05 µg/l.

5. Les années 2000

Ce sont celles qui voient la parution de la Directive Cadre Eaux (2000/60/CE) elle a pour avantage de globaliser l'ensemble des politiques 'eaux' européennes.

Au plan sociétal, le développement du principe de précaution porté à son extrême remet en cause l'ensemble du travail scientifique et voire le fondement même et l'intérêt du progrès scientifique raisonnablement encadré par la réglementation.

Les laboratoires les plus performants sont aptes à déceler dans les eaux des traces aussi faibles que 0.01 µg/l donnant au public le sentiment que l'on retrouve des résidus de pesticides, de plus en plus fréquemment. Cet immense progrès analytique, s'il permet en effet de savoir de façon plus précise ce qui se passe, porte en lui le germe de toutes les interrogations du public et de ses inquiétudes à venir : l'analyste est en mesure de traquer toute trace de produit mis au point par l'homme pour son service à la condition de bien vouloir le chercher. La question n'est plus de dire que l'on a retrouvé quelque chose mais bien de savoir la signification de ce que l'on a trouvé et en particulier du risque que cela représente : à ce stade va-t-il falloir 'interdire' toute nouvelle percée de la connaissance sous le prétexte simpliste du principe de précaution fondé sur l'idée que l'on n'a pas réponse à toutes les questions ? mais y-aura-t-il encore place pour la recherche !

L'industrie phytosanitaire s'implique dans un nombre croissant d'actions tant au plan de la qualité alimentaire de la nourriture mise à la disposition du consommateur que dans le domaine environnemental. En témoignent d'une part la publication du rapport 'Environnement et Santé' de l'UIPP qui présente différentes actions mises en œuvre de façon volontaire par les sociétés pour améliorer les connaissances sur les produits ou renforcer les conseils en vue d'une utilisation plus responsable et d'autre part la participation très active aux Groupes de travail du CORPEN et aux Groupes Phytosanitaires Régionaux.

Les premières actions de bassin versant sont démarrées et démontrent très pratiquement l'intérêt de la mise en œuvre des recommandations du CORPEN pour limiter et voire dans certaines situations atteindre des concentrations en moyenne sur l'année inférieures à 0.1 µg/l dans les eaux.

L'amélioration de la qualité des eaux et par suite de l'environnement se manifeste de façon très pratique : des efforts encore substantiels restent à faire mais les pistes sont identifiées pour généraliser les résultats de ces premières actions.

Au cours de ces cinquante dernières années, le progrès scientifique a fait faire des bonds de qualité significatifs à tous les acteurs du monde industriel avec pour preuve une amélioration d'un facteur de 1 à 100000 dans la capacité des systèmes d'analyse; les exigences des consommateurs et le souci constant de l'amélioration de la qualité du milieu ont fait aussi progresser les services offerts à l'agriculture par les produits de protection des plantes.

Les industriels de ce domaine d'activité ont répondu de façon positive à cette demande ; leurs engagements ainsi que ceux de l'UIPP sont clairs : ils sont prêts à relever les défis actuels qui se présentent tant au plan de l'environnement que de la qualité de l'alimentation afin de satisfaire aux demandes de la société civile, en attendant ceux que le progrès scientifique ne manquera de faire naître à l'avenir.

AFFICHES

Etude de résidus de produits phytosanitaires, produits de leur dégradation ou de leur métabolisme au cours des étapes de l'élaboration du Cognac.

S. Estreguil, B. Galy, F. Desaché, R. Cantagrel,
Station Viticole du Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC)
69, rue de bellefonds, 16100 COGNAC -France-
Tel : 05 45 35 61 00, Fax : 05 45 35 61 45, e-mail : station@bnic.fr

14 mars 2001

Résumé : Ce travail a été réalisé par la Station Viticole du BNIC à partir de données bibliographiques, réglementaires et expérimentales.

Son objectif est de rassembler des éléments techniques relatifs aux effets non intentionnels liés à l'utilisation de produits phytosanitaires en viticulture sur la qualité des produits finis afin d'éviter tout risque potentiel de présence de résidus ou de déviations organoleptiques dans les eaux-de-vie de Cognac.

Compte tenu du niveau d'exportation élevé du Cognac - environ 95 % - et des exigences réglementaires des pays importateurs, l'interprofession a mis en place une cellule de veille et de communication pour garantir la sécurité alimentaire des produits commercialisés.

Différents types d'études sont réalisées : au laboratoire, la modélisation de la distillation des matières actives et leur dégradation est étudiée ; sur le terrain, on réalise des essais à partir de petites parcelles, à l'échelle pilote et en conditions contrôlées, permettant de maîtriser les conditions des traitements, de la récolte, de la vinification et de la distillation.

Des essais en grands volumes dans les conditions de la pratique peuvent compléter ce dispositif expérimental.

Les résidus sont analysés à différents stades des étapes de transformation : moûts, vins, eaux-de-vie nouvelles et Cognacs commerciaux. Quelques matières actives ou produits de dégradation peuvent être présents dans le moût ou le vin. D'une manière générale l'étape de la distillation charentaise à repasse constitue un bon barrage pour la plupart des molécules si elles sont présentes dans les vins.

L'aspect organoleptique qui est abordé par la dégustation des eaux-de-vie nouvelles issues de ces essais est un outil supplémentaire de vérification.

Ces données constituent une aide à la mise à jour régulière des préconisations d'emploi des produits phytosanitaires.

Diffusées auprès des viticulteurs, techniciens et distributeurs, par voie de presse régionale ces informations actualisées sont accessibles aux professionnels du Cognac sous la forme d'une base de données sur le site extranet du BNIC.

Mots-clés : résidus, distillation, base de données

Introduction et objectifs

L'interprofession du Cognac a souhaité la mise en place de cellules de veille technique, réglementaire et de communication pour garantir la sécurité alimentaire des produits commercialisés.

Dans le domaine de la protection phytosanitaire du vignoble, un programme d'action a été initié en 1999 à partir des travaux annuels de la Station Viticole et avec le soutien du conseil régional de Poitou Charentes.

Ce travail a pour objectif de rassembler des éléments techniques relatifs aux "effets non intentionnels" liés à l'utilisation de produits phytosanitaires en viticulture sur la qualité de la production.

Les éventuels effets et les risques encourus doivent être connus et évités. Ces objectifs sont atteints par un travail de fond permanent et substantiel compte tenu, du champ d'investigations (*nombreuses matières actives, effet des agents de formulation*), du niveau élevé d'exportation du Cognac (*95 % pour plus de 120 pays*) et de l'importance du stock d'eaux-de-vie en vieillissement (CANTAGREL et al, 1993).

L'évaluation des risques suppose de connaître les réponses à de nombreuses questions :

- que reste-t-il sur le raisin au moment de la vendange ?
- les résidus superficiels sur raisin se retrouvent-ils tels quels après pressurage ou sont-ils déjà dégradés ?
- que se passe-t-il pendant la fermentation ?
- les molécules présentes dans le vin sont-elles les matières actives ou celles de leur métabolisation ?
- quels rôles jouent la conservation des vins, la distillation et le vieillissement des eaux-de-vie ?
- comment se situent les produits par rapport aux limites maximales de résidus (LMR)?

1. Etudes spécifiques au Cognac

1.1 Le contexte Charentais

Les études concernent l'ensemble des produits phytosanitaires et doivent tenir compte des matières actives et des agents de formulations. Les réponses apportées s'inscrivent dans la spécificité régionale Charentaise.

Le contexte de l'élaboration des Cognacs présente des caractéristiques particulières : cépage Ugni blanc, vignoble de façade océanique à climat humide favorisant en règle générale les maladies fongiques, récolte mécanique quasiment généralisée, vinification sans dioxyde de soufre, ni macération ni débouillage du

moût. La distillation est réalisée en alambic charentais à repasse. La mise en chaudière du vin peut se faire avec ou sans lies de vinification. La chauffe du vin au contact du cuivre métallique, catalyseur de nombreuses réactions chimiques, dure 7 heures environ.

1.2 Aspects théoriques

L'étude des matières actives au laboratoire par la modélisation de la distillation charentaise permet d'évaluer le risque de passage dans l'eau-de-vie et la stabilité de la molécule.

1.2.1 Modélisation de la distillation

Cette approche théorique qui a été développée par MONCHATY (1998) est utilisée en routine pour connaître le comportement des matières actives au cours de la distillation en alambic charentais.

Un dispositif de distillation adiabatique est utilisé pour connaître les coefficients de volatilité des molécules étudiées. Ces données sont connues par l'analyse chimique de la charge et du distillat. Ces déterminations servent ensuite à évaluer, par un modèle mathématique, le comportement des molécules au cours de la distillation charentaise à repasse (figure 1).

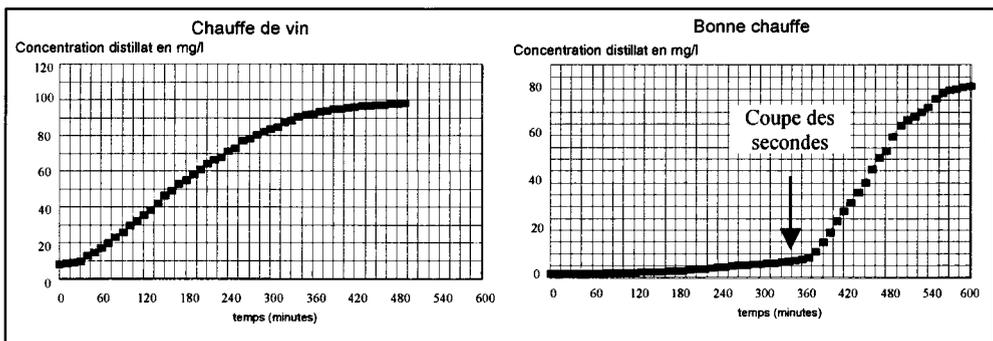


Fig. n° 1 : Exemples de courbes de modélisation pour le calcul du taux de transfert des molécules étudiées (d'après MONCHATY, 1998)

1.2.2 Dégradation des matières actives

La dégradation des matières actives peut être évaluée grâce à un alambic de laboratoire qui respecte les conditions opératoires de la distillation charentaise (conditions thermodynamiques, surface de contact vin/cuivre). Cette approche apporte une information complémentaire sur chaque molécule étudiée et ses éventuels produits de dégradation (figure 2).

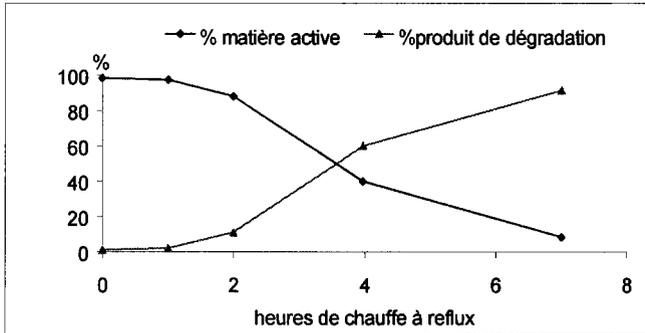


Fig. n° 2 : Cas particulier de la dégradation de la matière active avec formation d'un produit secondaire

1.3 Etapes de transformation des raisins : aspects qualitatifs

Des essais de terrain sont réalisés dans les conditions de la pratique ou à l'échelle pilote, à partir de petites parcelles, permettant de maîtriser les conditions des traitements, de la récolte, de la vinification et de la distillation. Les résidus sont analysés dans les produits résultants : moûts, vins et eaux-de-vie. Ces dernières sont dégustées pour évaluer d'éventuelles déviations organoleptiques.

D'une manière générale, les études pilotes interviennent dans le cadre du dossier d'homologation des formulations commerciales par les firmes. Elles sont réalisées selon la méthode officielle validée par l'AFPP⁽¹⁾ sous le numéro CEB⁽²⁾ 143 (DESACHÉ, 1995). Leur but est l'évaluation des effets «non intentionnels» liés à l'utilisation des produits phytosanitaires.

Dans ce domaine, la Station Viticole a mis en place un référentiel d'assurance qualité et obtenu la certification de bonnes pratiques d'expérimentation (BPE) pour ce qui concerne l'application au champ des produits phytosanitaires.

2. Communication

2.1 Communiqué de presse

Un communiqué de presse annuel reprend les principales conclusions des travaux sous forme synthétique. Ce document qui est largement diffusé auprès des utilisateurs (viticulteurs, distributeurs, firmes) donne avec quelques informations

1 Association Française de Protection des Plantes

2 Commission des Essais Biologiques

pratiques⁽³⁾ les **préconisations spécifiques** adaptées à la protection phytosanitaire du vignoble Charentais dans le respect de la meilleure sécurité alimentaire.

2.2 Base de données informatisée : produits phytosanitaires

2.2.1 Objectifs

La base de données des produits phytosanitaires diffusée sur l'extranet a pour objectif de fournir aux viticulteurs, techniciens, responsables des maisons de Cognac, une information technique à jour.

Le site comporte un volet réglementaire donnant les LMR de 250 molécules (CFCE 2000).

L'utilisateur peut interroger la base de données, par le nom de la maladie ou du ravageur qu'il souhaite traiter, et obtenir la liste des produits appropriés, assortie de leurs risques eaux-de-vie et des préconisations. Un lexique définissant les termes employés indique leur signification au lecteur non averti. Des informations plus scientifiques sont disponibles concernant les diverses matières actives référencées.

Un tel travail ne peut être réalisé qu'avec le concours de tous les acteurs : BNIC, Viticulteurs, Maisons de Cognac, firmes phytosanitaires, UIPP.

2.2.2 Contenu

La base de données est constituée de rubriques correspondant à des données techniques précises et brèves : nom du produit, LMR, masse moléculaire, ...

Ce module est constitué d'un en-tête contenant les informations d'identité du produit : nom commercial, nom de la matière active, n°CAS, ... et de plusieurs satellites thématiques : chimie, œnologie, viticulture, modélisation, analyses, réglementation.

Chaque satellite contient plusieurs rubriques affichables sur un seul écran, simultanément avec la zone d'identité.

Un champ de commentaires libres permet de spécifier certaines particularités liées au produit, ou un problème de validité des données.

3 Le coût des fournitures en viticulture et œnologie 2000

3. Conclusion

Les travaux réalisés par la Station Viticole du BNIC permettent de connaître la situation sur une série de matières actives aux différentes étapes de l'élaboration, les possibilités de réduction ou d'élimination technologique. Ces données constituent une aide à la mise à jour régulière des préconisations d'emploi des produits phytosanitaires diffusées dans la région délimitée de production du Cognac, auprès des viticulteurs, techniciens et distributeurs, par voie de presse régionale et par une base de données accessible aux professionnels du Cognac via le site extranet du BNIC.

Références bibliographiques

- CANTAGREL (R.), VIDAL (J.P.), LURTON (L.), DESACHÉ (F.), ESTREGUIL (S.), 1992. *Les résidus de produits phytosanitaires : un problème complexe dans un environnement réglementaire en pleine évolution*. Elaboration et connaissance des spiritueux, Lavoisier Tec & Doc, 87-99.
- CFCE Mise à jour n° 17, octobre 2000. Les résidus de pesticides dans les fruits et légumes et les pommes de terre, dans les pays d'Europe occidentale (UE, Suisse, Norvège). Dossiers de la Direction des Produits Agro-Alimentaires (DPA) série « Qualité et Hygiène alimentaire ».
- DESACHÉ (F.), 1995 . La lutte chimique contre l'oïdium et le black-rot, comment éviter tout risque pour la qualité des eaux-de-vie – Journée technique de la Station Viticole, 21 septembre.
- MONCHATY (A.), 1998. Devenir et transformation des résidus de pesticides au cours de la distillation charentaise. Thèse Université de Reims Champagne-Ardenne.
- ITV France, Chambre d'Agriculture du Roussillon, 2000. *Le coût des fournitures en viticulture et œnologie*. Edition 2000, 29^{ème} année.

Dégradation photochimique des herbicides phénoxyalcanoïques en milieux aqueux

Photochemical degradation of phenoxy acid herbicides in aqueous media

Fatiha Fdil¹⁻³, Jean-Jacques Aaron², Nihal Oturan¹, Aziz Chaouch³, Mehmet A. Oturan¹

¹ Laboratoire des Géomatériaux, Université de Marne la Vallée, 5 boulevard Descartes, bâtiment IFI, Champs sur Marne, 77454 Marne la Vallée Cedex 2, France., Tél : 01 49 32 90 17, Fax : 01 49 32 91 37, E-mail : fatif2002@yahoo.fr.

² Institut de Topologie et de Dynamique des Systèmes de l'Université Paris 7, Denis Diderot, associé au CNRS, UPRESA 70-86, 1, rue Guy de la Brosse, 75005 Paris., Tél : 01 44 27 69 92, Fax : 01 44 27 68 14, E-mail : aaron@paris7.jussieu.fr.

³ Laboratoire de Chimie Appliquée, Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences de Kénitra, BP : 1246, Kénitra, Maroc, Tél : 00 212 37 37 19 01, Fax : 00 212 37 37 27 70, E-mail : a.chaouch@caramail.com.

Résumé : Les systèmes d'épuration déjà existants, semblent être dépassés par les polluants organiques toxiques non biodégradables, ces derniers représentent une menace sérieuse pour l'environnement et la santé publique. Pour remédier à cette préoccupation un certain nombre de méthodes de traitement chimique des eaux polluées a été proposé, et ce en l'absence d'une méthode universelle dans ce domaine. La contamination des cours d'eau ainsi que les eaux souterraines par les herbicides de la famille acide chlorophénoxyalcanoïque est constatée en France et dans le monde. Il serait donc judicieux d'étudier la destruction photochimique de ces molécules. Nous avons étudié deux molécules représentatives de cette famille (2,4-D et MCPP). Le procédé photochimique est une alternative prometteuse car il permet de dégrader le produit initial et peut même aboutir si les conditions opératoires le permettent jusqu'à la minéralisation complète en CO₂ et H₂O. Ce procédé fait partie des procédés d'oxydation avancée utilisant les radicaux hydroxyles comme oxydant, ces derniers sont produits par irradiation de l'eau oxygénée à $\lambda = 254$ nm. La dégradation photochimique des herbicides étudiés a été réalisée dans un photo-réacteur muni d'une lampe UV-40W, selon les systèmes suivants : UV seul, UV/H₂O₂, UV/H₂O₂ /Fe³⁺. Le dernier système appelé aussi photo-Fenton consiste à irradier la solution contenant le pesticide en présence d'une quantité catalytique d'un sel de fer et de l'eau oxygénée. L'évolution de la composition chimique des pesticides étudiés est suivie par CLHP et par la DCO. La cinétique de dégradation, la nature et l'évolution des produits intermédiaires formés ainsi que le rendement du procédé sont déterminés.

Abstract : Existing water treatment systems seem to be already surpassed by toxic and non biodegradable organic pollutants which represent a serious threat for environment and public health. In order to solve this problem, various chemical treatment methods of polluted waters have been proposed, but no universal process is still available. The contamination of waterways and ground waters by the chloro phenoxy acid herbicides is observed in France and worldwide. It is of great interest to study photochemical destruction of these molecules. In this work, we investigated two molecules belonging to this family (2,4-D and MCPP). The photochemical process constitutes a promising alternative : indeed, the initial product is degraded and can lead to complete mineralization in CO₂ and H₂O under appropriate conditions. This process belongs to advanced oxidation processes using hydroxyl radicals as oxidant (produced by irradiation of hydrogen peroxide at $\lambda = 254$ nm). The photochemical degradation of the herbicides under study has been performed in a photoreactor equipped with a 40W UV lamp, using the following systems: UV only, UV/H₂O₂, UV/H₂O₂/Fe³⁺. The latter one, also called photo-Fenton, consists in irradiating the herbicide solution in the presence of catalytic quantities of iron salt and hydrogen peroxide. The evolution of the chemical composition of the herbicides under study was monitored by HPLC and DCO. The degradation kinetic, the nature and evolution of the intermediate products and the process efficiency were also determined.

Mots clés : acide phénoxyalcanoïque, procédé photo-Fenton, radicaux hydroxyles.

Keywords : chlorophenoxy acid, photoFenton process, hydroxy radicals.

Introduction

La plupart des pays ont recours à l'utilisation des produits phytosanitaires, pour assurer leur sécurité alimentaire et pour maintenir la production agricole aux niveaux souhaités. A l'échelle mondiale, l'augmentation assez spectaculaire des rendements en agriculture est attribué en partie à l'emploi de ces pesticides.

Cependant, au cours du temps, l'utilisation intensive de ces substances chimiques a conduit à leur accumulation dans les eaux avec des conséquences dans certains cas sur la santé humaine. Ainsi en 1995, 5 millions de Français buvaient une eau non conforme sur le plan sanitaire (Nadeau et al., 2000).

Parmi ces produits phytosanitaires, nous avons principalement étudié les herbicides de la famille des acides phénoxy-alcanoïques. L'acide libre et les sels disponibles dans ces composés sont fort solubles dans l'eau et ne peuvent donc être adsorbés sur les couches supérieures du sol; ils s'infiltrent alors dans la nappe phréatique et contaminent ensuite les eaux souterraines (Mejbar., 1994). Pour lutter contre ce type de pollution hydrique, les techniques photochimiques semblent être bien adaptées. Il s'agit de procédés d'oxydation avancée qui sont basés sur la réactivité des radicaux hydroxyles (OH^{*}). Ces derniers peuvent être produits par différentes méthodes telles que : l'électrochimie, la photochimie, la radiolyse et la réaction de Fenton (Barbeni et al., 1987).

Le système photo-Fenton est un procédé de traitement qui a un fort potentiel de dégradation pour les herbicides chlorés (Kaiqum et al., 1999). Les sels de fer sont

utilisés en combinaison avec H_2O_2 pour générer des radicaux OH^\bullet , qui attaquent les composés organiques. Ce procédé permet la minéralisation totale du produit initial et des photoproduits en CO_2 et H_2O . Dans ce travail nous avons comparé trois procédés à savoir la photochimie directe (UV seul), la photochimie assistée (UV/ H_2O_2) et la réaction photo-Fenton (UV/ H_2O_2 / Fe^{3+}). Le suivi par CLHP et la DCO a permis de déterminer la quantité de matière organique éliminée par les trois systèmes, de comparer leurs performances et enfin de suivre la cinétique de dégradation ainsi que la nature et l'évolution des produits intermédiaires.

Matériel et méthodes

Les produits étudiés le 2,4-di-Cl-phénoxy-acétique (2,4-D) et le 2,4-méthyl-chloro-phénoxy-propanoïque (MCP) et les standard utilisés pour les analyses chromatographiques sont des produits de haute pureté de la Société Aldrich. Pour la préparation des solutions et de la phase mobile l'eau employée a été obtenue à partir d'un système Millipore Milli-Q.

Les solutions aqueuses sont préparées à une concentration de 1mM et ajustées à $\text{pH} = 2$ avec de l'acide sulfurique, cette concentration correspond à peu près à la limite de solubilité des produits dans l'eau. Nous avons acidifié le milieu afin d'éviter la précipitation des ions Fe^{3+} et Fe^{2+} sous forme de leur hydroxydes respectifs. Ces ions ferriques sont introduits sous forme de $\text{Fe}(\text{SO}_4)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en quantité catalytique, de l'ordre de 2 mM, La concentration d'eau oxygénée ajoutée varie de 4 -10 mM.

Les photolyses sont réalisées dans un photo-réacteur équipé d'une lampe à mercure à basse pression qui émet un rayonnement à 254 nm, avec une puissance de 40W. Le réacteur utilisé en verre borosilicaté (volume de 1000 ml), comporte une double paroi et est entouré de papier d'aluminium. Une pompe péristaltique permet la circulation et l'homogénéisation de la solution. La lampe UV, en position axiale est protégée de la solution photolysée par une gaine de quartz. (épaisseur annulaire = 3,5 cm).

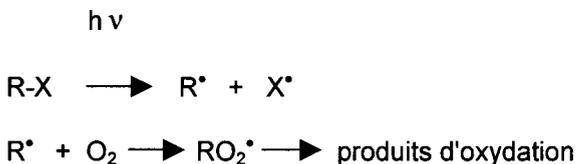
Les prélèvements sont effectués à des intervalles de temps croissants durant la photolyse et analysés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) sur un système Lachrom Merck, comprenant une pompe L-7100 équipé d'un détecteur à barrette de diodes L-7455 et d'une colonne (purospher RP-18, 250mm x 4,6 mm). La phase mobile est un mélange eau-acétonitrile 40:60 v/v contenant 2% d'acide acétique avec un débit de 1 ml/min. La détection a été effectuée à 280nm pour les deux produits. L'analyse qualitative a été réalisée par comparaison des temps de rétention des échantillons prélevés à ceux des produits standard.

Le pourcentage de la matière organique éliminée par nos procédés a été déterminé par mesure de la demande chimique en oxygène (DCO) selon la microméthode normalisée Afnor dans un appareillage à six postes (BEHR, Labor Technik, BEHROTEST TRS 200).

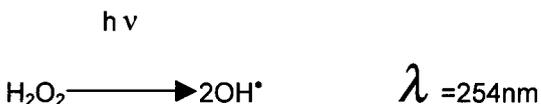
Résultats et discussion

1. Principe des photoréactions appliquées

1.1 UV seul

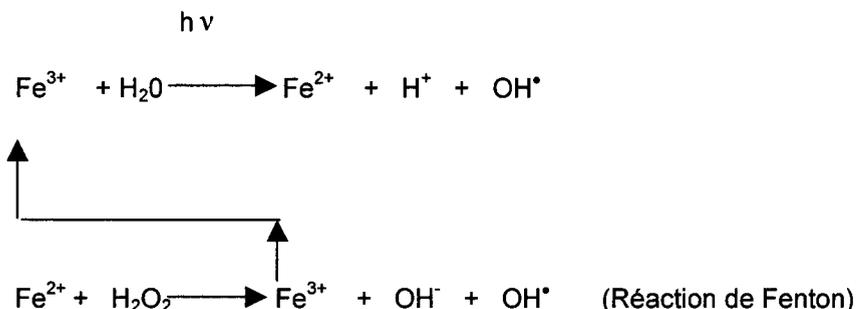


1.2 UV/H₂O₂



Les radicaux OH[•] sont des oxydants forts en solution aqueuse. Les sites susceptibles d'être attaqués par les radicaux OH[•] sont nombreux mais deux types de réactions prédominent, à savoir l'abstraction d'atome d'hydrogène et l'addition sur des liaisons carbone-carbone non saturées. La fin de la réaction est justifiée par la minéralisation totale de la matière organique.

1.3 UV/H₂O₂/Fe³⁺ - photo-Fenton



La méthode photo-Fenton consiste à produire des radicaux hydroxyles par ajout d'eau oxygénée et d'une quantité catalytique de sel de fer. La dégradation aboutit à la formation intermédiaire de dérivés organiques hydroxylés et se termine par la minéralisation complète en CO₂ et H₂O si les conditions opératoires le permettent.

2. Analyse CLHP

Le suivi de la réaction par CLHP nous a permis d'observer simultanément la destruction du produit de départ, la formation et l'évolution des produits et/ou des photoproduits. Les temps de rétention du 2,4-D et du MCPP sont respectivement de 10,5 min et 16,7 min.

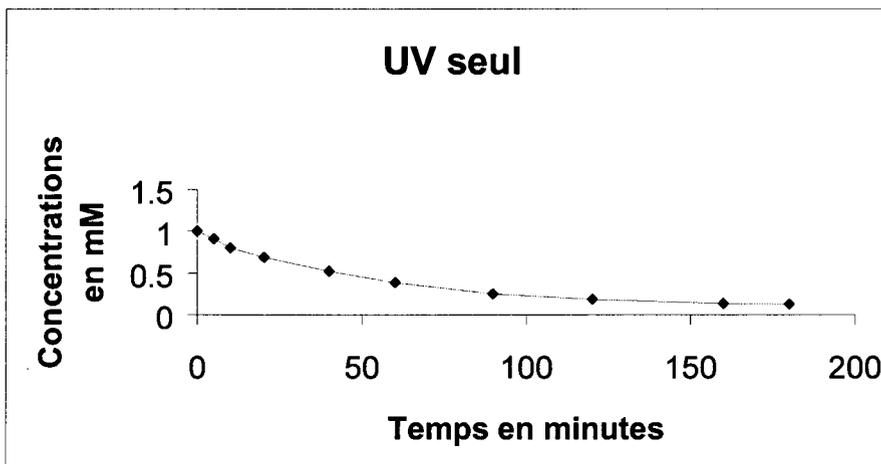


Fig. n° 1 : Evolution de la concentration du 2,4-D par UV seul en fonction du temps.

La figure 1 montre que la destruction partielle du 2,4-D s'effectue au bout de trois heures d'irradiation UV. Ce temps assez long, nécessite beaucoup d'énergie et conduit à remplacer fréquemment la lampe UV du photo-réacteur. L'analyse des chromatogrammes indique qu'au bout de cinq minutes d'irradiation les photoproduits sont formés et évoluent en fonction du temps. Nous avons aussi pu déterminer la nature de deux photo-produits le chlorobenzoquinone Cl-BQ ($t_r = 5,05$ min) et le 2,4-dichlorobenzoquinone 2,4-DCP ($t_r = 13,25$ min) en comparant les temps de rétention avec des produits standard.

Ce temps de la réaction trop long nous a amené à rechercher une autre méthode permettant de diminuer la durée de la manipulation et d'atteindre le même objectif c'est à dire la destruction du pesticide. Nous avons, donc opté pour une méthode basée sur la combinaison UV/H₂O₂.

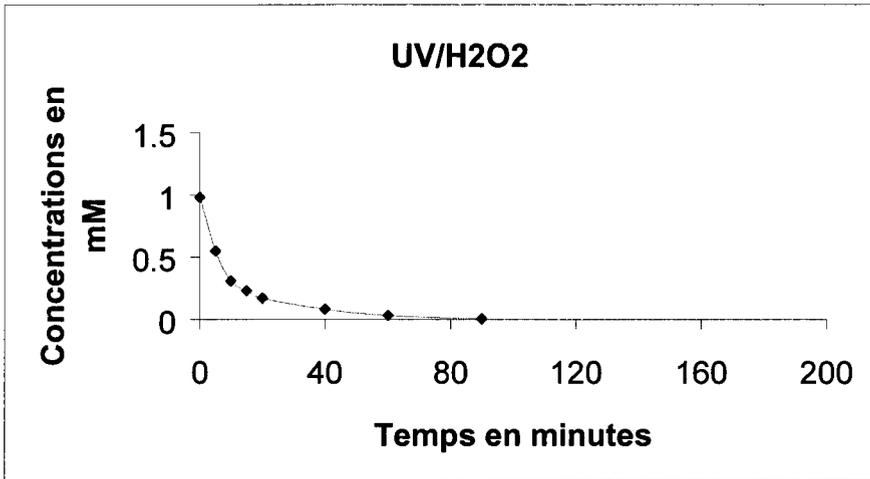


Fig. n° 2 : Dégradation du 2,4-D par UVH₂O₂ en fonction du temps

Comme l'indique la figure 2, le temps de la réaction du 2,4-D a diminué d'une façon spectaculaire de trois heures à environ une heure, de plus le produit de départ a été totalement éliminé ; de la même manière que précédemment de nouveaux produits apparaissent assez rapidement (2 minutes) et leurs pics CLHP évoluent en fonction du temps.

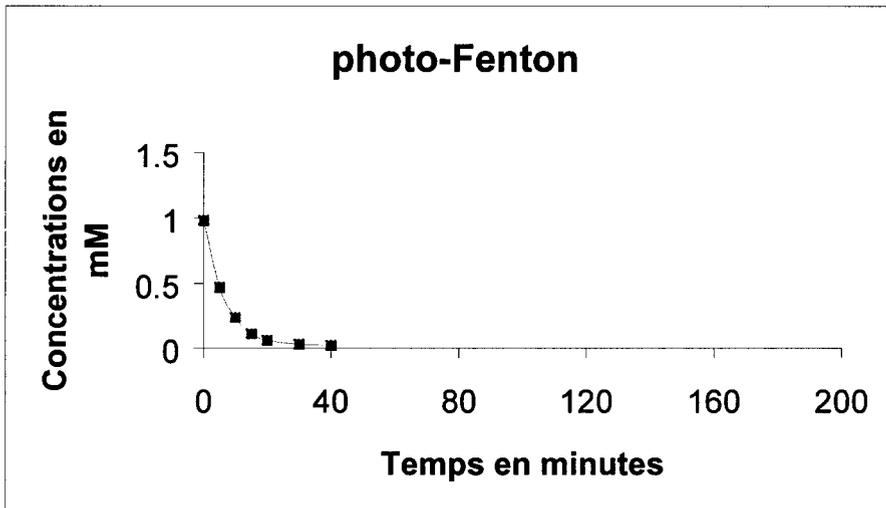


Fig. n° 3 : Dégradation du 2,4-D par procédé photo-Fenton en fonction du temps d'irradiation

Enfin, nous avons appliqué un troisième procédé, à savoir la combinaison UV/H₂O₂/Fe³⁺ (photo-Fenton) qui permet de dégrader rapidement et complètement le 2,4-D (figure 3) en 30 min d'irradiation environ. L'irradiation des herbicides étudiés en présence du réactif de Fenton a permis de réduire d'environ 80% la durée du rayonnement. Comme nous l'avons vu précédemment la réaction de Fenton consiste en la formation de radicaux OH[•] par réaction du peroxyde d'hydrogène avec les ions ferreux. Les radicaux hydroxyles formés sont très réactifs et vont réagir à leur tour jusqu'à la minéralisation totale, si les conditions opératoires le permettent (Colonna., 1999).

La technique photo-Fenton a permis la minéralisation quasi totale du produit de départ et des produits intermédiaires en un temps assez court. Ces résultats s'accordent avec les travaux déjà entrepris par la technique électro-Fenton dans le cas des mêmes molécules en milieux aqueux et d'autres molécules organiques tel que le pentachlorophénol. (Mazellier.,1997, Oturan et al., 1999, Aaron et al., Brillas., 2000). Nous remarquons aussi que le procédé photochimique nécessite l'ajout d'eau oxygénée pour la production des radicaux OH[•], alors que par le procédé électrochimique, les radicaux OH[•] sont formés in situ.

3. Mesure de la demande chimique en oxygène (DCO)

La mesure de la DCO nous renseigne sur la minéralisation complète du produit de départ et des produits de dégradation. Ainsi, la figure 4 montre que, pour le 2,4-D près de 80% de la matière organique est éliminée par le procédé photo-Fenton au bout de 40 min d'irradiation et 96% de celle ci est dégradée pour le MCPP au bout de 30 min d'irradiation UV.

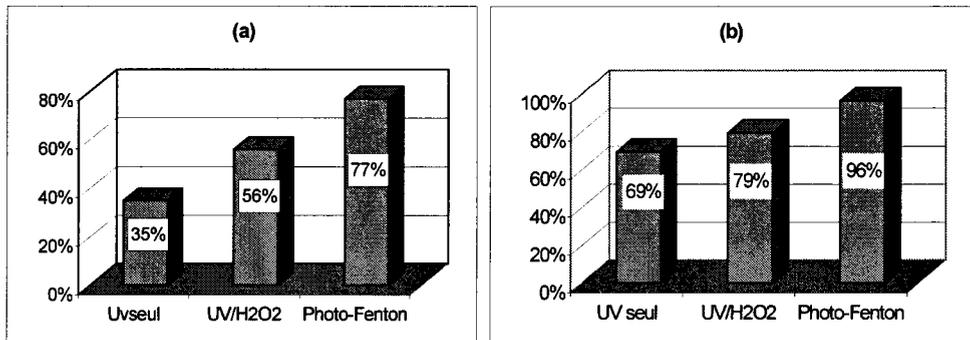


Fig. n° 4 : Comparaison des performances des systèmes utilisés en fonction du pourcentage d'élimination de la matière organique en terme de DCO pour :
a) 2,4-D , b) MCPP

Conclusion

Dans ce travail, nous avons comparé les vitesses de dégradation et les quantités de matière organique éliminées pour deux herbicides de la famille des acides phénoxyalcanoïques (2,4-D et MCPP) par UV seul, UV/H₂O₂ et UV/H₂O₂/Fe³⁺.

La dégradation par UV seul est lente et partielle, (3 heures pour le 2,4-D et 2 heures pour le MCPP), elle ne permet pas la destruction des photoproduits. La matière organique est éliminée à environ 35% pour le 2,4-D et de 69% pour le MCPP. Le système UV/H₂O₂ a permis la dégradation totale des herbicides de départ et des produits intermédiaires en 1 heure dans nos conditions expérimentales. Le procédé photo-Fenton a encore amélioré d'une façon significative les performances photochimiques en diminuant le temps d'irradiation (30 min) et en permettant de minéraliser quasi totalement la matière organique (80% de matière organique éliminée pour le 2,4-D et 96% pour le MCPP). La courte durée d'irradiation permet aussi une grande économie d'énergie.

Références bibliographiques

- Aaron J.J et Oturan M.A, *Turk.J.chem*, sous presse.
- Barbeni M., Minero C., Pelizetti E et Serpone N , 1987, *Chemosphere* , 16 , p 2225-2237
- Brillas E , Calpe J et Cassado J, 2000 , *Wat Res* , 34 , p 2253-2262.
- Colonna G.M , Tullio C et Bruno M , 1999 , *Dyes and Pigments* 41 , p 221-220.
- Kaiqum W , Yindie X , Jincai Z et Hisao H , 1999, *Mol Catal chem* , 144, p 77-84.
- Nadeau I, Clicquot de Mentque C,. 2000, *Environnement magazine* n° 1584.Février, p.32.
- Mazellier P., Sarakha M., Bolte M, 1997 , *Pestic. Sci.*, 49, p259.
- Mejbar F , 1994, Comportement de l'herbicide 2,4-D dans le sol en prévision de la contamination des eaux souterraines , Meknès, Maroc , Thèse , 135 p.
- Oturan M.A, Aaron J.J, Oturan N. et .Pinson J., 1999 *Pestic Sci* ,55, p 558-562.

Dégradation de la cyromazine par photolyse. Application de la photocatalyse.

*Degradation of cyromazine by photolysis.
Application of photocatalysis.*

Gaëlle Goutailler^a, Jean-Christophe Valette^a, René Faure^a, Chantal Guillard^b

(a) LSSA, Université Claude Bernard Lyon I,
43 boulevard du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne cedex
Tel : 0472431153 Fax : 0472446202
E-mail : faure@univ-lyon1.fr
gaëlle.goutailler@univ-lyon1.fr
jcvallette@yahoo.fr

(b) Laboratoire de Photocatalyse, Catalyse et Environnement, IfoS,
Ecole Centrale de Lyon, BP163, 69131 Ecully cedex
Tel : 0472186494 Fax : 0478330337
E-mail : chantal.guillard@ec-lyon.fr

Résumé : Sous irradiation UV, la photolyse et la photocatalyse de l'insecticide cyromazine (N-cyclopropyl-1,3,5-triazine-2,4,6-triamine) ont été étudiées pour une solution aqueuse à 10 ppm. La plupart des composés organiques formés lors de la photodégradation ont été identifiés par LC-MS.

Abstract : Upon UV irradiation, photolysis and photocatalysis of the insecticide cyromazine (N-cyclopropyl-1,3,5-triazine-2,4,6-triamine) have been studied for a 10 ppm aqueous solution. Most of the organic compounds occurring during the photodegradation have been identified by LC-MS.

Mots-clés : cyromazine, dioxyde de titane, photolyse, photocatalyse, photodégradation.

Keywords : cyromazine, titanium dioxide, photolysis, photocatalysis, photodegradation.

Introduction

Les s-triazines comptent parmi les pesticides les plus utilisés. Leurs produits de photodégradation sont principalement formés par suite de N-déalkylation et de désamination des différents substituants du cycle triazinique. Cette dégradation conduit à l'acide cyanurique, non photodégradable. La cyromazine est un insecticide utilisé depuis une dizaine d'années dans les élevages de volailles et d'ovins, ainsi que dans les maraîchages. C'est une s-triazine atypique, représentant le groupe le plus aminé des s-triazines mono-N-alkylées.

1. Matériel et méthodes utilisés

1.1 Matériel

La cyromazine employée (pureté > 95%) a été fournie par la société Novartis. La mélamine (pureté > 99%) provient de Fluka Chemika. Le photocatalyseur utilisé est le dioxyde de titane « Degussa P25 ».

1.2 Méthodes

Les irradiations sont réalisées avec une lampe à mercure Philips HPK 125W, émettant dans le domaine de longueurs d'onde 250-450 nm, avec un maximum d'émission à 360 nm. Le photoréacteur est en pyrex, permettant ainsi de simuler une partie du rayonnement solaire en supprimant les longueurs d'onde inférieures à 290 nm.

La concentration initiale en cyromazine est fixée à 10 mg L⁻¹. Le volume de solution irradiée est de 70 mL. La solution reste au contact de l'air tout au long de l'irradiation.

1.3 Analyses chromatographiques

La dégradation de la cyromazine est suivie par chromatographie liquide. Le chromatographe utilisé est le modèle Shimadzu LC-10AS, avec une colonne Chrompack Omnispher C18 (250 x 4,6 mm ; 5 µm). La phase mobile est constituée du mélange eau (pH 7)/acétonitrile : 95/5 (v/v). La longueur d'onde de détection est fixée à 220 nm.

La caractérisation des produits de dégradation nécessite l'emploi du couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS). Le chromatographe utilisé est un HP 1100 série LC MSD, avec une colonne chromatographique Chrompack C18 Inertsil ODS3 (150 x 3 mm ; 5 µm) et une pré-colonne (10 x 3 mm). La phase mobile est constituée d'eau (pH 4,3) et de méthanol, dans un rapport 95/5 (v/v). La détection UV est réalisée de 210 à 300 nm grâce à une barrette de photodiodes, et la détection en masse est effectuée en modes positif et négatif.

2. Résultats et discussion

2.1 Photolyse

La photolyse de la cyromazine (**1**) conduit, au bout de 30 h d'irradiation, à une disparition de 59% de la cyromazine initiale (figure 1).

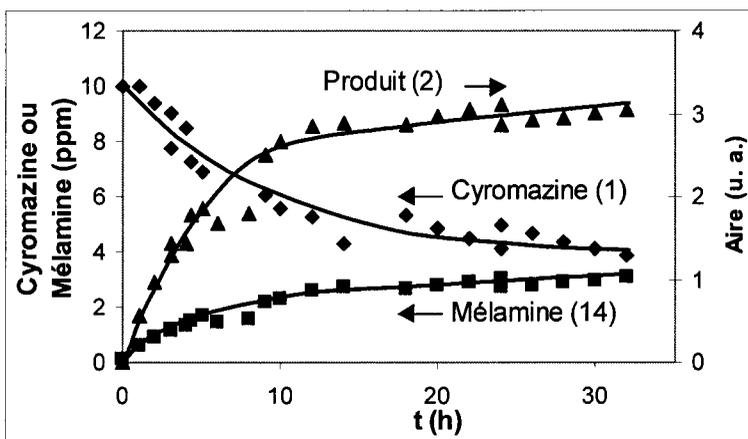


Fig. n° 1 : Photolyse de la cyromazine

La mélamine (2,4,6-triamino-1,3,5-triazine) (**14**), identifiée par LC-MS et quantifiée grâce à un étalonnage, représente 67% des photoproduits formés au bout de 30 h d'irradiation. Parmi les autres composés apparus, l'intermédiaire majoritaire a été caractérisé par LC-MS comme étant le 3-amino-N-(4,6-diamino-1,3,5-triazine)-3-ol-propionaldéhyde (**2**). Il est formé suite à une ouverture puis à une oxydation du groupement cyclopropyl. Il se transforme ensuite, par une série d'oxydations et de décarboxylations, en N-(4,6-diamino-1,3,5-triazine)-formamide (**11**) identifié également par LC-MS.

2.2 Photocatalyse

2.2.1 Cinétique de disparition de la cyromazine

La dégradation de la cyromazine a été réalisée avec une quantité de dioxyde de titane de $0,7 \text{ g L}^{-1}$, quantité optimale pour notre système d'irradiation. La disparition de la cyromazine est complète en moins d'une heure (figure 2). Une cinétique de premier ordre modélise cette disparition. La présence du photocatalyseur accélère très nettement la dégradation de la cyromazine comparé à la photolyse. En effet, la vitesse initiale de disparition de la cyromazine est 30 fois plus importante en présence de TiO_2 ($24 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ contre $0,8 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

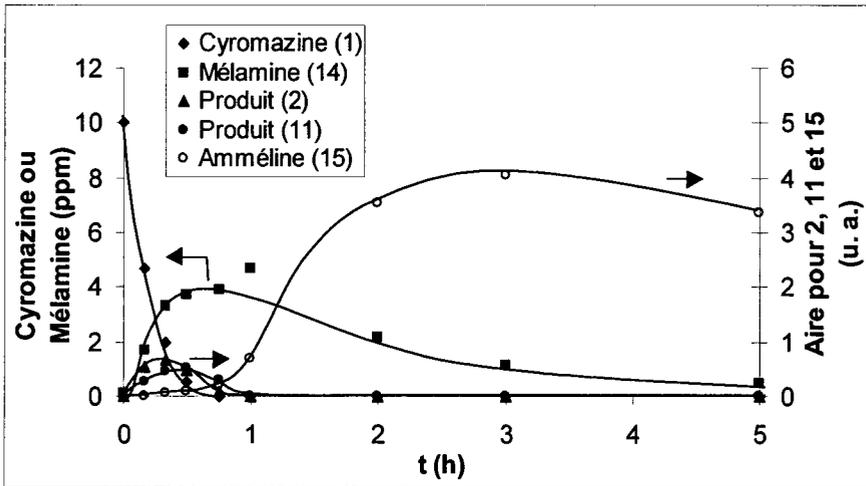


Fig. n° 2 : Photocatalyse d'une solution aqueuse de cyromazine à 10 ppm

2.2.2 Nature et évolution des intermédiaires

Comme en photolyse, la formation des composés (2) et (11) est observée par photocatalyse. En présence de TiO_2 le 3-amino-N-(4,6-diamino-1,3,5-triazine)-3-ol-propionaldéhyde (2) conduit au composé (11) en moins d'une heure. Celui-ci se transforme en mélatamine (14) qui s'oxyde en amméline (15). Il est à noter que la formation de l'amméline débute en même temps que la dégradation de la mélatamine.

Après 10 minutes d'irradiation, la mélatamine représente 22% de la cyromazine initiale, et correspond à 42% des photoproduits formés. Par photolyse, 30 h d'irradiation sont nécessaires pour obtenir un tel avancement de réaction.

2.3 Voie de dégradation de la cyromazine

Le schéma 1 est une proposition de voie de dégradation de la cyromazine. Il est établi suite à la caractérisation des différents photoproduits formés lors de la photolyse (marqués par un astérisque) et de la photocatalyse, par LC-MS.

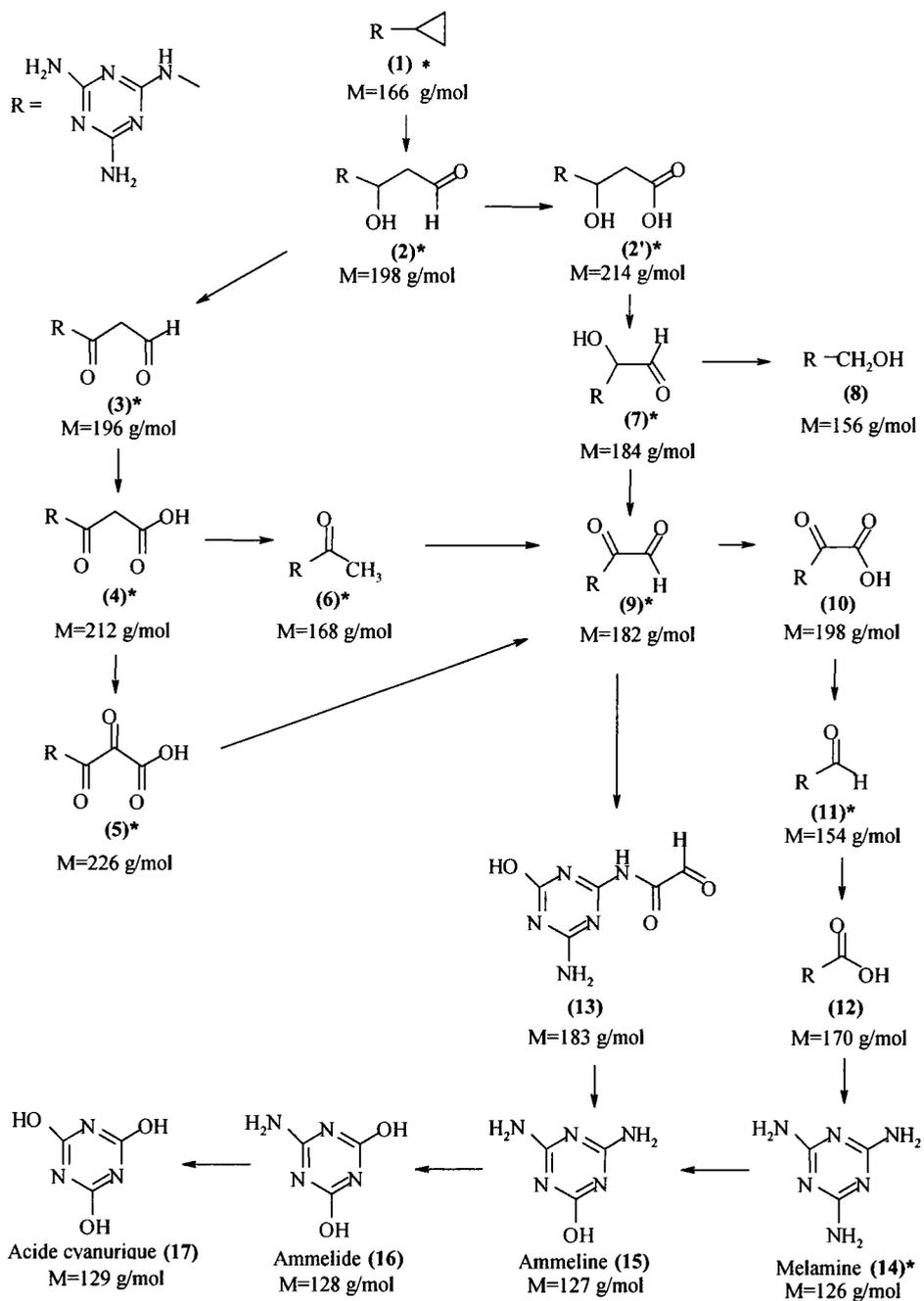


Schéma 1 : Intermédiaires de dégradation photocatalytique de la cyromazine (*) Composés observés à la fois par photolyse et photocatalyse

Influence du choix de la méthode d'investigation lors des études de photodégradation des herbicides

E. Vulliet*, C. Emmelin*, M.F. Grenier-Loustalot**, J.M. Chovelon*

* Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire d'Application de la Chimie à l'Environnement, UMR 5634, 43 bd du 11 novembre 1918, Villeurbanne Cedex
Tél : 04.72.43.26.38 / Fax : 04.72.44.81.14 / Email : chovelon@univ-lyon1.fr

** SCA – Service Central d'Analyse –USR 059 CNRS, Echangeur de Solaize, BP 22, 69390 Vernaison

Résumé : L'influence des conditions expérimentales sur le comportement photochimique du cinosulfuron et du triasulfuron (sulfonylurées bichromophoriques) a été étudiée en milieu phosphate. En particulier l'importance du choix des conditions d'irradiation (lampe HPK ou xénon, réacteur en quartz ou en pyrex) sur les résultats cinétiques, les calculs d'efficacité quantique et le chemin réactionnel de photodégradation des herbicides a été mis en évidence.

Abstract : *Influence of experimental conditions on photochemical behavior of cinosulfuron and triasulfuron (bichromophoric sulfonylurea) was studied in phosphate buffer. Particularly, consequence of irradiation conditions choice (HPK or xenon lamp, quartz or pyrex reactor) on kinetics, quantum yields and photodecomposition pathway was shown.*

Mots clés : cinosulfuron, triasulfuron, photochimie

Introduction

Afin de déterminer précisément le rôle de chacun des facteurs environnementaux, la modélisation du comportement des pesticides sous irradiation solaire se fait généralement en laboratoire. Le choix du système d'irradiation (lampe, réacteur quartz ou pyrex, suntest) et des conditions opératoires est souvent délicat, et peut intervenir sur les résultats obtenus. Ainsi la modélisation des phénomènes observés peut être faussée par les conditions photochimiques choisies. Il est donc important d'adapter les méthodes d'investigation au but recherché, notamment dans le cadre d'études sur l'évolution des herbicides dans l'environnement où l'on doit se rapprocher au mieux des conditions environnementales.

1. Matériels et méthodes

Herbicides : le cinosulfuron (pureté 98%) et le triasulfuron (pureté 99%) proviennent de Riedel-de Haën. Ils sont solubilisés dans un tampon phosphate (pH=7).

Conditions d'irradiation : toutes les expériences ont été conduites à 19°C, à pression atmosphérique et sous agitation magnétique. Deux types de source lumineuse ont été utilisés :

- un simulateur solaire (suntest) HERAEUS, équipé d'une lampe au xénon 1,1 kW, dont le spectre d'émission est continu de 290 à 800 nm
- une lampe PHILIPS HPK 125 W (moyenne pression de mercure).

Deux photoréacteurs différents ont été utilisés avec cette source : un réacteur en quartz et un réacteur en pyrex coupant les longueurs d'onde inférieures à 290 nm.

La mesure du flux lumineux a été réalisée par la méthode actinométrique à l'oxalate d'uranyle, préconisée par l'ECETOC (European Chemical Industry & Toxicology Center).

Conditions d'analyse : les échantillons irradiés ont été analysés par CLHP et par CLHP-SM :

- CLHP : colonne hypersil BDS C₁₈ , 5µm, (125x4) mm, débit 1 mL/min, injection 20 µL, détecteur à barrettes de diodes Shimadzu SPD-M10A-vp, phase mobile A = méthanol, B = eau acidifiée à pH=2,8 (H₃PO₄), élution par gradient linéaire en 30 minutes de 5% en A à 50%.

SM : électrospray en modes positif et négatif, débit d'azote : 12L/min (350°C), pression de nébulisation : 50 psig, tension du capillaire : 4000V.

2. Résultats

2.1 Caractéristiques spectrales

Les spectres d'absorption du cinosulfuron et du triasulfuron dans le tampon phosphate, sont présentés figure 1. Ces spectres sont formés par la superposition de plusieurs bandes d'absorption, caractéristiques des deux chromophores (noyau benzénique et cycle triazinique) qui constituent les herbicides. L'étude des spectres d'absorption d'une s-triazine (la 2-amino-4-méthoxy-6-méthyl-1,3,5-triazine) et du méthoxyéthoxybenzène permet d'attribuer les bandes d'absorption des herbicides soit au noyau benzénique (bandes à 235 et 280 nm) soit au cycle triazinique (bande à 220 nm).

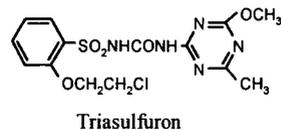
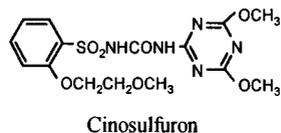
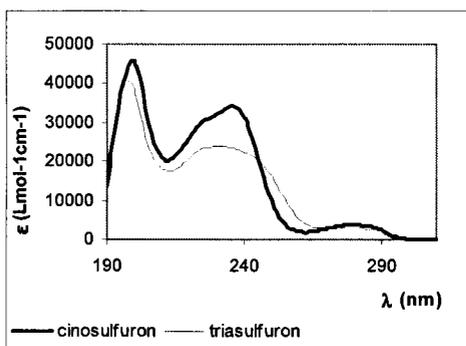


Fig. n° 1 : Spectres d'absorption du cinosulfuron et du triasulfuron dans le tampon phosphate.

2.2 Efficacités quantiques et études cinétiques

L'efficacité quantique ϕ (nombre de molécules dégradées par photon absorbé en lumière polychromatique) du cinosulfuron et du triasulfuron a été déterminé à l'aide d'un logiciel mis au point au laboratoire (Guittonneau *et al*, 1995) et à partir des résultats actinométriques. Nous avons également déterminé les valeurs des constantes cinétiques de disparition des deux herbicides dans les différents réacteurs. Les cinétiques sont du premier ordre. Les résultats sont présentés dans les tableaux 1 et 2.

	ϕ (quartz)	ϕ (pyrex)
cinosulfuron	0,106	0,071
triasulfuron	0,050	0,079

Tableau n° 1 : Efficacités quantiques (molécule/photon) du cinosulfuron et du triasulfuron dans le tampon phosphate.

	cinosulfuron	triasulfuron
HPK quartz	0,809 min ⁻¹	0,239 min ⁻¹
HPK pyrex	0,096 h ⁻¹	0,066 h ⁻¹
suntest	0,037 h ⁻¹	0,015 h ⁻¹

Tableau n° 2 : Constantes cinétiques de photodégradation du cinosulfuron et du triasulfuron dans les différents réacteurs.

2.3 Identification des photoproduits

Les résultats de spectrométrie de masse ont permis de proposer les formules chimiques des différents photoproduits, ce qui a permis de mettre en évidence plusieurs voies de dégradation : rupture du pont sulfonurée avec dégagement de CO₂, ce qui conduit à un benzènesulfonamide et à la 1,3,5-triazin-2-amine correspondante (C) ; désulfonylation qui conduit à une N-(1,3,5-triazin-2-yl)urée (B) ; rupture de la liaison C-S qui permet la formation d'un acide sulfonique (A) ; hydroxylation du cycle aromatique ; photolyse de la liaison ether en ortho du SO₂ et O-déméthylation.

Par contre nous n'avons pas détecté la présence de chloroéthoxybenzène contrairement à Pusino *et al*, 1999 qui observent ce composé lors de l'irradiation du triasulfuron à 254 et 300 nm. De même nous ne décelons pas de produits issus de la contraction du pont contrairement à certains auteurs (Choudhury *et al*, 1997 ; Scrano *et al*, 1999).

Nous nous sommes intéressés particulièrement aux trois principaux photoproduits communs aux deux herbicides et formés quel que soit le type d'irradiation. Les résultats de spectrométrie de masses de ces photoproduits sont présentés dans le tableau 3.

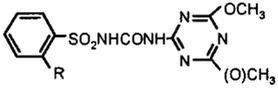
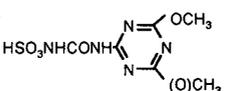
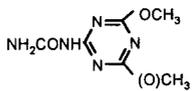
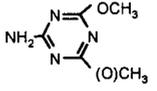
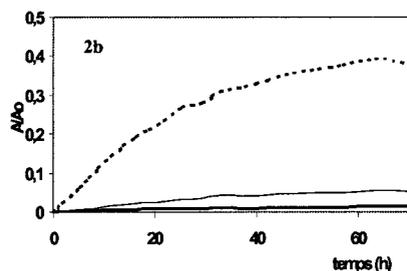
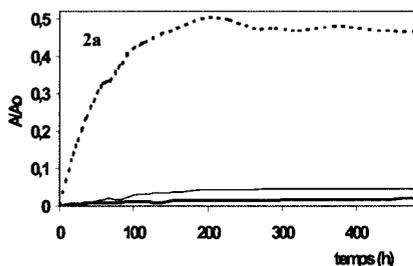
Produit	ES ⁺ (uma)	ES ⁻ (uma)	UV (nm)
	[M+H] ⁺ = 414 215, 183, 157, 141 [M+H] ⁺ = 404/402 300, 167, 141	[M-H] ⁻ = 412 [M-H] ⁻ = 402/400	286, 222, 195 286, 223, 195
A 	[M+H] ⁺ = 280 200, 183, 157 [M+H] ⁺ = 264 184, 167, 141	[M-H] ⁻ = 278 [M-H] ⁻ = 262	223, 193 224, 197
B 	[M+H] ⁺ = 200 183, 157, 101, 83 [M+H] ⁺ = 184 197, 141	[M-H] ⁻ = 182	220, 194 222, 193
C 	[M+H] ⁺ = 157 101, 57 [M+H] ⁺ = 141		210, 195 216, 193

Tableau n° 3 : Données spectrales et de spectrométrie de masse des photoproduits principaux du cinosulfuron et du triasulfuron.

2.4 Chemins réactionnels de photodégradation

Nous avons suivi l'évolution des photoproduits A, B et C dans chacun des réacteurs (figures 2a, 2b et 2c).



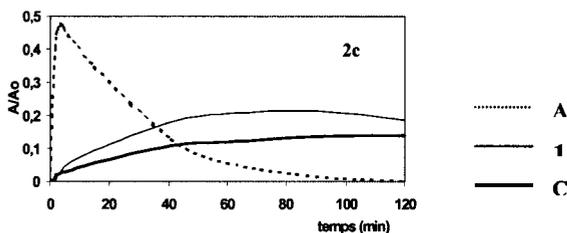


Fig. n° 2a, 2b, 2c : Evolution des photoproduits A, B et C au cours d'une irradiation avec le suntest, la lampe HPK dans le réacteur en pyrex, la lampe HPK dans le réacteur en quartz.

On remarque que les deux sulfonylurées ont un comportement différents selon le domaine d'émission de la lampe utilisée pour l'irradiation. Si on utilise une lampe coupant les irradiations inférieures à 290 nm (cas du suntest et de la lampe HPK avec le réacteur en pyrex), les trois voies de dégradations suivantes ont lieu simultanément : rupture du pont sulfonylurée, désulfonation et rupture de la liaison C-S. Cette dernière rupture conduit à l'acide sulfonique (A) qui s'accumule dans le milieu. Par contre si on utilise le réacteur en quartz, la liaison C-S est rapidement coupée mais la dégradation se poursuit pour donner (B), puis (C). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Caselli *et alii*, 2001.

Nous pouvons donc proposer deux chemins réactionnels différents (figures 3 et 4).

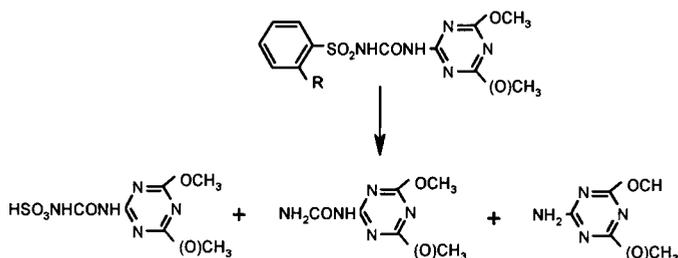


Fig. n° 3 : Chemin réactionnel de photodégradation des sulfonylurées si $\lambda > 290$ nm (réacteur en pyrex).

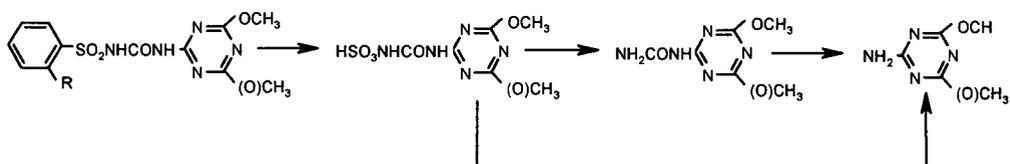


Fig. n° 4 : Chemin réactionnel de photodégradation des sulfonylurées si réacteur en quartz.

Conclusion

Si l'on compare le cinosulfuron et le triasulfuron l'un par rapport à l'autre, on constate qu'ils ont le même comportement quel que soit le type d'irradiation. Ils diffèrent toutefois dans les valeurs de leurs constantes cinétiques et de leurs efficacités quantiques (coefficients d'extinction molaire différents).

Par contre le comportement des sulfonilurées est différent selon le chromophore (benzénique ou triazinique) qui est mis en jeu lors de l'irradiation. Ces résultats révèlent l'importance de choisir les bonnes conditions photochimiques suivant que l'on souhaite une étude de l'évolution des herbicides dans l'environnement ou une étude plus fondamentale (compréhension des mécanismes).

Bibliographie

- Caselli M., Ponterini G., Vignali M., (2001), *J.Photochem.Photobiol.A:Chem.*,138, 129-137.
- Choudhury P.P., Dureja P., (1997), *Toxicological and Environmental Chemistry*, n°63, 71-81.
- Guittonneau S., Maestracci M., Méallier P., Moutié L., (1995), *Actes du XXV^{ème} Congrès du groupe Français des Pesticides, Montpellier, 17-18 mai.*
- Pusino A., Braschi I., Petretto S., Gessa C., (1999), *Pestic.Sci.*, n°55, 479-481.
- Scrano L., Bufo S.A., Perucci., Meallier P., Mansour M., (1999), *Pestic.Sci.* , n°55, 955-961.

Etude sur lysimètres de l'effet d'un enherbement comparé à un maïs et un sol nu, sur le lessivage de 250 g/ha d'atrazine.

Lysimeter study of the effect of a vegetative strip compared with maize, bare soil on the leaching of 250 g/ha of atrazine.

Jean-Yves Chapot et Jean-Emmanuel Delphin

Collaboration. technique : C. Schneider, G. Schwab, J.-L. Meyer et F. Tourrel
INRA, Equipe Agriculture et Environnement, UMR Vigne et Vins d'Alsace, 28 rue de Herrlisheim 68021 Colmar cedex, France.

Tel (33) 03 89 22 49 00 - e-mail: chapot@colmar.inra.fr

Résumé: L'efficacité d'une bande enherbée pour réduire le lessivage des pesticides est mal connu. On a comparé sur des lysimètres (2m*2m*1m) remplis avec un sol limoneux, les traitements ray-grass, maïs et sol nu, pour une dose de 250 g/ha d'atrazine, supérieure aux apports par ruissellement. Les traitements sont conduits à drainage équivalent (350 mm en cinq mois), dans le but d'estimer globalement l'incidence de différences de dissipation et de transferts préférentiels sur le lessivage. Dans les conditions de l'expérience, le système racinaire du ray-grass améliore le pouvoir épurateur du sol et permet de remédier au lessivage de l'atrazine et de la DEA. Celui du maïs n'apporte aucun effet épurateur supplémentaire par rapport au sol nu. L'efficacité du ray-grass est attribuée à la dissipation, liée à la forte biomasse racinaire dans l'horizon 0-30 cm. Elle semble intervenir plus nettement pendant la phase de stabilisation relative des teneurs, en relation avec des transferts lents du pesticide dans la mésoporosité. L'utilité d'une bande enherbée est plus grande dans le cas d'une molécule plus faiblement adsorbée.

Abstract: *The efficiency of a vegetative buffer strip to reduce pesticide leaching is poorly understood. Using lysimeters (2m*2m*1m) filled with a silty soil, we compared the effects of rye-grass, maize and bare soil. Leaching was monitored for an application of 250 g/ha of atrazine, which is more than would arrive in run-off. The treatments were compared with equal drainage, equivalent to 350 mm in 5 months, allowing the overall effects of differences in dissipation and preferential transfers on leaching to be estimated. The results show that under the conditions of this experiment the rye-grass root system enhances the purifying power of the soil and suppressed the leaching of atrazine and of DEA. That of maize had no better purifying effect than bare soil. The effectiveness of rye-grass is attributed to dissipation, due to the large root biomass in the 0-30 cm layer. Dissipation seems to work most efficiently during the second phase of relative stabilisation of contents, related to the slow transfer of pesticide in pores of medium size. The value of a grassed strip is greater for weakly adsorbed molecules.*

Mots-clés: bande enherbée, ray-grass, maïs, lixiviation, lysimètres, atrazine, deethylatrazine, dissipation

Keywords: vegetative strip, rye-grass, maize, lixiviation, lysimeter, atrazine, deethylatrazine, dissipation

Introduction

Les études montrent qu'une bande enherbée en bas de pente, réduit le ruissellement et la contamination des eaux de surface par les pesticides. Mais cette pratique augmente leur infiltration. Le risque de lessivage des pesticides sous une bande enherbée est mal connu. Les différences de lessivage en bas de pente sous un sol occupé, soit par un ray-grass (RGA), un maïs ou un sol nu, sont liées notamment à leur effet sur le drainage (Delphin et Chapot, 2001), sur la dissipation des molécules, sur les transferts préférentiels. La matière organique et l'activité microbienne associées aux systèmes racinaires, augmentent la dissipation physico-chimique et biologique des pesticides (Benoit et al., 2000), ce qui contribue à réduire leurs concentrations dans la solution du sol. Les anciennes racines qui restent en place, peuvent d'une part augmenter les transferts préférentiels de pesticides, mais d'autre part favoriser leur rétention et dégradation (Gish et al., 1998). D'une année sur l'autre, les racines du RGA restent en place, tandis que sous maïs et sol nu le travail du sol rompt la continuité racinaire et/ou modifie la porosité. L'activité des vers de terre, plus intense sous un RGA, peut influencer la circulation de l'eau et du pesticide (Farenhorst et al., 2000). Dans ce type d'étude au champ, les facteurs de variations et les interactions sont nombreuses. On a cependant besoin d'évaluer les risques, dans les conditions les plus proches de la réalité. C'est ce qui a été entrepris sur des lysimètres de grandes dimensions. L'utilisation du lysimètre a permis de limiter le nombre de facteurs de variations. Ainsi, en comparant les traitements RGA, maïs et sol nu à drainage équivalent, afin d'éviter les biais liés à des effets de concentrations ou des dilutions des teneurs, on obtient une estimation globale de l'incidence de différences de dissipation et de transferts préférentiels, sur le lessivage. Dans le but d'évaluer le potentiel épurateur des deux espèces par rapport à l'atrazine et à la DEA, l'étude a été réalisée avec un apport supérieur à ceux mesurés lors de ruissellements.

Matériel et méthodes

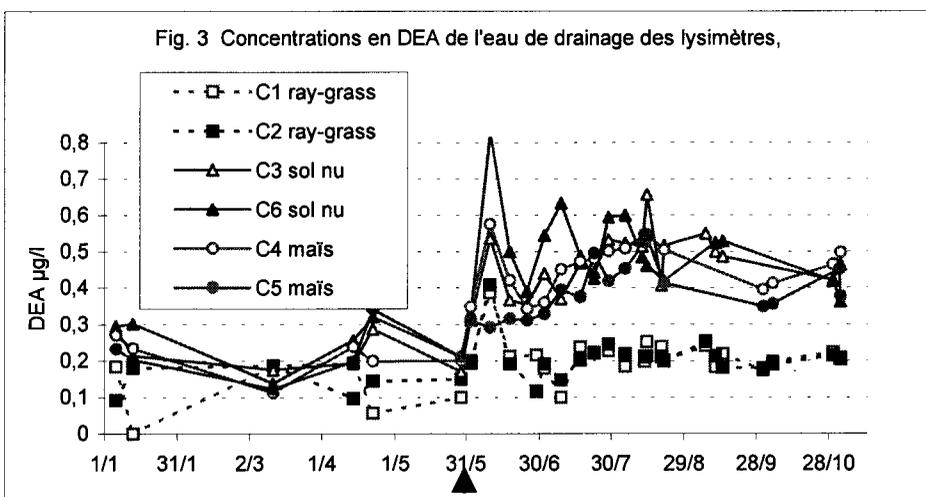
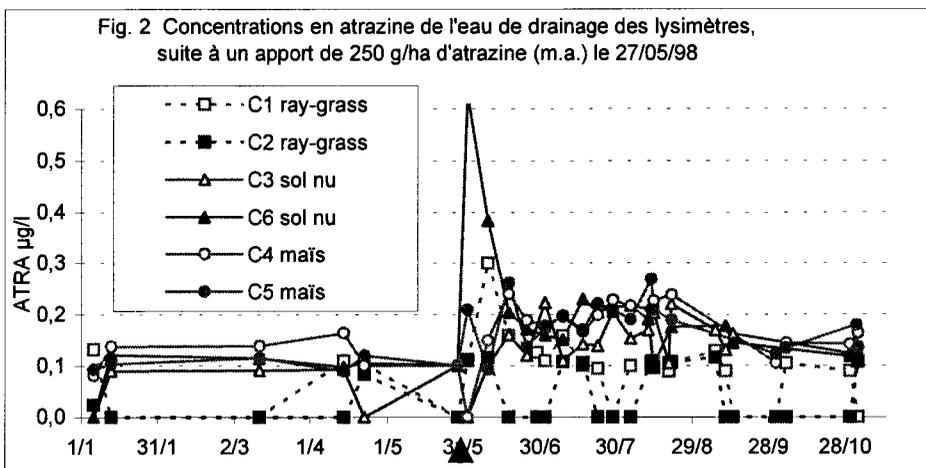
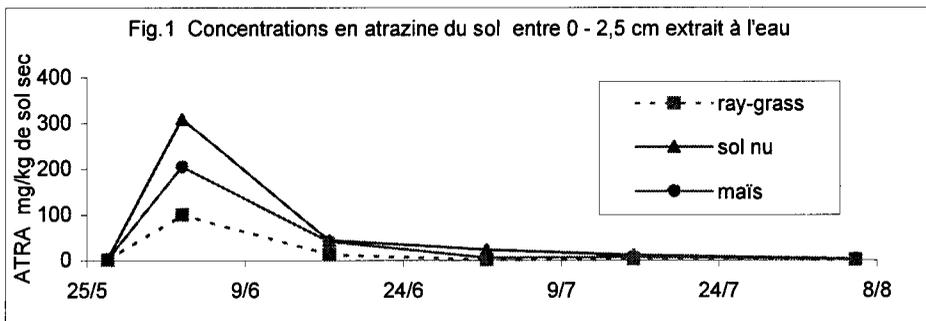
Dispositif : Deux lysimètres par traitement (2m*2m*1m). Sol: limon-argileux calcaire (loess). MO: 0-30 cm, 2,1%; 30-60 cm, 1,1%; 60-90 cm, 0,4%. Les résultats présentés concernent la deuxième année. RGA installé en mai 1997. Apport de 150 g/ha d'atrazine en 07/97. Les parties aériennes et la litière du RGA ainsi que les cannes de maïs produites en 1997 ont été exportées. Les traitements maïs et sol nu ont été bêchés (0-25 cm) en 12/97. Avant l'apport de 250 g/ha d'atrazine (m.a.) le 27/05/98, le sol a été amené à la capacité au champ. Pulvérisation sur maïs au stade 2 feuilles étalées, sur RGA coupé à 2 cm de hauteur et dont la litière a été exportée, afin d'estimer principalement l'effet du système racinaire. La pulvérisation a été immédiatement suivie d'une irrigation de 10 mm, qui a notamment servi à rincer les plantes. Trente millimètres de pluie sont tombés entre le 28/5 et le 31/5/98. Des irrigations de 12 mm, avec une pluviométrie horaire élevée de 100 mm/h, simulent des conditions de ruissellement et la circulation d'une partie de l'eau par les voies de transferts préférentiels (Flury et al., 1995).

Ces arrosages avec une rampe mobile, en nombre variables suivant les traitements pour obtenir des drainages proches au cours du temps, ont été régulièrement répartis au cours des cinq mois suivants. Le rythme mensuel moyen de drainage est de 70 mm par mois.

Résultats et discussion

On peut estimer à partir d'extractions à l'eau d'échantillons de sols 0 - 2,5 cm (sol/eau = 1/10), que la période de forte disponibilité dure une vingtaine de jours pour ce niveau d'apport (fig 1). Le 3/06/98, le classement des teneurs est cohérent avec un effet de la densité du système racinaire dans l'horizon de surface (2 lysimètres par traitement).

Phase de transferts à plus fortes teneurs - Les concentrations en atrazine et DEA de l'eau drainée présentent un léger pic lors des deux premiers prélèvements les 2/06 et 10/06, pour des drainages cumulés de 26 et 40 mm (Fig. 2 et 3). Au cours de cette phase à forte disponibilité en surface, les teneurs de l'eau drainée sont déterminées principalement par des transferts rapides par les macropores, depuis la couche superficielle. Ces flux plus concentrés seraient en partie dilués par l'eau des transferts lents dans la mésoporosité, non encore chargée en pesticides. Dans le cas de l'atrazine, les teneurs de l'eau sont fortement atténuées et proches sur les trois traitements. Pour cette molécule plus fortement adsorbée, le RGA n'apporte pas d'extinction supplémentaire des teneurs. Pour la DEA, plus faiblement adsorbée (Schiavon, 1988) les teneurs sont plus élevées que celles de l'atrazine et le RGA entraîne une extinction des teneurs supplémentaire, mais faible par rapport au sol nu. On observe pas d'effet du maïs. L'efficacité relativement limitée de la bande enherbée au cours de cette phase, pourrait être le résultat de facteurs ayant des effets contraires, tels qu'une dissipation plus forte, accompagnée de transferts préférentiels plus élevés (vieilles racines, vers de terre) (Gish et al., 1998) ? On constate une certaine variabilité des pics de concentrations entre lysimètres qui pourrait être liée à l'hétérogénéité de la distribution des macropores (Grossmann and Udluft, 1991).



Phase de stabilisation relative des teneurs - Au cours de la phase précédente, les transferts préférentiels à fortes teneurs ont répartis, au cours d'échanges entre macro et mésoporosité, la plus grande part des pesticides dans l'eau de la mésoporosité et sur la phase solide. Les teneurs de l'eau dans la mésoporosité s'atténuent, principalement sous l'influence des processus de dissipation et un équilibre s'établit entre adsorption et désorption. Au cours de cette seconde phase, correspondant à de faibles apports de pesticides par transferts préférentiels depuis la surface, les teneurs de l'eau drainée sont déterminées principalement par l'écoulement lent de l'eau dans la mésoporosité, en partie dilué par l'eau des transferts rapides. On observe une relative stabilité des teneurs de l'eau drainée sur des périodes assez longues, dans des conditions de drainage élevées (plus de 300 mm dans l'expérience). Les teneurs d'équilibre relatif varient suivant les propriétés des molécules, elles sont plus élevées pour la DEA qui est plus faiblement adsorbée. Dans le cas de l'atrazine, les teneurs après l'apport ne sont pas modifiées par rapport à la période précédente, sous RGA tandis qu'elles augmentent de moins de 0,1 µg/l sur les traitements maïs et sol nu. Dans les conditions de l'expérience, un apport de 250 g/ha d'atrazine engendre une pollution diffuse de l'ordre de 0,1 µg/l sur sol nu et maïs, à laquelle semble pouvoir remédier l'implantation d'une bande herbeuse. Pour la DEA, l'apport d'atrazine a provoqué une pollution diffuse en DEA de l'ordre de 0,25-0,30 µg/l sous maïs et sol nu et de moins de 0,1 µg/l sous RGA. La bande herbeuse permet de réduire presque totalement cette pollution. Pour les deux molécules, une culture de maïs ne crée pas une extinction supplémentaire des teneurs par rapport au sol nu. On peut attribuer l'efficacité du RGA, notamment à la dissipation liée à la forte biomasse racinaire dans l'horizon 0-30 cm, tandis que les racines du maïs sont distribuées sur un mètre. Rappelons que ces pollutions diffuses se poursuivent sur des périodes longues. Elles ont donc un impact significatif sur le milieu. Les résultats semblent suggérer que l'effet du système racinaire sur la dissipation de ces xénobiotiques, intervient plus fortement au cours des transferts lents dans la mésoporosité. D'un point de vue méthodologique, il faut souligner que si dans l'expérience, les quantités d'eau drainées sont proches entre traitements, la part des flux d'eau rapides et lents est différente du fait du nombre variable d'irrigations. Si les transferts lents sont davantage soumis à la dissipation, alors le RGA plus irrigué subit plus de transferts rapides, ce qui aurait pu limiter l'atténuation des teneurs.

Conclusions

Une bande herbeuse protège les eaux de surface mais suscite des interrogations, quant au risque de lessivage du pesticide infiltré. Les résultats montrent, pour un apport supérieur à celui d'événements ruisselants et dans des conditions de drainage plus élevée que la normale, sur un sol limoneux d'un mètre, normalement pourvu en MO, qu'une bande enherbée permet de compléter le pouvoir épurateur du sol et de remédier au risque de lessivage de l'atrazine et de la DEA. Ils illustrent en particulier l'utilité plus grande d'une bande enherbée, dans le cas d'une molécule plus faiblement adsorbée et davantage lessivée, telle la DEA. L'efficacité

du RGA se manifeste plus nettement au cours de la phase de stabilisation relative des teneurs, lorsque les concentrations sont déterminées principalement par des flux d'eau lents, qui favorisent la dissipation. Le système racinaire du maïs, beaucoup moins dense que celui du RGA, n'apporte aucun effet épurateur supplémentaire, par rapport au sol nu. L'expérience a été conduite dans des conditions de drainage assez élevées, qui ont favorisé le transfert du pesticide dans les horizons profonds où il est soumis à une plus faible dissipation et davantage lessivé. Le lessivage serait plus faible dans le cas d'apports par ruissellement limités aux niveaux supérieurs du profil. L'incidence d'effets cumulatifs pluriannuels est à étudier.

Références bibliographiques

- Benoit P., Barriuso E., Vidon P., Real B., 2000. Isoproturon movement and dissipation in undisturbed soil cores from a grassed buffer strip. *Agronomie*, 20, 297-307.
- Delphin J.E. et Chapot J.Y., 2001. Leaching of atrazine and deethylatrazine under a vegetative filter strip. *Agronomie* 10 p (à paraître)
- Farenhorst A., Topp E., Bowman B.T., Tomlin A.D., 2000. Earthworm burrowing and feeding activity and the potential for atrazine transport by preferential flow. *Soil Biology & Biochemistry*, 32, 479-488.
- Flury M., Leuenberger J., Studer B., Flühler H., 1995. Transport of anions and herbicides in a loamy and a sandy field soil. *Water Resource Research*, 31, 823-835.
- Gish T.J., Gimenez D., Rawls W.J., 1998. Impact of roots on ground water quality. *Plant and soil*, 200, 47-54.
- Schiavon M., 1988. Studies of the movement and the formation of bound residues of atrazine, of its chlorinated derivatives, and of hydroxyatrazine in soil using ¹⁴C ring-labelled compounds under outdoor conditions. *Ecotoxicologie and environmental safety*, 15, 55-61.
- Grossmann J. and Udluft P., 1991. The extraction of soil water by suction-cup method: a review. *Journal of Soil Science*, 42, 83-93.

Remerciements

Cette étude a bénéficié de l'aide de l'Agence de l'Eau Rhin-Meuse pour la construction et le fonctionnement du dispositif lysimétrique de l'INRA de Colmar.

Estimation du lessivage en bas de pente, sous une bande herbeuse et sous maïs, de l'atrazine et de la DEA transportées par les eaux de ruissellement.

Estimate of the leaching of atrazine and DEA transported in runoff effluents under a vegetative filter strip and a maize crop installed down-slope.

Jean-Emmanuel Delphin et Jean-Yves Chapot

Collaboration technique : J-L Meyer, C Schneider, G Schwab et F Turrel

Equipe Agriculture & Environnement, UMR Vigne et Vin d'Alsace, INRA

28 rue de Herrlisheim 68021 Colmar cedex, France

Tel: (33) 03 89 72 49 00, e-mail: delphin @ colmar.inra.fr

Résumé : Les bandes herbeuses limitent efficacement la contamination des eaux de surface par le ruissellement. Cependant, on dispose de peu d'informations sur le risque de lessivage des produits ainsi piégés. Cette étude vise à comparer les pertes par lessivage de l'atrazine et de la DEA sous une parcelle enherbée et sous un maïs situés en bas de pente. Des bougies poreuses implantées à 120 cm de profondeur dans les deux parcelles permettent d'échantillonner la solution du sol et de suivre sa charge en produits phytosanitaires. Le drainage est calculé à l'aide du modèle STICS de calcul du bilan hydrique au champ. Les résultats montrent que les pertes d'atrazine et de DEA par lessivage sont comparables sous les deux parcelles. Le lessivage intervient principalement en dehors de la période de végétation. Les pertes annuelles représentent environ 0,5 % des apports et sont constitués pour les deux tiers de DEA.

Abstract : *Vegetative filter strip (VFS) can efficiently remove pollutants from surface water runoff by infiltration but the questions remain concerning the following leaching of trapped pesticides. The objective of this study was to evaluate the leaching of atrazine and DEA transported in runoff effluents and trapped by a VFS and to compare the results with the losses under a maize crop installed down-slope. The soil solution was sampled using porous cups installed at 120 cm depth at the edge of a VFS established downhill from a maize plot and in the maize plot. Drainage volumes were calculated by a generic crop model. The results show that losses of pesticides by leaching were approximately the same under VFS and maize plot. Leaching occurred mainly outside the growth season. Calculated leaching amounts of DEA were twice those of atrazine. Annual losses of atrazine plus DEA represent 0.5 % of the amounts applied on the maize.*

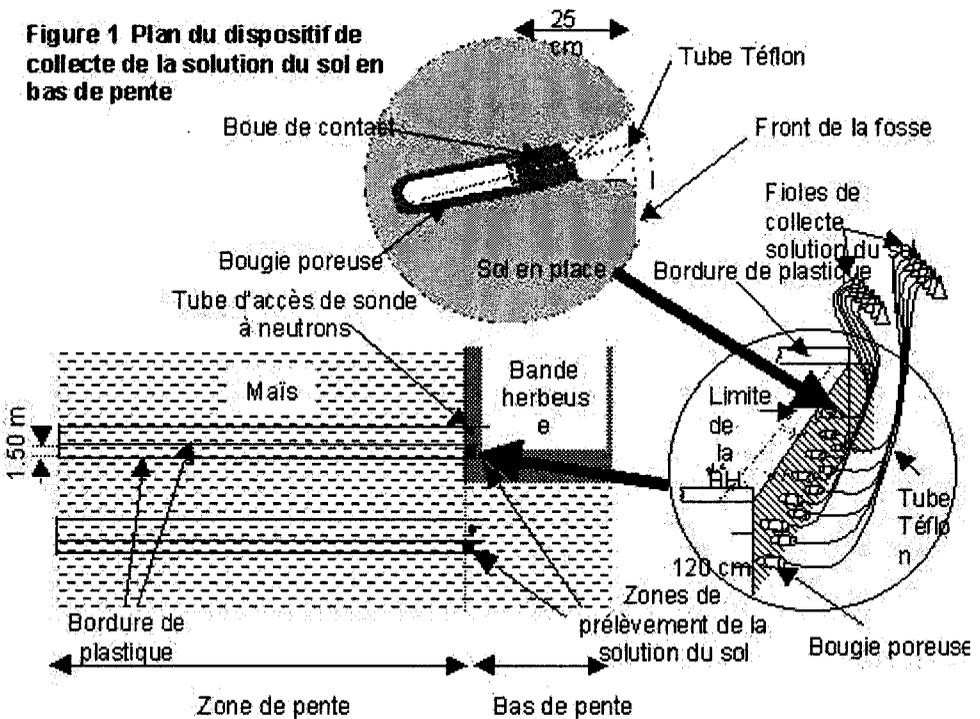
Introduction

La bande herbeuse en bas de pente protège efficacement les eaux de surface des contaminations par les produits de traitement entraînés avec les eaux de

ruissellement (Klöppe H. et al., 1997). Cependant, du fait de son efficacité, la bande herbeuse est le lieu où s'accumulent l'eau et les produits provenant des surfaces traitées, ce qui peut accroître les risques de lessivage. Un couvert végétal permanent, par l'activité biologique de sa rhizosphère et par la présence de matières organiques plus ou moins transformées, contribue par ailleurs à dissiper les produits ainsi piégés, notamment en accélérant leur dégradation et en augmentant le pouvoir fixateur du sol (Benoit P. et al., 1999). Cette étude a pour but d'évaluer les pertes de produits phytosanitaires par lessivage sous une bande herbeuse située en bas d'une pente plantée en maïs et de les comparer à celles observées, dans une situation identique, sous une culture de maïs.

Site expérimental, matériel et méthodes

L'essai est installé sur un sol de limon argileux. Il comporte deux parcelles, l'une enherbée et l'autre cultivée en maïs, placées en bas d'une pente de 4% cultivée en maïs. Le maïs, sur la pente et en bas de pente, est désherbé avec de l'atrazine (1000 g ha^{-1}). Deux points de suivi de la solution du sol sont implantés, l'un sous la bande herbeuse, en bordure de la parcelle de maïs, et l'autre sous la parcelle adjacente cultivée en maïs.



La solution du sol est échantillonnée à l'aide de 6 bougies poreuses enterrées horizontalement à 120 cm de profondeur. Chaque point de suivi est équipé d'un tube pour mesurer l'humidité du sol à l'aide d'une sonde à neutrons. Les prélèvements de la solution du sol sont effectués chaque semaine lorsque l'état hydrique du sol le permet. L'atrazine et la DEA de la solution du sol sont extraites sur des cartouches C₁₈ avant d'être analysées par HPLC avec un détecteur réglé à 200 nm. Le seuil de détection de l'atrazine et de la DEA est de 0,05 µg mL⁻¹, ce qui correspond, pour un volume échantillonné de 500 mL à 0,1 µg L⁻¹. Le drainage sous maïs et sous la bande herbeuse est estimé par le modèle de calcul du bilan hydrique au champ STICS. Les mesures du ruissellement effectuées par l'ITCF complètent les données nécessaires au calcul du bilan hydrique au champ. Le lessivage de l'atrazine et de la DEA est estimé à partir des teneurs de la solution du sol à 120 cm de profondeur et des volumes de drainage estimés par STICS.

Résultats

Les drainages annuels, peu différents sous maïs et sous bande herbeuse, sont estimés à 200 mm environ (Tableau 1).

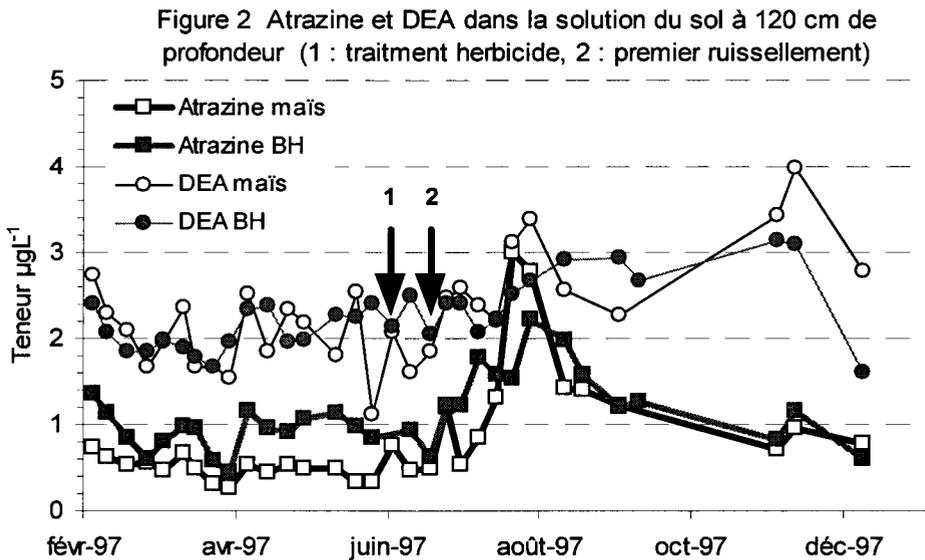
Tableau 1 Estimation du drainage et du lessivage des produits en bas de pente

	drainage (mm)	-----lessivage (mg ha ⁻¹)-----	
		Atrazine	DEA
Parcelle enherbée			
hiver et printemps	105	971	2094
été (après traitement)	9	104	208
automne et hiver	82	493	1315
Total	196	1567	3616
Parcelle de maïs			
hiver et printemps	108	729	2213
été (après traitement)	40	240	1011
automne et hiver	32	191	509
Total	180	1161	3732

On n'observe pas de différences nettes des teneurs de la solution du sol entre les deux parcelles (figure 2), ce qui peut s'expliquer par une concentration des eaux à la surface, au moment des transferts en profondeur, peu différente dans les deux situations.

Un pic des concentrations, plus marqué pour l'atrazine, apparaît un mois après les premiers ruissellements, pendant la période non drainante de végétation. Ce pic peut être interprété en partie comme la conséquence de l'homogénéisation des concentrations entre l'eau mobile, plus concentrée au moment des transferts, et l'eau retenue par le sol, moins concentrée et dans laquelle les prélèvements par les bougies poreuses ont principalement lieu. Un effet des bougies poreuses sur la dynamique de l'eau dans le sol peut également être envisagé.

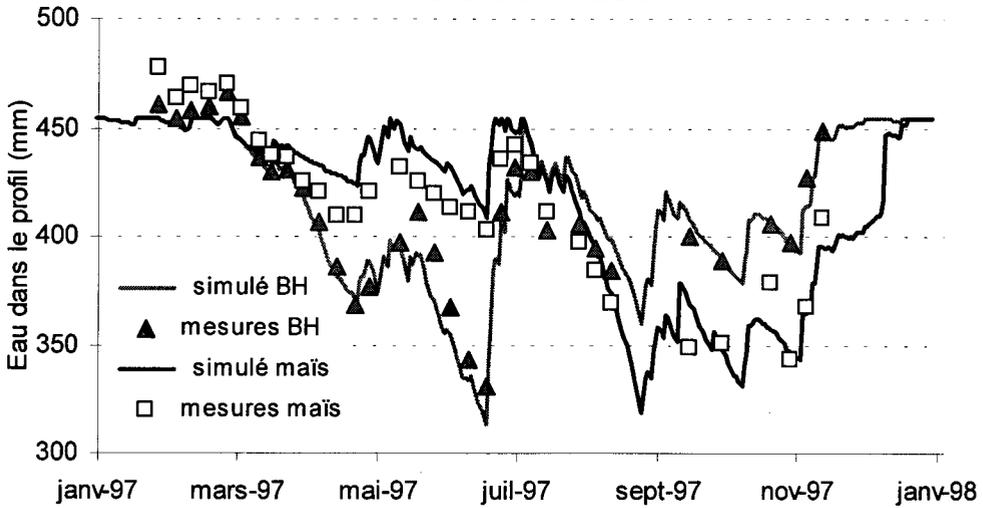
La persistance des produits phytosanitaires à 120 cm est forte ; celle de la DEA est supérieure à celle de l'atrazine. Ceci se traduit par des niveaux de concentrations élevés dans la solution du sol, en particulier pour le métabolite. Ce comportement est vraisemblablement lié à la très faible teneur en matière organique du sol (0,5%) à cette profondeur (Clay S.A. et al., 2000).



Les principales limites de la méthodologie utilisée dans cette étude sont :

- la précision de l'estimation du drainage par le modèle STICS (figure 3),
- la représentativité des teneurs de la solution du sol prélevée par les bougies poreuses par rapport à celle des eaux de drainage.

Figure 3 Stock d'eau du sol sous maïs et bande herbeuse (BH) :
mesures et simulations



Conclusion

Pour la méthodologie utilisée sur ce site expérimental, les pertes en produits phytosanitaires par lessivage en bas de pente sont identiques sous bande herbeuse et sous maïs. Ces pertes, principalement sous forme de DEA, interviennent surtout en dehors de la période de végétation ; elles représentent une faible proportion (0,5%) des quantités apportées au maïs implanté sur la pente. L'efficacité de la bande herbeuse en bas de pente vis à vis du ruissellement ne génère pas un surplus de contamination des eaux souterraines par le lessivage des produits retenus dans le couvert végétal.

Bibliographie

- Benoit P., Barriuso E., Vidon P., Réal B., 1999. Isoproturon sorption and degradation in a soil from grassed buffer strip. *J. Environ. Qual.*, 28(1), p. 121-129.
- Clay S.A., Dowdy R.H., Lamb J.A., Anderson J.L., Lowery B., Knigton R.E., Clay D.E., 2000. Herbicide movement and dissipation at four midwestern sites. *Environ Sci Health*, 35, p. 259-278.
- Klöppel H., Kördel W., Stein B., 1997. Herbicide transport by surface runoff and herbicide retention in a filter strip -rainfall and runoff simulation studies. *Chemosphere*, 35(1/2), p. 129-141.

Rétention et mobilité de l'isoxaflutole et de ses dérivés dans le sol

Retention and mobility of Isoxaflutole and its derivatives in soil

Estelle Beltran*, Hélène Fenet*, Jean-François Cooper**, Camille-Michel Coste**

* : Faculté de Pharmacie, 15 av. C. Flahault, B.P. 14 491,
34 093 Montpellier Cedex 5. Tél : 04 67 54 45 20. Fax : 04 67 54 45 26.
e-mail : ebeltran09@yahoo.fr

** : Centre de Phytopharmacie, UMR CNRS 5054, 52 av. de Villeneuve,
66860 Perpignan. Tél : 04 68 66 22 58. Fax : 04 68 66 22 23
e-mail : coste@univ-perp.fr

Résumé : L'isoxaflutole (5-cyclopropyl-1,2-oxazol-4yl- $\alpha\alpha\alpha$ -trifluoro-2-mesyl-*p*-tolylketone) est un nouvel herbicide développé par Aventis CropScience et utilisé en traitement de pré-émergence sur maïs et canne à sucre. Dans l'eau, le sol et les plantes, l'isoxaflutole est rapidement converti en un dérivé dicétonitrile, véritable principe actif de l'herbicide, dont le produit de dégradation, biologiquement inactif, est un dérivé de l'acide benzoïque. Des études d'adsorption-désorption ont été menées sur quatre sols de propriétés physico-chimiques différentes : un sol « canne à sucre » (Martinique), un sol « maïs » (Maine-et-Loire) et un sol méditerranéen (Hérault). Ce dernier a été divisé en deux horizons 0-10 cm et 10-20 cm, prélevés sur la parcelle où l'étude de mobilité en plein champ a été conduite par la suite. Pour les trois molécules, les isothermes d'adsorption s'accordent bien avec le modèle de Freundlich, et la teneur en matière organique est apparue comme étant le paramètre le plus déterminant. L'étude de la mobilité de l'isoxaflutole dans des conditions naturelles non contrôlées a permis de montrer que ce produit se dégradait en dicétonitrile selon une cinétique du second ordre, avec un temps de demi-vie de 20 heures environ, essentiellement dans l'horizon 0-10 cm.

Abstract : Isoxaflutole (5-cyclopropyl-1,2-oxazol-4yl- $\alpha\alpha\alpha$ -trifluoro-2-mesyl-*p*-tolylketone) is a new herbicide recently developed by Aventis CropScience and used in corn and sugarcane. In water, soil and vegetation, isoxaflutole is rapidly converted into a diketonitrile derivative, which is the active principle of the herbicide. The degradation product of this diketonitrile is a derivative of benzoic acid and is biologically inactive. Adsorption-desorption studies were conducted on four soils of different physical and chemical properties : one soil « sugarcane » (from Martinique), one soil « maize » (from West of France) and a mediterranean soil (from Montpellier). The latter was divided into two layers 0-10 cm and 10-20 cm, sampled in the field where the mobility was thereafter conducted. For the three molecules, the adsorption isotherms fitted well the Freundlich model, and the organic matter content of the soil seemed to be the most important parameter influencing the retention process. The study of the mobility of isoxaflutole in plain field and uncontrolled conditions allowed to show that this product was converted into its diketonitrile derivative, following second order kinetics. The corresponding half-time value was about 20 hours, in the first layer of the soil.

Keywords : Isoxaflutole. Derivatives. Adsorption-desorption. Freundlich. Organic matter. Mobility. Second order kinetics.

Mots-clés : Isoxaflutole. Dérivés. Adsorption-désorption. Freundlich. Matière organique. Mobilité. Cinétique du second ordre.

Introduction

L'isoxaflutole (5-cyclopropyl-1,2-oxazol-4yl- $\alpha\alpha\alpha$ -trifluoro-2-mesyl-*p*-tolylketone, également appelé IFT) est un nouveau proherbicide développé par Aventis CropScience et utilisé en traitement de pré-émergence sur maïs et canne à sucre, à de faibles doses (entre 75 et 150 g/ha). Des études préliminaires montrent que dans le sol, les plantes et l'eau cet acide faible est rapidement converti en un dérivé dicétonitrile, appelé DKN (2-cyano-3-cyclopropyl-1-[2-methanesulphonyl-4-trifluorométhylphényl]propan-1,3-dione), véritable principe actif de l'herbicide. Ce produit est ensuite dégradé en un dérivé AB de l'acide benzoïque (2-methanesulphonyl-4-trifluorométhylbenzoic acid), qui est biologiquement inactif.

La figure 1 présente les trois molécules et leurs principales caractéristiques physico-chimiques.

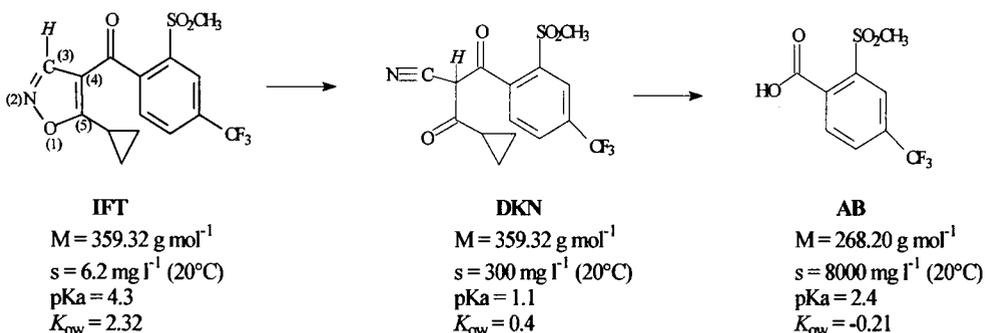


Fig. n° 1 : Présentation de l'IFT, du DKN et de l'AB.

Afin de prévoir le devenir et le comportement de l'IFT dans l'environnement, il est nécessaire d'étudier les paramètres influençant sa dégradation et sa mobilité. Les études d'adsorption-désorption constituent une première étape de la compréhension du comportement de tout pesticide dans le sol, parce que son aptitude à migrer à travers les différents horizons du sol (c'est-à-dire son aptitude au lessivage), ainsi que sa biodisponibilité sont liées à l'intensité de la rétention. Les études traitant de la rétention de l'IFT sont relativement peu nombreuses. Mitra *et al.* (1999, 2000) ont étudié la sorption du DKN, et celle de l'IFT à des concentrations inférieures à sa solubilité dans l'eau. Les concentrations peuvent

toutefois être plus élevées lors de l'application au champ de doses pouvant atteindre 150 g d'IFT formulé par hectare. De plus, aucune donnée n'est, à ce jour, disponible pour le dérivé AB. Il apparaît ainsi nécessaire d'étudier l'adsorption et la désorption de l'IFT à des concentrations supérieures à sa solubilité dans l'eau, ainsi que celle de ses principaux dérivés DKN et AB.

Il nous a paru intéressant de compléter l'étude d'adsorption-désorption des trois composés IFT, DKN et AB par une étude de mobilité en conditions naturelles, dans le sol méditerranéen cité plus haut. Les travaux traitant de la mobilité et de la dégradation de l'IFT dans le sol en conditions non contrôlées sont peu nombreux. Une étude conduite sur sols cultivés (maïs d'été et blé d'hiver) par Rouchaud *et al.* (1998) et les études techniques menées par Aventis CropScience (*comm. pers.*) montrent que l'IFT n'atteint pas les horizons situés au-delà de 10 cm de profondeur.

1. Rétention

1.1 Matériels et méthodes

1.1.1 Sols étudiés

Quatre sols B (sol « maïs »), C (sol « canne à sucre »), M1 et M2 (sol méditerranéen) ont été choisis pour l'étude de l'adsorption-désorption, selon leurs propriétés physico-chimiques (Tableau 1). Les sols appelés M1 et M2 (correspondant aux horizons 0-10 cm et 10-20 cm) ont été prélevés dans le champ où l'étude de la mobilité a été conduite par la suite. Afin d'évaluer l'influence de la matière organique sur le processus de rétention, l'horizon 0-10 cm (M1) a été traité par du peroxyde d'hydrogène : le sol M1A a ainsi été obtenu après traitement par H₂O₂ 22 volumes et le sol M1B obtenu après traitement par H₂O₂ 33 volumes.

Nom	Localisation	Argiles (%)	Carbone organique (%)	pH
C	Martinique	40,9	1,68	4,8
B	Ouest de la France	46,4	1,41	8,3
M2	Sud de la France	19,5	0,66	8,6
M1	idem	21,9	3,15	8,0
M1A	idem	21,9	1,67	7,3
M1B	idem	21,9	0,65	7,3

Tableau n° 1 : Principales caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés.

A cause du traitement par H₂O₂, le pH des sols M1A et M1B est légèrement inférieur à celui du sol M1.

1.1.2 Solutions aqueuses d'IFT, de DKN et d'AB

Chacune des solutions aqueuses d'IFT, DKN et AB a été préparée par dilution de solutions mères à 1000 mg l^{-1} dans le méthanol, ce qui nous a permis de préparer des solutions d'IFT à des concentrations supérieures à sa solubilité dans l'eau. Les concentrations initiales du DKN et de l'AB pour chacun des sols ont été comprises dans un domaine de 1 mg l^{-1} à 50 mg l^{-1} , et de 1 mg l^{-1} à 30 mg l^{-1} pour l'IFT, avec une teneur en méthanol inférieure à 6%.

1.1.3 Mode opératoire

Les expériences d'adsorption ont été conduites sur les six sols en utilisant la technique dite de " batch equilibration " : pour chaque composé, 5 ml de solution aqueuse ont été ajoutés 2 g de sol et agités latéralement et mécaniquement pendant quatre heures. Après centrifugation à 3200 rpm (tours par minute) pendant 10 minutes, les surnageants ont été prélevés et directement analysés par HPLC/UV.

Avec la même technique " batch equilibration ", la désorption a été conduite sur les échantillons les plus concentrés : après l'adsorption, le surnageant a été prélevé, le sol a été agité avec 5 ml de chlorure de calcium CaCl_2 à 0.01M pendant quatre heures et centrifugé. Le nouveau surnageant a été ensuite prélevé et remplacé par 5 ml de CaCl_2 à 0,01M pour l'étape suivante de désorption, et la procédure a été répétée jusqu'à ce que cinq étapes de désorption soient obtenues. Tous les surnageants ont été analysés par HPLC/UV sans traitement supplémentaire.

1.1.4 Procédure analytique

Les surnageants ont été analysés à l'aide d'un appareil Shimadzu LC-10A. Les trois molécules ont été détectées à leur maximum d'absorbance, soit 267 nm pour l'IFT et l'AB et 290 nm pour le DKN. La phase stationnaire était une colonne C18 Hypersil ODS $5\mu\text{m}$, 250 mm x 4,6 mm de Supelco ; la phase mobile était $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{CF}_3\text{COOH}$ (48/52/0,5 : v/v/v) à un débit constant de 1 ml min^{-1} . Dans ces conditions, les temps de rétention de l'IFT, du DKN et de l'AB étaient respectivement 14,6, 13,7 et 4,9 min. L'identification et la quantification a été effectuée par étalonnage externe. A 267 nm, les limites de détection dans les solutions injectées étaient de 0,05 et $0,12 \text{ mg l}^{-1}$ respectivement pour l'IFT et l'AB, et $0,07 \text{ mg l}^{-1}$ pour le DKN à 290 nm. La limite de quantification a été définie comme étant égale à 2 fois la limite de détection. Les critères de qualité de la méthode sont détaillés dans une précédente étude (Beltrán *et al.*, 2001).

1.2 Résultats

La Figure 2 présente les isothermes d'adsorption-désorption « extrêmes » obtenues : toutes les isothermes obtenues pour le DKN et l'AB sont situées « au-dessous » des isothermes d'IFT.

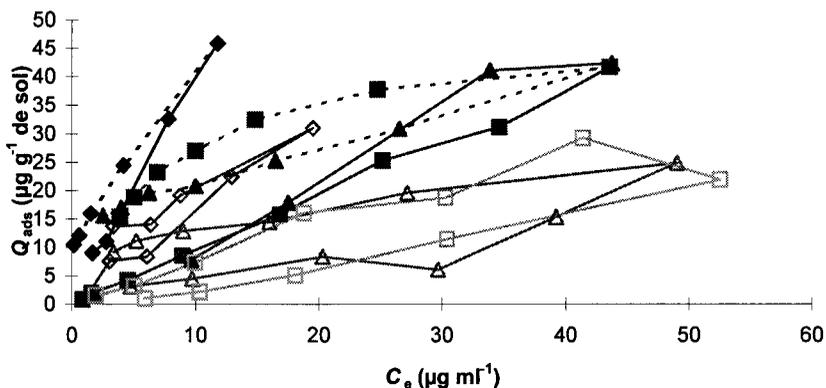


Fig. n° 2 : Isothermes d'adsorption-désorption « extrêmes » obtenues pour l'IFT, le DKN et l'AB

(◆ : IFT sur M1, ◇ : IFT sur M1B, ■ : DKN sur C, □ : DKN sur M1A, ▲ : AB sur C, △ : AB sur M1B).

D'après la classification de Giles *et al.* (1960), les isothermes d'adsorption de l'IFT semblent être de type C, alors qu'elles tendent à être de type S pour le DKN et l'AB. D'une manière générale, les isothermes C sont le reflet d'une partition constante des molécules organiques entre le sol et la phase liquide. En ce qui concerne DKN et AB, le type d'isotherme obtenue signifie que l'adsorption devient plus aisée au fur et à mesure que leur concentration dans la phase liquide augmente, ce qui n'est pas surprenant ici puisque ces deux molécules sont plus hydrosolubles que l'IFT et rencontrent donc une forte compétition de la part des molécules de solvant pour les sites du substrat.

Toutes les isothermes d'adsorption pour les trois molécules s'accordent bien avec le modèle de Freundlich :

$$Q_{ads} = K_{fa} C_e^{n_a}$$

où Q_{ads} est la quantité adsorbée sur le sol à l'équilibre ($\mu\text{g g}^{-1}$ de sol), K_{fa} est le coefficient de Freundlich pour l'adsorption, C_e la concentration d'équilibre du composé dans la phase ($\mu\text{g ml}^{-1}$) et n_a l'exposant de Freundlich pour l'adsorption.

Les isothermes de désorption pour l'IFT, le DKN et l'AB s'accordent bien aussi avec le modèle de Freundlich appliqué à la désorption, avec :

$$Q_{ads0} - Q_{ads} = K_{fd} (C_{e0} - C_e)^{n_d}$$

où Q_{ads0} ($\mu\text{g g}^{-1}$ de sol) et C_{e0} ($\mu\text{g ml}^{-1}$) sont respectivement la quantité adsorbée à l'équilibre et la concentration dans la phase liquide avant la première étape de désorption, K_{fd} et n_d sont respectivement le coefficient de Freundlich et l'exposant de Freundlich pour la désorption.

Le Tableau 2 présente les K_{fa} obtenus pour les trois molécules sur tous les sols étudiés.

	B	C	M2	M1	M1A	M1B
IFT	2,16	2,28	3,33	5,15	4,03	1,52
DKN	0,55	1,04	1,25	0,23	0,91	0,31
AB	0,55	0,59	0,94	0,44	0,93	0,83

Tableau n° 2 : Valeurs de K_{fa} obtenues pour l'IFT, le DKN et l'AB sur les sols B, C, M2, M1, M1A et M1B.

Les résultats présentés ci-dessus ne permettent pas de mettre en évidence une influence de la teneur en argiles ou du pH. En revanche, le traitement de M1 par H_2O_2 montre que le paramètre le plus important pour l'adsorption de l'IFT est la teneur en matière organique dont dépend fortement K_{fa} , les valeurs de cette constante diminuant lorsque la teneur en carbone organique diminue.

Tout au long des expériences de rétention, l'IFT a été chimiquement converti en DKN de façon continue. Le facteur principal influençant la vitesse de dégradation de l'IFT semble être le pH du sol, car la dégradation était négligeable dans le sol C (pH 4,8) et les dégradations les plus rapides ont été observées pour les sols M1, B et M2 (pH compris entre 8 et 8,6). Cette catalyse basique a été observée en milieu aqueux dans des travaux précédents (Beltràn *et al.*, 2000 et 2001), et l'instabilité chimique de l'IFT a été également rapportée par Taylor-Lovell *et al.* (2000) dans les systèmes sol-eau.

Le modèle le plus approprié pour décrire la dégradation de l'IFT pendant les expériences de rétention est le modèle de la cinétique de pseudo-premier ordre (Logan, 1996) :

$$\ln C/C_0 = -K_{obs} t$$

où C ($mg\ l^{-1}$) est la concentration au temps t (en heures), C_0 ($mg\ l^{-1}$) la concentration initiale et K_{obs} la constante observée de la vitesse de la réaction, en h^{-1} . Les valeurs de K_{obs} pour les six sols varient de $5 \cdot 10^{-4} h^{-1}$ pour le sol C à $2 \cdot 10^{-2} h^{-1}$ pour le sol M1.

1.3 Conclusion

Les études d'adsorption-désorption de l'IFT, du DKN et de l'AB conduites dans les conditions précédemment décrites ont confirmé que l'intensité de l'adsorption est inversement proportionnelle à la solubilité dans l'eau de la molécule considérée. La valeur du pH du sol est un facteur important puisqu'elle semble conditionner la vitesse d'isomérisation de l'IFT au cours des expérimentations de rétention. La teneur en matière organique semble être le paramètre le plus important dans le processus de rétention de l'IFT : en effet, les valeurs de K_{fa} augmentent lorsque la teneur en carbone organique augmente.

2. Mobilité

2.1 Matériels et méthodes

2.1.1 Parcelle d'étude

La parcelle choisie pour conduire l'étude de la mobilité de l'IFT et de ses produits de dégradation en conditions naturelles a une superficie de 170 m², n'a jamais été traitée par l'IFT auparavant, et n'a pas été cultivée depuis cinq ans. Les limites de la parcelle ont été matérialisées par des piquets en bois et des ficelles. Aucun produit phytosanitaire n'a été appliqué pour le désherbage préalable de la parcelle, afin d'éviter toute réaction croisée qui aurait pu modifier le processus de dégradation de l'IFT dans le sol. Un désherbage de surface a été effectué à l'aide d'un Rotavator, sorte de motoculteur dont les dents ne s'enfoncent pas à plus de 10 cm de profondeur, permettant ainsi de conserver les horizons 0-10 cm (M1) et 10-20 cm (M2) intacts. Les principales propriétés physico-chimiques des deux horizons sont décrites dans le Tableau 1 (paragraphe 1.1.1. Sols étudiés).

2.1.2 Traitement de la parcelle

Pour se rapprocher le plus possible des conditions réelles d'application, le traitement a été réalisé au printemps, au début du mois d'avril. La formulation utilisée pour l'étude de la mobilité et de la dégradation de l'IFT en conditions naturelles a été la formulation Merlin® (granulés solubles dans l'eau et contenant l'IFT seul à 75%). La dose d'application a été de 141,2 g d'IFT par hectare, ce qui est légèrement inférieur à la dose maximale d'application usuelle.

2.1.3 Prélèvements et conditions météorologiques

Les prélèvements ont été effectués selon un calendrier pré-établi : J0 (h0 et h7), J1, J2, J4, J7, J14, J28, J61 et J91. L'échantillonnage a été réalisé selon une procédure adaptée d'une méthode de la F.A.O. (cité par Bobé, 1998) : à chaque date prévue, douze carottes de sol ont été prélevées de façon aléatoire le long des diagonales, les horizons M1 et M2 étant séparés à chaque fois. Les prélèvements d'un même horizon ont ensuite été rassemblés, homogénéisés, puis l'ensemble a été tamisé à 2 mm et conservé à -18°C jusqu'à l'analyse. Un prélèvement supplémentaire à 0-5 cm a été effectué le 14^{ème} jour.

Les conditions météorologiques ont été relevées quotidiennement tout au long de l'étude. La température moyenne a varié de 13°C à 26°C entre le début et la fin de l'étude. Les précipitations ont été négligeables, hormis le 50^{ème} jour où il est tombé 49 mm d'eau ; la durée d'insolation a été à peu près constante, de valeur moyenne voisine de 9 heures (une insolation égale à zéro indique un ciel couvert).

2.1.4 Analyse

Après décongélation, les prélèvements ont été analysés comme suit :

- une prise d'essai de 10 g d'échantillon est extraite par 20 ml d'un mélange $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}_{10\%}$ (60/40/0,8 : v/v/v), pendant 20 minutes. Après centrifugation et séparation du surnageant, la procédure est répétée une deuxième fois.

Les surnageants sont ensuite rassemblés dans un erlenmeyer de 100 ml et entreposés à $-18\text{ }^\circ\text{C}$ pendant une à deux heures.

- la phase acétonitrile, non congelée, est ensuite prélevée, puis on ajoute 20 ml d'acétonitrile à la phase aqueuse pour effectuer une deuxième séparation à $-18\text{ }^\circ\text{C}$.

- les deux phases organiques sont rassemblées, évaporées sous vide juste à sec et reprises par 2 à 3 ml de phase mobile pour l'injection en HPLC/UV.

- l'appareil HPLC/UV utilisé pour l'analyse des échantillons est le même que celui décrit précédemment.

- à cause d'une interférence au même temps de rétention que l'AB, nous avons procédé à la méthylation de ce dérivé par le triméthylsilyldiazométhane en milieu acide, à $35\text{ }^\circ\text{C}$ et sous flux d'azote. Les échantillons obtenus ont ensuite été analysés par CPG/ECD et/ou CPG/SM.

- une prise d'essai supplémentaire de 10 g de sol est utilisée pour la mesure du taux d'humidité de l'échantillon par pesée différentielle.

2.2 Résultats

2.2.1 Mobilité et dissipation de l'IFT

La figure 3 présente l'évolution de la teneur en IFT et ses dérivés dans les horizons M1 et M2.

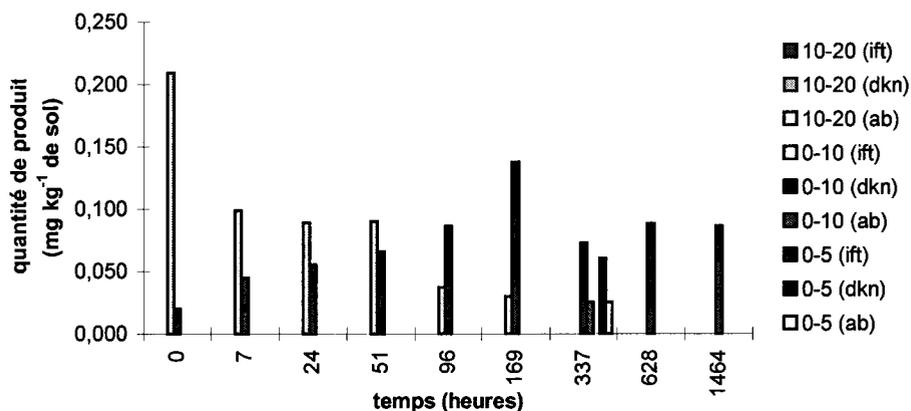


Fig. n° 3 : Evolution des teneurs en IFT et en ses principaux dérivés DKN et AB dans le sol de Montpellier.

Expérimentalement, la teneur initiale est de 0,21 mg d'IFT par kg de sol et on observe la présence de DKN à 0,1 mg kg⁻¹, due certainement à une contamination accidentelle lors de l'analyse du prélèvement correspondant. Ces valeurs sont inférieures à la quantité maximum de produit susceptible d'être retrouvée dans le sol ; il est possible que la totalité de l'IFT n'ait pas atteint le sol malgré toutes les précautions prises lors du traitement.

Sur la figure 3 nous constatons l'absence, au-delà de 10 cm de profondeur, de composés à des valeurs supérieures à la limite de quantification de la méthode analytique, ce qui confirme la faible mobilité de l'IFT et de ses dérivés (Aventis CropScience, *comm. pers.*).

Parallèlement, nous avons étudié la dégradation de l'IFT dans le sol, et plus particulièrement dans l'horizon M1, depuis le jour du traitement jusqu'à J61, l'échantillon J91 n'ayant pu être traité en raison d'une rupture dans la chaîne de froid. Dans cet horizon, la teneur en IFT diminue très rapidement jusqu'à être inférieure à la limite de détection le 14^{ème} jour.

2.2.2 Formation et mobilité des produits de dégradation

Les produits de dégradation apparus sont le DKN et l'AB, ce dernier étant détecté uniquement le 14^{ème} jour à une teneur proche de sa limite de quantification. Aucun de ces deux dérivés n'est retrouvé dans l'horizon M2, ce qui peut paraître étonnant étant données les valeurs de K_{fa} obtenues lors de l'étude d'adsorption-désorption, et qui semblent indiquer que le DKN et l'AB ont une faible affinité pour le sol. Le manque de précipitations et l'absence d'arrosage de la parcelle, combinées à des températures moyennes allant de 13°C en début d'étude à 26°C en fin d'étude peuvent avoir facilité le mouvement ascendant de l'eau mobile du sol et favorisé ainsi le confinement de l'IFT, du DKN et de l'AB dans les dix premiers centimètres du sol. L'eau étant le vecteur principal de transport des xénobiotiques dans le sol,

son évaporation est une condition défavorable à la mobilité de ces produits (Rouchaud *et al.*, 1998). Les valeurs des taux d'humidité des prélèvements sont plutôt faibles ; (14 ± 2) % en moyenne pour l'horizon M1 et (10 ± 2) % pour l'horizon M2.

Parallèlement à la diminution de la teneur en IFT, la teneur en DKN augmente proportionnellement puisque le bilan molaire DKN + IFT est constant jusqu'au septième jour, date au-delà de laquelle la teneur en DKN semble diminuer légèrement. Les traces d'AB détectées au 14^{ème} jour concordent avec cette baisse de la teneur en DKN dans l'horizon et le manque de précipitations à ce moment peut expliquer que ces deux molécules n'aient pas été retrouvées ensuite dans l'horizon M2.

2.2.3 Cinétique de dégradation de l'IFT

Le modèle de second ordre ($1/C - 1/C_0 = K_{\text{obs}} t$) s'adapte bien à la diminution de l'IFT dans l'horizon M1, avec un coefficient de détermination $r^2 = 0,9469$. La constante de vitesse observée de la dégradation de l'IFT dans l'horizon M1 dans nos conditions expérimentales est alors de $0,163 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Le temps de demi-vie [$t_{1/2} = 1/(K_{\text{obs}} C_0)$] est alors de 20 heures.

2.3 Conclusion

Les résultats obtenus au cours de l'étude de la mobilité et de la dégradation de l'IFT en plein champ en conditions naturelles ont montré que la dégradation de l'IFT se produisait essentiellement dans les premiers centimètres du sol, conduisant principalement au dérivé DKN. Des traces d'AB ont été détectées le 14^{ème} jour. Le manque de précipitations et l'absence d'arrosage ont entraîné le confinement des trois molécules dans l'horizon superficiel M1.

Conclusion générale

Les résultats présentés dans cette étude montrent que l'isoxaflutole IFT est une molécule de faible persistance, s'isomérisant rapidement en son dérivé dicétonitrile DKN. La facilité de l'IFT à s'adsorber à la surface du sol lui permet de pouvoir rester confiné dans l'horizon superficiel. Le DKN, véritable substance active de l'herbicide, formé par la suite, peut alors être absorbé par les racines des adventices.

Les études actuellement en cours sur la dégradation de l'IFT dans le sol en conditions contrôlées nous permettront de mieux préciser le comportement de cet herbicide dans l'environnement.

Bibliographie

- Beltràn E., Fenet H., Cooper J. F., Coste C. M. (2000). Kinetics of Abiotic Hydrolysis of Isoxaflutole. Influence of pH and Temperature in Aqueous Mineral Buffered Solutions. *J. Agric. Food Chem.*, 48 (9), pp. 4399-4403.
- Beltràn E., Fenet H., Cooper J. F., Coste C. M. (2001), Kinetics of Chemical Degradation of Isoxaflutole : Influence of the Nature of Aqueous Buffers (alkanoic acid/sodium salt vs phosphate). *Pest Manag Sci*, 57, pp. 366-371.
- Bobé A. (1998). Devenir et comportement de l'insecticide fipronil dans le sol. Etude en milieu tropical (Niger) dans les conditions de lutte anti-acridienne. Thèse de Doctorat de l'Université Montpellier I, 146 p.
- Giles C. H., MacEwan T. H., Nakhwa S. N., Smith D. (1960), Studies in Adsorption. Part XI. A System of Classification of Solution Adsorption Isotherms, and its Use in Diagnosis of Adsorption Mechanisms and in Measurement of Specific Surface Areas of Solids. *J. Chem. Soc.*, 3, pp. 3973-3993.
- Logan S. (1996), Fundamentals of chemical kinetics (ed. by Longman Group Limited), London, 270 p.
- Mitra S., Bhowmik P. C., Xing B. (1999), Sorption of isoxaflutole in five different soils varying in physical and chemical properties. *Pestic. Sci.*, 55, pp. 935-942.
- Mitra S., Bhowmik P. C., Xing B. (2000), Sorption and desorption of the diketonitrile metabolite of isoxaflutole in soils. *Environ. Poll.*, 108 (2), pp. 183-190.
- Rouchaud J., Neus O., Callens D., Bulcke R. (1998). Isoxaflutol herbicide soil persistence and mobility in summer corn and winter wheat crops. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 60, pp. 577-584.
- Taylor-Lovell S., Sims G. K., Wax L. M., Hassett J. J. (2000), Hydrolysis and Soil Adsorption of the Labile Herbicide Isoxaflutole. *Environ. Sci. Technol.*, 34, pp. 3186-3190.

Etude des interactions pesticides/argiles anioniques

Study of organic pollutants - anionic clays interactions

Inacio J., Taviot-Guého, C., Forano C., Besse J.P.

L.M.I UMR 6002, Université Blaise Pascal, 24 avenue des landais 63177 Aubière cedex

Résumé : En raison de l'utilisation croissante de pesticides pour satisfaire aux besoins économiques d'une production agricole de plus en plus intensive, de nombreuses études sont actuellement menées sur le devenir de ces pesticides dans les sols et le traitement de la pollution induite (Gastaldi D., 1998, Zheng S.-Q, 1996).

L'intérêt des hydroxydes doubles lamellaires (HDL) dans ce domaine réside tout d'abord dans leurs propriétés d'échange qui offrent des possibilités de piégeage de polluants et d'autre part, dans leur utilisation comme modèle de sols pour la compréhension des phénomènes de pollution des sols.

Le présent travail porte tout d'abord sur le piégeage par la phase $[Mg_{1-x}Al_x(OH)_2][X.nH_2O]$ de différents herbicides : dérivés aryloxyacétiques (2,4 D : acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, 2,4,5 T : acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique, MCPA : acide chloro méthyl phénoxyacétique), phénolique (DNOC : 2-méthyl 4,6-dinitrophénol) et triazine (atrazine : 6-chloro N-ethyl N'-isopropyl 2,4-diamino 1,3,5-triazine). Les essais d'adsorption sont réalisés en milieu aqueux à un pH de 7 pour lequel les composés 2,4 D, 2,4,5 T et MCPA sont sous la forme anionique et l'atrazine est une molécule neutre. La modélisation des isothermes d'adsorption, par l'équation de Freundlich, complétée par des analyses par diffraction des rayons X et spectrométrie IR permet de préciser les mécanismes d'interaction. (Inacio J., 2001). L'allure des isothermes varie en fonction de la nature de l'herbicide. Pour les dérivés phénoxyacétiques, le passage du type S au type L (classification de Giles et al.) au sein d'une même isotherme est attribué à une interaction d'abord de surface puis avec l'ensemble du solide. Le type S suggère des interaction entre les molécules de polluant assez importantes. D'autre part, l'augmentation de la capacité d'adsorption avec la capacité d'échange des argiles indiquerait un processus d'échange. Dans le cas du DNOC, les isothermes tendent vers le type C. L'analyse par diffraction des rayons X de l'argile en fin d'isotherme montre une intercalation différente pour ces deux familles de pesticides ; alors que les anions 2,4D, 2,4,5T et MCPA, orientés perpendiculairement aux feuillettes, s'organisent en bicouche dans l'espace interlamellaire, les anions DNOC forment une monocouche. La surface hydroxylée des HDL, très réactive, permet également l'adsorption de molécules neutres telles l'atrazine qui conduit à des isothermes de type L indiquant une affinité importante entre cette molécule neutre et l'argile.

Dans ce travail, nous abordons également les phénomènes d'interactions modèles de sols-polluant. Le choix des argiles synthétiques comme modèle de sols s'appuie sur leur richesse de composition qui autorise un contrôle des propriétés physiques et chimiques et permet une bonne représentativité des sols naturels. A cette composante minérale, nous avons ajouté l'oxyde de fer Fe_2O_3 et la partie organique est modélisée par un acide humique. L'étude de l'adsorption du MCPA par ces systèmes nous a permis de montrer l'influence des propriétés hydrophiles/hydrophobes et de la charge de surface sur l'adsorption.

Abstract : The extended contamination of soils and ground water from the widespread use of pesticides in modern agriculture is a current concern that is impelling research looking for remedies.

The interest of anionic clays in this field stems from their exchange properties that make them promising materials for the elimination of pollutants. On the other hand, anionic clays may be used as soil models for predicting the behavior of pollutants in soils.

Anionic clays (also called Layered Double Hydroxides or LDHs) are rare in nature but simple to prepare; hydrotalcite [Mg-Al], hydrocalumite [Ca-Al] and the green rust are LDHs that occur in nature. Their structure is derived from that of brucite $Mg(OH)_2$ (Allman, 1968). A wide range of composition can be obtained for these materials by changing the nature of the metal cations and the ratio M^{II}/M^{III} as well as the type of the intercalated anion X^{m-} in the general formula : $[M^{2+}_{1-x}M^{3+}_x(OH)_2]^{x+}[X^{m-}_{xm}.nH_2O]$ abbreviated as $[M^{2+}M^{3+}X]$ (de Roy et al., 1998; Vaccari, 1999). Hence, their chemical and physical properties can be varied and this has led to intensive search for uses of LDHs in catalysis and sorption processes. Their high ion exchange capacities make them promising materials for the elimination of ecologically undesirable inorganic and organic anions. Indeed, the removal of chromate (Hourri et al., 1998; Rhee et al., 1997), nitrate, phosphate, arsenate or vanadate anions (Parker et al., 1995; Kovanda et al., 1999) from contaminated water by LDHs have already been demonstrated. An other objective would be the use of LDHs and modified LDH materials as recyclable sorbents and heterogeneous catalysts for the treatment of contaminated waste waters.

The aim of the present work is to study the sorption capacity of three phenoxyacetic acids (2.4D : 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2.4.5T : 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid and MCPA : 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid) a phenol (DNOC : 2-methyl 4,6-dinitrophenol) and a member of the S-triazine family (atrazine : 2-chloro-4-ethyl-amino-6-isopropylamino-s-triazine) on magnesium-aluminium hydrotalcites in order to establish their sorption capacity and mechanism. The adsorption experiments being conducted at pH = 7, the molecules 2.4.5T, 2.4D, MCPA and DNOC were in the anionic form while atrazine was non ionic. The shape of the adsorption isotherms, described by Freundlich model, depends on the herbicide. For the phenoxyacetic compounds, the isotherms are of S-type with a tendency to L-type for high pollutant equilibrium concentration. This change is likely to be due to change from external to interlayer adsorption. Furthermore, the increase of the adsorption capacity with the anionic exchange capacity indicates an exchange process. In the case of DNOC, the isotherms resemble to the C-type. The X-ray diffraction analysis of the solids shows an intercalation of these anionic pollutants vertically orientated in the hydrotalcite interlayer, but while the phenoxyacetic compounds form a double layer, the DNOC intercalates in a single layer.

This work also deals with the transfer of herbicides in soils. Soils curtails their mobility by sorption and biological or chemical degradation. Consequently, an understanding of these processes is necessary for predicting the behaviour of organic pollutants in soil and for evaluating the risk of leakage into groundwater. Owing to their large range of composition which make it possible to control their physical and chemical properties, LDHs are here investigated as soil models for studying the behaviour of organic molecules at mineral and humic acid surfaces.

Mots clés : Adsorption, Pollution, Hydroxydes Doubles Lamellaires, Hydrotalcites, Pesticides, Herbicides, Environnement

Keywords : Adsorption, Contamination, MCPA, Layered Double Hydroxides, Hydrotalcites, Pesticides, Environment.

Introduction

Les HDL sont des hydroxydes lamellaires mixtes de métaux di et trivalents. La structure peut être décrite par l'empilement de feuillets de composition $M(OH)_2$ analogues à ceux de la brucite. La présence de métal trivalent conduit à des feuillets chargés positivement. L'électroneutralité est assurée par des espèces anioniques solvatées par des molécules d'eau présentes dans l'espace interfeuillelet (de Roy A., 1998). De telles phases existent comme minéraux : Hydrotalcite [Mg-Al], Hydrocalumite [Ca-Al], les « rouilles vertes » [Fe^{2+} - Fe^{3+}].

Cependant ces minéraux ne sont jamais abondants ; dans la nature, les matériaux argileux sont principalement des argiles cationiques (phyllosilicates). Les travaux de Miyata dans les années 70 (Miyata S. 1975), notamment sur la synthèse par « chimie-douce » des HDL, a permis leur développement. Etant donné les multiples combinaisons possibles entre les métaux constitutifs des feuillets et les espèces interlamellaires ainsi que les nombreuses variables de préparation, il est possible de faire varier les propriétés chimiques et physiques des HDL d'où l'intérêt croissant pour ces matériaux en particulier dans le domaine de la catalyse (Zeng H.C., 1997). D'autre part, avec des capacités d'échange les plus fortes parmi les échangeurs ioniques 3-4 meq/g et une surface hydroxylée très réactive favorisant la chimisorption, les HDL offrent également des possibilités de piégeage de polluants chimiques. L'efficacité des HDL dans le traitement d'eaux polluées par des anions nitrates, phosphates ou chromates a déjà été démontrée (Houri B., 1998, Parker L.M., 1995). De nombreux travaux portent également sur l'utilisation des HDL comme support ou catalyseur pour la dégradation de polluants chimiques (Swamy C.S., 1996).

Le présent travail porte tout d'abord sur l'étude du piégeage par la phase $[Mg_{1-x}Al_x(OH)_2][X.nH_2O]$ de différents herbicides : dérivés aryloxyacétiques (2,4 D : acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, 2,4,5 T : acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique, MCPA : acide chloro méthyl phénoxyacétique), phénolique (DNOC : 2-méthyl 4,6-dinitrophénol) et triazine (atrazine : 6-chloro N-éthyl N'-isopropyl 2,4-diamino 1,3,5-triazine). Dans un second temps, afin de se rapprocher de la composition des sols, nous avons ajouté l'oxyde Fe_2O_3 à cette composante minérale et la partie organique est modélisée par un acide humique.

1. Partie expérimentale

1.1 Synthèse

L'ensemble des composés HDL a été préparé par la méthode de coprécipitation à pH constant (Miyata S., 1975). Elle consiste à réaliser la précipitation contrôlée par une base d'une solution contenant les sels des deux cations en proportions adéquates. Ainsi, la phase $[Mg_3AlCl]$ a été synthétisée à 65 °C, sous atmosphère d'azote, par addition progressive d'une solution de $MgCl_2$ 0,75 M et $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 0,25 M dans un réacteur contenant au préalable 100 mL d'eau déionisée et

décarbonatée, sous agitation magnétique. Le pH est maintenu constant à la valeur de $10 \pm 0,1$ par l'ajout simultané d'une solution de soude 2M. Après une période de mûrissement de 12 heures à 65°C , le solide est récupéré par 3 cycles de lavage/centrifugation puis laissé sécher à l'air, à température ambiante.

Composés	M ^{II} /M ^{III}	X ⁻ /Al ³⁺	CO ₃ ²⁻ /Al ³⁺	S _{BET} (m ² /g)
[MgAlCl]	2.2 (2)	0.9	0.2	29
	3.1 (3)	1.1	0.3	44
	4.3 (4)	1.0	0.1	37
[MgAlNO ₃]	3.1 (3)	0.8	0.4	4

Tableau n°1 : Analyse chimique des argiles

1.2 Isothermes d'adsorption

Les isothermes d'adsorption des pesticides sur les argiles ont été enregistrées à 25°C , dans un réacteur fermé sous agitation magnétique. Typiquement, une masse de 10 mg d'argile est dispersée dans 50 mL d'une solution d'herbicide de concentration variable C_i (0-6mmol/L); dans le cas de l'atrazine, les mesures ont été réalisées avec 100 mg de la phase [Mg₃AlNO₃] et C_i varie de 0 à 0.004 mmol/L. Le pH de la solution d'herbicide est préalablement ajusté à 7 par ajout soit d'une solution d'acide chlorhydrique 0,1N, soit d'une solution de soude 0,1N. A ce pH, les polluants se trouvent sous la forme anionique, excepté l'atrazine qui est une molécule neutre. Après un temps de contact de 24 heures, les suspensions sont centrifugées. La concentration en herbicide dans la solution surnageante C_e , en équilibre avec celle adsorbée par l'argile C_s , est déterminée par spectrométrie UV (MCPA et 2,4,5 T : $\lambda = 279\text{nm}$, 2,4D : $\lambda = 282 \text{ nm}$, DNOC : $\lambda = 370$, atrazine : $\lambda = 225 \text{ nm}$). Les isothermes relient la quantité de polluant adsorbé sur l'argile C_s (exprimée par gramme d'argile : $C_s \text{ (mol/g)} = (C_i - C_e) \cdot V/m$) à celle en équilibre en solution C_e . Cette adsorption est parfaitement décrite par l'équation de Freundlich : $C_s = K \cdot C_e^{1/n}$. La transformée linéaire ($\log C_s = \log K + 1/n \cdot \log C_e$) permet le calcul des constantes K et $1/n$ qui renseignent respectivement sur la capacité d'adsorption de l'argile et l'affinité adsorbat/adsorbant (ou le degré de linéarité entre C_s et C_e). Giles et al. distinguent ainsi plusieurs types d'isothermes qu'ils rattachent à différents types d'interactions adsorbat-adsorbant (Giles C.H., 1960).

2. Résultats et discussion

2.1 Adsorption des dérivés aryloxyacétiques sur [Mg_R-Al-Cl] (Inacio J., 2001)

L'influence du pH sur l'adsorption de l'herbicide MCPA par la phase [Mg₃-Al-Cl] a d'abord été examinée. Ainsi, un pH acide < 5 entraîne une dissolution partielle de

l'argile alors qu'en milieu basique $\text{pH} > 7$, une compétition avec les anions carbonates est très probable étant donné l'affinité élevée des HDL pour ces anions. Le pH modifie également la solubilité de l'herbicide et la charge de surface de l'argile. Les mesures montrent une adsorption maximale à un pH de 7 qui correspond à celui des eaux naturelles.

L'adsorption est ici fonction de la capacité d'échange anionique des argiles comme l'indiquent les isothermes présentées Figure 1, obtenues avec différents rapports Mg/Al. Leur allure est complexe. Tout d'abord, pour des concentrations d'équilibre C_e inférieures à 0,5 mmol/L, la quantité d'herbicide retenue augmente rapidement et l'affinité adsorbat/adsorbant, déduite de la pente à l'origine, croît avec la densité de charge du feuillet. On observe ensuite un plateau dont la longueur et la hauteur, liées à la capacité d'adsorption, dépendent également du rapport Mg/Al. Puis, l'adsorption reprend pour des valeurs de C_e élevées. L'analyse par diffraction des rayons X de l'argile correspondant au dernier point de l'isotherme indique une intercalation en bicouche de l'anion MCPA (Figure 2). Si l'on se réfère à la classification de Giles, la première partie de ces isothermes est de type S indiquant des interactions compétitives adsorbat-adsorbant et adsorbat - adsorbat. Pour $C_e > 1,5$ mmol, les interactions adsorbat-adsorbant s'imposent et les isothermes se rapprochent du type L. Les valeurs de n , obtenues par ajustement par le modèle de Freundlich des deux régions de l'isotherme, confirment ce passage du type S ($1/n > 1$) au type L ($1/n < 1$) (Tableau 2). L'adsorption procède donc par échange ionique et s'effectue en deux temps avec tout d'abord échange des sites en surface suivi de l'échange des sites "internes".

L'adsorption du MCPA par $[\text{Mg}_3\text{AlCl}]$ est comparée à celle des herbicides 2,4-D et du 2,4,5-T appartenant à la même famille. L'allure des isothermes est également de type S pour $C_e < 1$ mmol/L. L'affinité adsorbat-adsorbant représentée par la valeur de n diminue alors que la solubilité de l'herbicide dans l'eau augmente en raison d'interactions adsorbat/solvant croissantes. Cette adsorption pourrait également être liée à la basicité des ligands carboxylates (2,4,5T : $\text{pK}_a = 3,9$; MCPA : $\text{pK}_a = 2,9$; 2,4D : $\text{pK}_a = 2,64$).

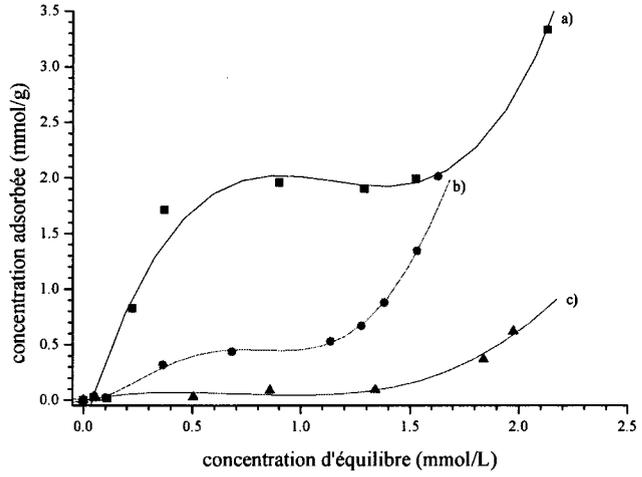


Fig. n° 1 : Isothermes d'adsorption du MCPA sur a) [Mg₂AlCl], b) [Mg₃AlCl], c) [Mg₄AlCl].

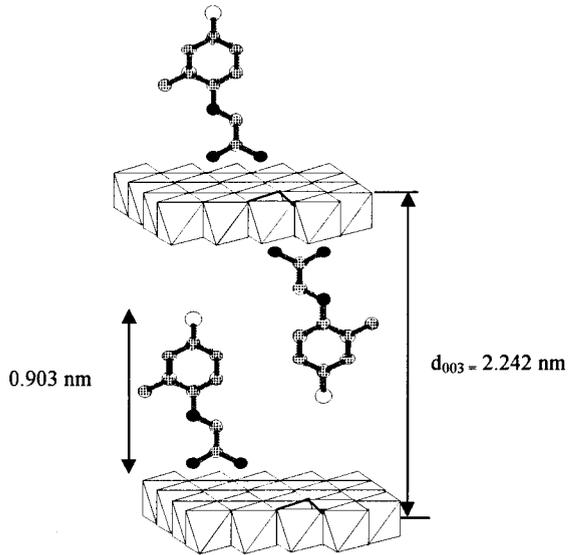


Fig. n° 2 : Représentation schématique de l'intercalation du MCPA dans les argiles

Composés	K(mmol/g)	n	r
[Mg ₂ AlCl] _{MCPA}	1.60	0.75	0.88
[Mg ₃ AlCl] _{MCPA}	0.66	0.67	0.97
[Mg ₄ AlCl] _{MCPA}	0.11	0.37	0.90
[Mg ₃ AlCl] _{2,4D}	0.17	0.61	0.92
[Mg ₃ AlCl] _{2,4,5T}	0.26	1.45	0.96
[Mg ₃ AlCl] _{DNOC}	3.02	1.04	0.99
[Mg ₃ AlNO ₃] _{ATRAZINE}	0.0042	1.76	0.90
[Mg ₃ AlCl] _{HDL/Fe₂O₃}	1.46	0.62	0.96
[Mg ₃ AlCl] _{HDL/Sub.Hum.}	0.63	0.66	0.94
[Mg ₃ AlCl] _{HDL/Sub.Hum./Fe₂O₃}	0.50	1.03	0.95

Tableau n° 2 : Résultats de l'ajustement des isothermes par le modèle de Freundlich

2.2 Adsorption d'un dérivé phénolique, le 2-méthyl 4,6 dinitro phénol, DNOC, sur [Mg₃AlCl]

L'isotherme d'adsorption du DNOC (pKa = 4,62) par [Mg₃AlCl], présentée figure 3, est de type C (n proche de 1). Cette variation linéaire de la quantité de DNOC adsorbé avec la concentration en solution indique une affinité adsorbat-adsorbant constante. Cette différence de comportement, comparée aux dérivés phénoxyacétiques précédents, s'observe également au niveau du processus d'intercalation puisque les anions DNOC s'organisent en monocouche dans l'espace interlamellaire.

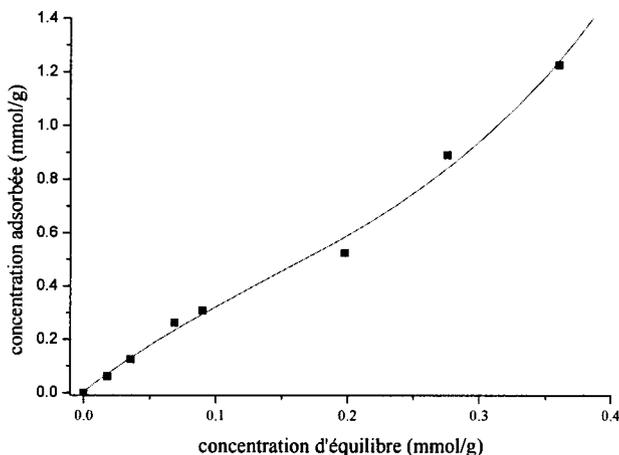


Fig. n° 3 : Adsorption du DNOC sur [Mg₃AlCl].

2.3 Adsorption de l'atrazine sur $[Mg_3AlNO_3]$

En raison de la faible solubilité de l'atrazine, les essais d'adsorption ont été réalisés avec 100 mg d'argile anionique $[Mg_3AlNO_3]$ en présence de 10 mL de solution de pesticides ceci afin d'augmenter la précision des mesures (Grover R., 1970). L'adsorption de cette molécule neutre ($pK_a = 1,68$) par des liaisons Hydrogène ou interactions de Van der Waals à l'interface argile/solution est plus faible que l'adsorption ou l'échange des molécules chargées précédentes. Néanmoins, elle conduit à des isothermes de type L ($n > 1$) indiquant une affinité adsorbat-adsorbant élevée et l'absence d'interactions compétitives.

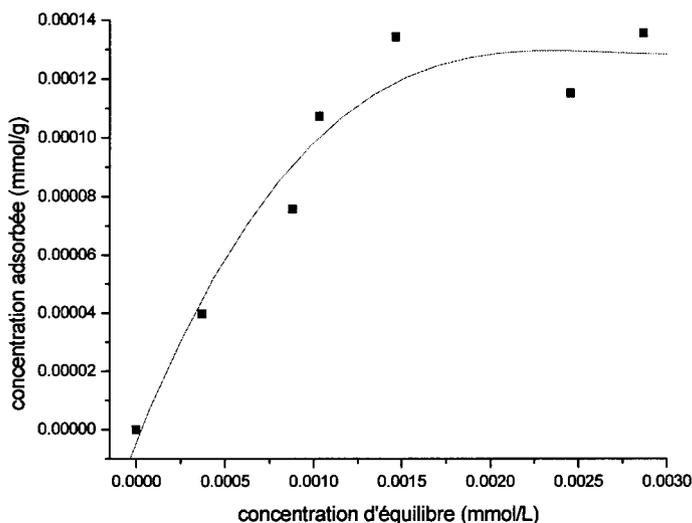


Fig. n° 4 : Adsorption de l'atrazine sur $[Mg_3AlNO_3]$.

2.4 Modèle de sols

L'utilisation des argiles synthétiques comme modèle de sols repose sur leur richesse de composition et les nombreuses variables de préparation qui permettent un contrôle des propriétés physiques et chimiques d'où une bonne représentativité des sols. A cette composante minérale $[Mg_3AlNO_3]$, nous avons ajouté l'oxyde de fer Fe_2O_3 et la partie organique est modélisée par un acide humique. L'allure des isothermes d'adsorption de l'anion MCPA par ces modèles de sols est semblable à celle obtenue avec l'argile seule. Pour $C_e < 0,5$ mmol/L, l'adsorption plus faible du système argile/acide humique peut être attribuée soit au caractère hydrophobe de cette argile modifiée soit à la charge de surface de l'acide humique. Le système HDL/ Fe_2O_3 , par contre, adsorbe davantage; à $pH = 7$, la

surface de l'oxyde Fe_2O_3 doit présenter un caractère acide favorable à l'interaction avec les anions MCPA. Cet ordre d'adsorption change pour $\text{Ce} > 0,5\text{mmol/L}$.

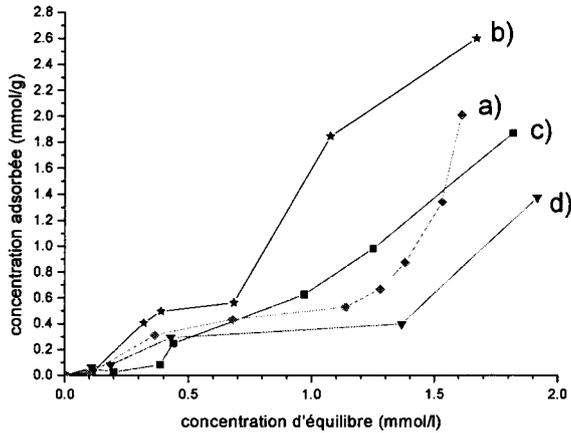


Fig. n° 5 : Adsorption du MCPA sur a) $[\text{Mg}_3\text{AlNO}_3]$, b) HDL/ Fe_2O_3 , c) HDL/substance humique, d) HDL/substance humique/ Fe_2O_3 .

Conclusion

De par leurs propriétés d'échange, les argiles anioniques offrent des possibilités de piégeage de polluants organiques anioniques. Les isothermes d'adsorption des dérivés aryloxyacétiques (MCPA, 2,4-D et 2,4,5T), intermédiaires entre les types S et L, indiquent des interactions modérées entre le polluant organique et l'argile. L'adsorption procède par échange et concerne d'abord la surface puis l'ensemble du solide. Elle dépend de nombreux facteurs comme le pH, la densité de charge des feuillets, la morphologie de l'argile et le rapport des phases solide/liquide. L'adsorption du DNOC conduit à des isothermes de type C. Cette différence de comportement, comparée aux dérivés phénoxyacétiques, s'observe également au niveau du processus d'intercalation puisque les anions DNOC s'organisent en monocouche dans l'espace interlamellaire alors que les anions précédents forment une bicouche. Enfin, la surface hydroxylée des HDL, très réactive, permet également l'adsorption de molécules neutres telle l'atrazine.

De par leur richesse de composition les HDL peuvent également être envisagés comme modèles de sols relativement simples. L'étude des complexes argilo-humique et du système argile- Fe_2O_3 montre l'influence des propriétés hydrophiles/hydrophobes et de la charge de surface des différentes composantes sur le transfert des pesticides.

Références

- Allman R., 1968, The crystal structure of pyraurite, *Acta Cryst.*, B24, 972-977.
- Barriuso E., Laird D.A., Koskinen W.C., Dowdy R.H., 1994, Atrazine desorption from smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 58, 1632-1638.
- De roy A., 1998, Lamellar double hydroxydes, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 311, 173-193.
- Gastaldi D., Ostacoli G., Torazzo A., Zelano V., 1998, *Annali di chimica*, 88, 657-665.
- Giles C.H., MacEwan T.H., Nakhwa S.N., Smith D., 1960, Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids, *J. Chem. Soc. Londo*, 3973-3993.
- Grover R., Hance R.J., 1970, Effect of ratio of soil to water on adsorption of linuron and atrazine. *Soil Sci.*, 109, 136-138.
- Houri B., Legroui A., Barroug A., Forano C., Besse J.P., 1998, Use of the ion-exchange properties of layered double hydroxides for water purification, *Czech.Chem.Comm.*, 63, 732-740.
- Inacio J., Taviot-Gueho C., Forano C., Besse J.P., sous presse, adsorption of MCPA pesticide by MgAl- layered double hydroxydes, *Applied Clay Science*.
- Kovanda F., Kovacsova E., Kolousek D., 1999, Removal of anions from solution by calcined hydrotalcite and regeneration of used sorbent in repeated calcination-rehydration-anion exchange processes, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 64, 1517-1528.
- Miyata S., 1975, The synthesis of hydrotalcite-like compounds and their structures and physico-chemical properties the systems $MgAlNO_3$, $MgAlCl$, $MgAlClO_4$, $NiAlCl$, $ZnAlCl$, *Clays Clay Miner.*, 23, 369-375.
- Parker L.M., Milestone N.B., Newman R.H., 1995, The use of hydrotalcite as anion absorbent. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 34, 1196-1202.
- Rhee S.W. Kang M.J., Kim H., Moo C.H., 1997, Removal of aquatic chromate ion involving rehydration of calcined layered double hydroxide $[Mg-Al-CO_3]$, *Environmental Technology*, 18, 231-236.
- Swamy C.S., Kannan S., Velu S., 1996, Hydrotalcite like materials : their possible role in environmental control. *Main Group Elements and their Compounds*. Kumar Das V.G. (Ed.), New Delhi.
- Vaccari A., 1999, Clays and catalysis : a promising future., *Applied Clay Science*, 14, 4, 161-198.
- Zeng H.C., Pang X.Y., 1997, *App. Cata. B*, 13, 113.
- Zheng S.-Q., Cooper J.-F., 1996, Adsorption, desorption, and degradation of three pesticides in different soils, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 30, 15-20.

ETUDE DE LA MINERALISATION DE L'ISOPROTURON DANS DEUX SOLS MAROCAINS

A. BOUHAOUSS, K. EL-KHATTABI, C. PERRIN -GANIER*, M. SCHIAVON*

Laboratoire de Chimie Physique Générale, Département De Chimie, Faculté Des Sciences, Av. Ibn Battouta, B.P. 1014, Rabat, Maroc

*Laboratoire Sols et Environnement, Ecole National Supérieur D'agronomie et des Industries Alimentaires, BP 172, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

Résumé : L'étude de la minéralisation de l'isoproturon dans deux sols marocains de la région de Gharb (Nord-Est du Maroc) dénommés Tirs et Dehs a été réalisée à l'aide de la molécule marquée sur le carbone uréique et en conditions contrôlées. Le suivi de l'activité biologique de la microflore et de la minéralisation de l'isoproturon a été évalué pendant 43 jours respectivement par la mesure de CO₂ et du ¹⁴CO₂ total dégagé. Il est apparu que la minéralisation de la molécule s'effectuait par voie biologique. Cette minéralisation est plus importante à partir du sol Tirs. L'apport de l'azote semble inhiber le processus de la minéralisation pour le sol Tirs.

Abstract : *The study of the mineralisation of the isoproturon in two Moroccan soils issue from the region of Gharb (North-East of Morocco) named Tirs and Dehs has been achieved with the aide of the molecule marked on the ureique carbon and in controlled conditions. The well attended of the biologic activity of the microflore and of the mineralisation of the isoproturon has been valued to 43 days respectively by the measurement of CO₂ and of ¹⁴CO₂ free whole. He appeared that the mineralisation of the molecule did by biologic way. This mineralisation is more important for the Tirs soil. The contribution of the nitrogen seems to inhibit the process of the mineralisation in this soil.*

Mots clés : minéralisation, isoproturon, Tirs , Dehs.

Keywords: *minéralisation], isoproturon, soils.*

1. Introduction

La molécule d'isoproturon est un herbicide des céréales. Cette molécule figure dans la liste des pesticides à surveiller pour ce qui concerne la qualité des sols (Pieuchot *et al*, 1995) [1]. Le suivi du devenir du présent herbicide dans certains sols a fait titre de beaucoup d'articles scientifiques. En revanche le suivi du devenir de cet herbicide dans des sols marocains spécifiques de la région du Gharb dénommé Tirs et Dehs n'a jamais été abordé à l'heure actuelle. Ainsi l'expérimentation présentée ici vise dans un premier temps à évaluer la rétention (adsorption/désorption) de l'isoproturon dans les deux sols par la réalisation des isothermes d'adsorption et de désorption et dans un deuxième temps à évaluer la

minéralisation du présent herbicide par le suivi d'une incubation sur une période de 43 jours.

2. Partie expérimentale

2.1 Matériel et méthode

Deux sols agricoles à texture argileuse de la région de Gharb (Nord-Est du Maroc) dénommés Tirs et Dehs ont été sélectionnés. Leurs caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le tableau 1.

Sol	Niveau	Argiles	Limons fins (%)	Limons grossiers (%)	Sables fins (%)	Sables grossiers (%)	PH eau	Carbone organique (%)
Tirs	0-20	57.9	21.9	11.7	7.2	1.3	8.5	1.38
Dehs	0-20	8.9	29	1.7	0.4	0.3	8.6	1.51

Tableau n° 1 : Caractéristiques physico-chimiques des sols

L'herbicide utilisé est l'isoproturon [3-(4-isopropylphenyl)-1,1-diméthylurée], uniformément marqué au ^{14}C sur le cycle benzénique. Sa pureté radiochimique est supérieure à 98% et l'activité spécifique de la source est de 80.08 mci.mmol $^{-1}$.

2.1.1 Etude de la minéralisation

Après séchage à la température ambiante du laboratoire, la terre est tamisée à 2mm. Des fractions de 35 de terre sont introduites dans des cristallisoirs de 60mm de diamètre. Les trois modalités suivantes sont étudiées : sol T (Tirs), sol T_N (Tirs traité par l'azote) et le sol D (Dehs). Chaque échantillon est alors traité en surface avec une solution aqueuse (à 2% de méthanol) d'isoproturon à 100 mg.l $^{-1}$. Ceci permet de traiter l'échantillon par rapport à sa surface, à la dose préconisée de 1800 g.ha $^{-1}$, les modalités T et T_N ont reçu 6 ml de solution radioactive, soit 4470054 dpm et 0,6 mg d'isoproturon par échantillon, et la modalité D 5 ml d'une solution apportant 2878810 dpm et 0,5 mg d'isoproturon par échantillon. Pour amener l'humidité de la terre à 80 % de la capacité au champ, 2 ml d'eau complémentaire sont ajoutés à tous les échantillons. Ce volume permet d'apporter l'azote pour les essais T_N fertilisés à la dose de 180 kg ha $^{-1}$ ramenée à la surface (soit 3,6 mg d'azote sous forme NH₄NO₃, par échantillon). Des échantillons témoins sont préparés en traitant le sol avec 5 ml pour la modalité D ou 6 ml pour les modalités T et T_N, d'eau contenant 2 % de méthanol, puis 2 ml d'eau ou de solution azotée. Des blancs sont constitués avec un cristallisoir vide ne recevant aucune solution. Chaque cristallisoir est ensuite placé dans une enceinte hermétique dans laquelle ont été préalablement déposés, un flacon contenant 10 ml de NaOH 0,5 N destiné à piéger le CO₂ produit par la respiration du sol et un

flacon d'eau distillée afin de limiter les pertes en eau du sol en maintenant une humidité constante dans l'enceinte. L'ensemble des enceintes est déposé en chambre thermostatée à 20°C et à l'obscurité. La durée de l'expérience a été fixée à 43 jours, au cours desquels 8 prélèvements sont effectués aux temps : 0, 3, 7, 12, 19, 26, 33 et 43 jours. Pour chaque temps, 3 échantillons traités de chaque modalité et un témoin de référence de chaque sol sont prélevés afin d'y doser les résidus d'isoproturon. Les 3 blancs sont maintenus en place.

2.1.1.1 Suivi de la minéralisation de l'isoproturon

Le $^{14}\text{CO}_2$ issu de la minéralisation de la matière active est dosé à chaque renouvellement des pièges à CO_2 . Ces derniers sont remplacés aux temps 0, 3, 7, 12, 19, 26, 33 et 43 jours à compter du traitement. La radioactivité est dosée par scintillation liquide sur 1 ml de chaque piège en présence de 10 ml de scintillant Ultima Gold (Packard) compté pendant 10 mn. Les 9 ml de soude restants servent au dosage de l'ensemble du CO_2 dégagé par les échantillons de sol et issu de l'activité globale de minéralisation du sol. La soude en excès (n'ayant pas piégé du CO_2) est dosée en retour par HCl N/5 en présence de 3 ml de BaCl_2 à 20 % et 2 gouttes de thymolphtaléine. Les pièges de NaOH des blancs sont renouvelés régulièrement afin de servir de référence pour le dosage du CO_2 mn. produit par le sol.

2.1.1.2 Suivi de l'activité minéralisatrice globale des sols

Les restant de 9 ml de soude servent au dosage de l'ensemble du CO_2 dégagé par les échantillons de sol et issu de l'activité globale de minéralisation du sol. La soude en excès (n'ayant pas piégé du CO_2) est dosée en retour par HCl N/5 en présence de 3 ml de BaCl_2 à 20 % et 2 gouttes de thymolphtaléine. Les pièges de NaOH des blancs sont renouvelés régulièrement afin de servir de référence pour le dosage du CO_2 produit par le sol.

3. Résultats et discussion

3.1 Minéralisation de la matière organique

Les courbes cumulées de la minéralisation de la matière active des sols en présence ou non d'isoproturon (Figure 1), montrent un dégagement immédiat de CO_2 au début de l'incubation pour les trois modalités : T, T_N et D suite à la réhumectation du sol (à 80% de la capacité de rétention au champ). Ce dégagement ralentit et tend à se stabiliser progressivement. Ceci pourrait être attribué à la déshydratation progressive de la terre au cours de l'incubation, bien que celle-ci soit limitée par la présence d'un flacon d'eau distillée dans l'enceinte ou encore à l'épuisement progressif des substrats organiques source de carbone et d'énergie (Malterre, 1997)[2]. Un dégagement continu et progressif est observé pour la modalité T_N tout au long de l'incubation, ce qui pourrait être dû à l'apport

d'azote, source d'énergie pour l'activité microbienne, outre que la carbone issu des substrats organiques.

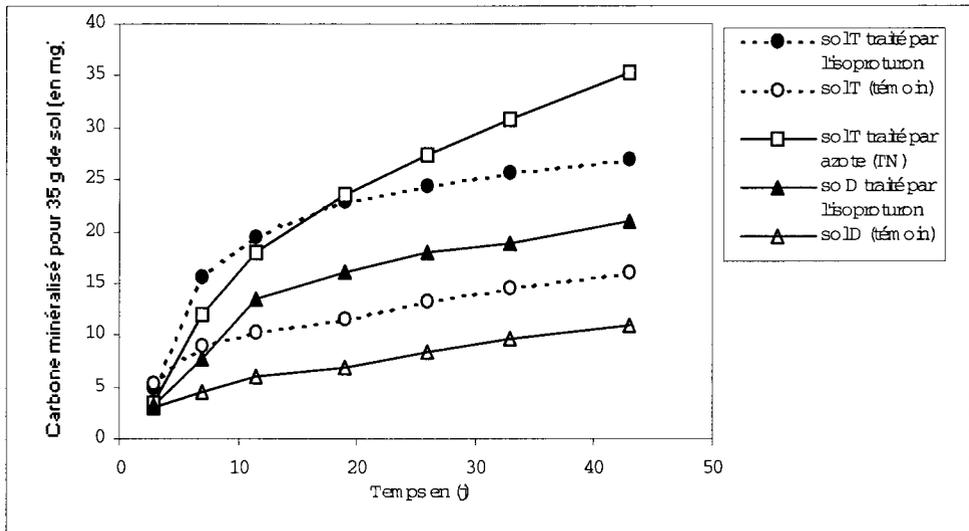


Fig. n° 1 : Courbes cumulées de la minéralisation de la matière organique, des sols marocains en présence ou non d'isoproturon.

La différence de la respiration entre les deux sols (plus de CO₂ dégagé), peut résulter d'une différence de propriétés physico-chimique des deux sols, ou encore de l'activité propre de la microflore. La quantité de carbone minéralisée est plus importante dans le cas des échantillons ayant reçu de l'isoproturon que dans celui des témoins. Ceci aurait comme explication une toxicité de l'isoproturon pour certaines souches microbiennes du sol. Ces souches, tuées après par l'apport d'herbicide deviendraient une source supplémentaire de substrats carbonés facilement disponibles à la microflore du sol ayant survécu, ce qui a été déjà observée par (Pieuchot, 1996) [3].

En fin d'incubation, les sols Tirs et Dehs (témoins) ont minéralisé respectivement 15,9 et 10,8 mg de C pour 35 g du sol. Cette différence peut résulter d'une population microbienne plus active ou d'une matière organique plus facilement minéralisable dans le cas du sol tirs (Douset, 1994) [4].

3.2 Minéralisation de l'isoproturon

Les courbes représentant le pourcentage cumulé de ¹⁴CO₂ au cours du temps (figure V), montrent : une différence importante de minéralisation entre les sols, l'absence de la phase de latence, puis un dégagement accéléré de ¹⁴CO₂ jusqu'à la fin de l'incubation, dans des proportions variables suivant le type de sol.

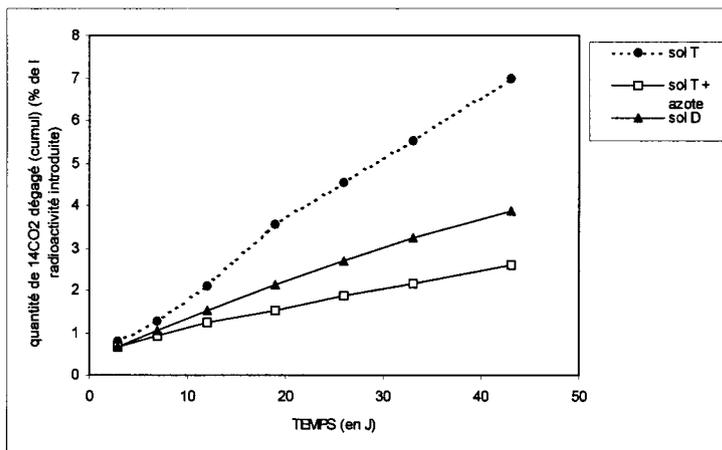


Fig. n° 2 : Dégagement de $^{14}\text{CO}_2$ cumulé au cours de l'incubation des sols traités à l'isoproturon.

Les courbes représentant le pourcentage non cumulé de $^{14}\text{CO}_2$ (dégagement journalier) (figure 6), montrent un dégagement précoce vers le troisième jour d'incubation. On assiste ensuite à une décroissance de la production de $^{14}\text{CO}_2$. Ce qui correspondrait à l'atteinte du maximum de l'activité microbienne en fonction des conditions de milieu. La courbe tend ensuite vers un plateau vers la fin de l'incubation. Ainsi les nouvelles conditions du milieu ne seraient plus favorables aux micro-organismes en place, ceci se traduirait par un épuisement du substrat initial. Ces mêmes remarques ont été déjà établies par (Perrin-Ganier et al., 1995) [5].

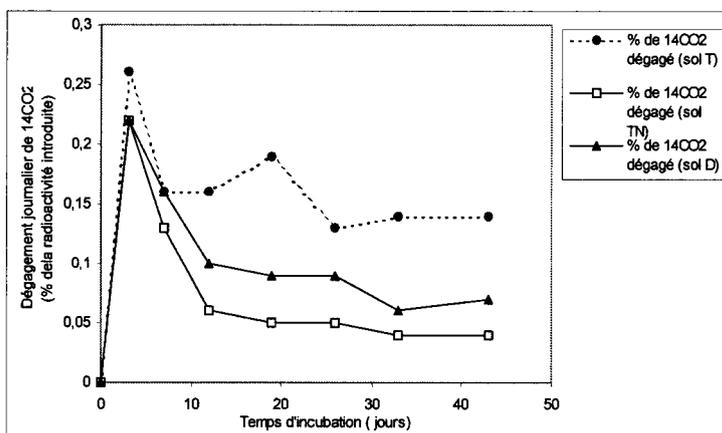


Fig. n° 3 : Dégagement journalier de $^{14}\text{CO}_2$ issu de la minéralisation de l'isoproturon, au cours de l'incubation des sol s

Le sol Tirs minéralise d'avantage l'isoproturon que le sol Dehs. Ceci pourrait être attribué à la différence des propriétés physico-chimiques des deux sols à savoir leur différence en taux d'argiles ou encore. Le sol Tirs dégrade d'avantage le présent pesticide que le même sol fertilisé par l'azote. Ceci aurait comme explication, le fait que les micro-organismes en place utiliseraient l'azote apporté comme source d'énergie, au lieu d'utiliser celui de la molécule d'isoproturon en la dégradant.

4. Conclusion générale

Pour évaluer le devenir de l'isoproturon dans deux sols marocains dénommés Tirs et Dehs, on a procédé à l'étude de la rétention et de la minéralisation du présent herbicide par les sols à 20°C et en conditions contrôlées.

La minéralisation de l'isoproturon marqué au ^{14}C , dans les deux sols résulte d'une activité microbienne du sol. La différence en capacité minéralisatrice entre les deux sols, proviendrait de la différence des propriétés physico-chimiques des sols à savoir la différence en teneur d'argiles. l'azote semble être un inhibiteur du processus de minéralisation de l'isoproturon à partir du sol Tirs.

Le traitement par l'isoproturon induit une action toxique vis à vis de la microflore des sols marocains, ainsi une différence significative de minéralisation entre témoin et échantillon traité du sol a été notée. La fertilisation du sol Tirs par l'azote, inhiberait la minéralisation de l'isoproturon.

Références bibliographiques

- [1] M. Pieuchot, *Etude du Métabolisme De L'isoproturon Dans Trois Types De Sols Lorrains, DEA de Toxicologie de l'Environnement*, Nancy, 1995, p...
- [2] Malterre
- [3] M. Pieuchot, C. Perrin. Ganier, J.M. Portal, M. Schiavon, *J .Chemosphere.*, 1995, 33, 467.
- [4] S. Dousset, C. Mouvet, M. Schiavon, *J. Chemosphere.*, 1993, 28, 467.
- [5] C. Perrin-Ganier, *Dispartion du Métabolisme De L'isoproturon Dans Le Sol Et L'eau*, Thèse Doct. Etat, Univ, Nancy, INPL, 1995, p.

Augmentation de la dégradation de l'atrazine dans des sols non adaptés par inoculation de *Chelatobacter heintzii* Cit1

S. Rousseaux, S. Piutti, A. Hartmann, B. Lagacherie, F. Andreux et Guy Soulas

UMR Microbiologie des sols/Géosol
17, rue Sully
BP 86510
21065 Dijon Cedex

Résumé : Bien que le phénomène de biodégradation accélérée diminue considérablement le taux d'atrazine dans les sols, la formation de « résidus liés », la persistance de l'atrazine dans certains sols (pH acides, taux de matière organique élevé, faible activité microbienne) font de l'atrazine un polluant encore très présent dans l'environnement. La bioaugmentation, procédé consistant à introduire des micro-organismes capables de dégrader le pesticide a montré son intérêt comme procédé de bioremédiation. Différents essais de bioaugmentation en laboratoire ou au champ sont prometteurs, bien que les concentrations d'inoculum employées et les fréquences de réinoculation soient parfois élevées et irréalistes dans une optique d'application. Ces utilisations massives ne sont en effet pas toujours compatibles avec des critères de bonne gestion économique, agronomique et environnementale.

Au cours de ce travail, nous avons utilisé comme inoculum, *Chelatobacter heintzii* Cit1, une souche microbienne que nous avons isolée d'un sol adapté à la dégradation de l'atrazine. Nous avons tenté de déterminer la densité microbienne minimum nécessaire de cet inoculum permettant d'obtenir une minéralisation rapide dans un sol non adapté. Nous avons également introduit cet inoculum dans des sols irradiés ou non et étudié, par comparaison, la compétence saprophytique de *C. heintzii* par rapport à la microflore indigène.

Mots clés : atrazine, sol, souche dégradante, bioaugmentation, augmentation potentiel de dégradation

Introduction

L'atrazine, pesticide de la famille des s-triazines, est depuis plus de 30 ans utilisée dans la lutte contre les adventices de grandes cultures telles que le maïs, le sorgho ou la vigne. Ce pesticide et ses dérivés ont été détectés dans les eaux de surface de différents pays à des concentrations largement supérieures au taux minimum autorisé (en Europe $0.1 \mu\text{g l}^{-1}$, aux USA $3 \mu\text{g l}^{-1}$). L'atrazine est un produit assez persistant avec une demi-vie allant jusqu'à 113 jours (Seiler *et al.* 1992). Mais depuis une quinzaine d'années, certains sols ayant une historique de traitement à l'atrazine et dont la caractéristique principale est d'avoir un pH supérieur à 6,5, présentent une capacité accrue de dégradation du produit

(Barriuso *et al.* 1996, Pussemier *et al.* 1997). Dans ce cas, la demi-vie de l'atrazine n'excède pas les 15 jours. Ce phénomène est appelé biodégradation accélérée (BDA).

Bien que le phénomène de BDA diminue considérablement le taux d'atrazine dans les sols et les eaux, la formation de « résidus liés », la persistance de l'atrazine dans certains sols (pH acides, taux de matière organique élevé, faible activité microbienne) font de l'atrazine un polluant encore très présent dans l'environnement. Les Bonnes Pratiques Agricoles, l'interdiction de certains pesticides ou la limitation de leurs utilisations sont des moyens de prévention mais qui ne peuvent pas réduire le taux de pesticides déjà contenus dans certains sols ou eaux. Depuis quelques années les chercheurs essaient de développer des méthodes de décontamination du sol et des eaux. Il semble que la biostimulation, procédé consistant à stimuler l'activité, notamment dégradante, de la microflore autochtone, soit une alternative intéressante. Les approches les plus courantes sont basées sur une stimulation nutritive consistant à apporter des substrats carbonés et énergétiques soit directement soit par l'intermédiaire d'une plante (Yassir *et al.*, 1998, Topp *et al.*, 1996 ; Anderson *et al.*, 1994). Une autre façon d'aborder le problème de la bioremédiation consiste à introduire des micro-organismes capables de dégrader le pesticide, on parle alors de bioaugmentation (Yanze-Kontchou et Gschwind, 1995 ; Wenk *et al.* 1997). Différentes études ont montré que l'inoculation parfois répétée de micro-organismes dégradant l'atrazine dans le cadre d'une bioremédiation semble un procédé prometteur (Newcombe et Crowley, 1999).

Au cours de ce travail, nous avons utilisé comme inoculum, *Chelatobacter heintzii* Cit1 (Rousseaux *et al.*, *in press*), une souche microbienne que nous avons isolée d'un sol adapté à la dégradation de l'atrazine. Nous avons tenté de déterminer la densité microbienne minimum nécessaire de cet inoculum permettant d'obtenir une minéralisation rapide dans un sol non adapté. Nous avons également introduit cet inoculum dans des sols irradiés ou non et étudié, par comparaison, la compétence saprophytique de *C. heintzii* par rapport à la microflore indigène.

1. Matériels et Méthodes

1.1 Les sols

Les caractéristiques des sols étudiés sont reportées dans le tableau 1, il s'agit des sols de Dijon et de La Bouzule.

Sol	granulométrie (%)			C (g kg ⁻¹)	N (g kg ⁻¹)	pH (H ₂ O)	Culture	Traitement
	Ar gile	Limon	Sable					
La Bouzule								
Nancy (ADEME)	34,4	53,0	12,6	18,2	1,87	6,7	Prairie	Pas d'atrazine
Dijon	33,4	50,5	16,1	13,9	1,36	7,5	Prairie	Atrazine amétryne, ...

Tableau n° 1 : Caractéristiques physico-chimiques et historique de traitements.

1.2 Préparation de l'inoculum et incubation

Nous avons réalisé une culture de *Chelatobacter heintzii* Cit1 en milieu AM liquide contenant (par litre d'eau déminéralisée): 1.6 g K₂HPO₄; 0.4 g KH₂PO₄; 0.2 g MgSO₄.7H₂O; 0.1 g NaCl; 0.02 g CaCl₂; 30 mg d'atrazine; 10 ml d'une solution stock de citrate de sodium; 1 ml d'une solution stock d'oligo-éléments; 1 ml d'une solution stock de vitamines; 1 ml d'une solution stock de FeSO₄.6H₂O. La solution stock de citrate de sodium contient 100 g l⁻¹ de citrate de sodium. La solution stock d'oligo-éléments contient 2 g l⁻¹ d'acide borique; 1.8 g l⁻¹ MnSO₄.H₂O; 0.2 g l⁻¹ ZnSO₄; 0.1 g l⁻¹ CuSO₄; 0.25 g l⁻¹ Na₂MoO₄. La solution stock de vitamines contient 100 mg l⁻¹ de thiamine-HCl et 40 mg l⁻¹ de biotine. La solution stock de FeSO₄.6H₂O contient 5 g l⁻¹ de FeSO₄.6H₂O. Les solutions stock de FeSO₄.6H₂O et de vitamines sont stérilisées par filtration, conservées à 4°C et ajoutées avec le citrate de sodium et la cycloheximide (50 mg l⁻¹) après autoclavage. Après une incubation de 5 à 7 jours, à 28°C sous agitation (150 rpm), la suspension cellulaire est centrifugée 10 min à 6000 g et le culot est remis en suspension dans un volume de milieu AM pour une concentration finale de 1 × 10⁹ cellules ml⁻¹. Des dilutions successives ont été réalisées pour obtenir 3 autres concentrations égales à : 1 X 10⁷; 1 X 10⁵ et 1 X 10³ cellules ml⁻¹. Nous avons réalisé des étalements de ces différentes suspensions sur milieu Nutrient Agar (Difco Laboratories, USA) afin d'estimer la concentration cellulaire.

Les sols utilisés ont été tamisés à 2-3 mm et une partie a été stérilisée par irradiation à 50 kGy (Ionisos, France). Avant leur utilisation, la stérilité de chaque échantillon a été contrôlée. Pour cela, des suspensions dilutions des sols irradiés ont été étalées sur du milieu Nutrient Agar et incubées 48 heures à 28°C.

Des échantillons de sol (10 g poids sec) irradiés et non irradiés ont été traités avec 1 ml de chaque dilution d'inoculum pour obtenir une concentration finale égale à 1 X 10⁸, 1 X 10⁶, 1 X 10⁴ et 1 X 10² souches dégradantes par gramme de sol sec. Les échantillons non inoculés servant de témoin ont reçu 1 ml d'eau stérile. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque concentration d'inoculum.

1.3 Traitement des échantillons et incubation

Des échantillons de 10 g de sol (équivalent sol sec) sont traités par un volume approprié d'une solution aqueuse d'atrazine à 30 mg l⁻¹ et d'atrazine radioactive marquée sur les carbones de la chaîne éthylamino ou marquée sur les carbones du cycle de façon à ce que la concentration finale dans les échantillons soit de 0,5 mg kg⁻¹ (équivalent à 1,5 kg ha⁻¹ pour 3000 tonnes de sol par hectare) et la radioactivité par échantillon de 1667 Bq. Le volume d'eau ajouté a été calculé pour obtenir 100% de la capacité de rétention en tenant compte de l'apport de la solution d'herbicide. Ce taux d'humidité permet une activité optimale des micro-organismes et facilite la diffusion des substrats au sein de l'échantillon. 3 répétitions par sol ont été réalisées. Chaque échantillon est placé dans un dispositif d'incubation composé d'un bocal en verre (1 litre) fermé hermétiquement par un joint de caoutchouc. Ce bocal contient : un pot de 125 ml en verre où se trouve l'échantillon de sol, un autre flacon contenant 10 ml d'eau déminéralisée et un flacon plastique contenant 5 ml de soude 0,2 N pour piéger le ¹⁴C-CO₂ issus de la respiration microbienne. Le flacon contenant de l'eau permet la saturation de l'atmosphère du bocal en vapeur d'eau, ceci afin de minimiser l'évaporation de l'eau de l'échantillon de sol. L'aération des systèmes d'incubation se fait au moment des changements des pièges à soude. Les échantillons sont ensuite placés en incubation à l'obscurité dans une salle à température régulée à 20°C (± 0,5°C). Le ¹⁴C-carbonate présent dans la fiole de soude est mesuré par un compteur à scintillation liquide (1900TR-Tri-Carb, Packard).

1.4 Traitement mathématique des données - Modélisation

Nous avons choisi le modèle cinétique de Gompertz dont l'adéquation à des cinétiques de minéralisation a déjà été démontré (Soulas, 1993). Le modèle utilisé dérive du modèle de Gompertz (Figure 1) par ajout d'un terme linéaire de minéralisation qui prend en compte le turnover du ¹⁴C-carbone de la biomasse. L'équation de ce modèle est alors :

$$CO_2 = p. \exp[-\exp(-k(t-t_i))] + c.t$$

p = le pourcentage maximum de minéralisation

k = la constante de vitesse de minéralisation

t = le temps

t_i = l'abscisse du point d'inflexion

c = le pourcentage de minéralisation du carbone microbien par unité de temps

Pour le traitement des données et l'obtention des paramètres, nous avons utilisé le logiciel Sigmaplot © de la société SPSS Inc.

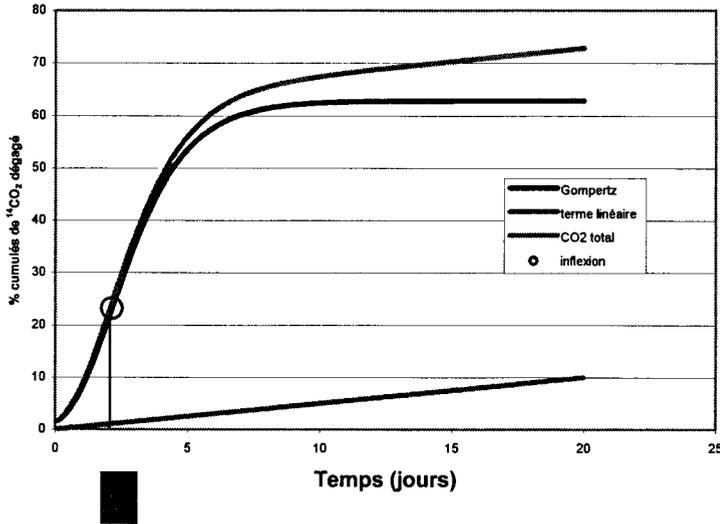


Fig. n° 1 : Modèle de Gompertz modifié par l'ajout d'un terme linéaire.

Résultats - Discussion

A partir des étalements réalisés sur milieu Nutrient Agar, nous avons estimé le nombre de cellules apportées par gramme de sol. Ainsi les concentrations théoriques 10^8 , 10^6 , 10^4 et 10^2 correspondent aux concentrations expérimentales suivantes : $4,3 \times 10^8$ cellules g^{-1} ; $6,9 \times 10^6$ cellules g^{-1} ; $5,8 \times 10^4$ cellules g^{-1} et $5,5 \times 10^2$ cellules g^{-1} . Au cours des paragraphes suivants, nous désignerons ces concentrations par les termes théoriques 10^8 , 10^6 , 10^4 et 10^2 , étant donné que les concentrations expérimentales obtenues sont du même ordre.

Sur la figure 2, nous avons représenté les cinétiques de minéralisation obtenues avec les sols de Dijon (panneau A) et La Bouzule (panneau B), pour lesquels l'apport de l'inoculum contribue à une modification significative des cinétiques de minéralisation.

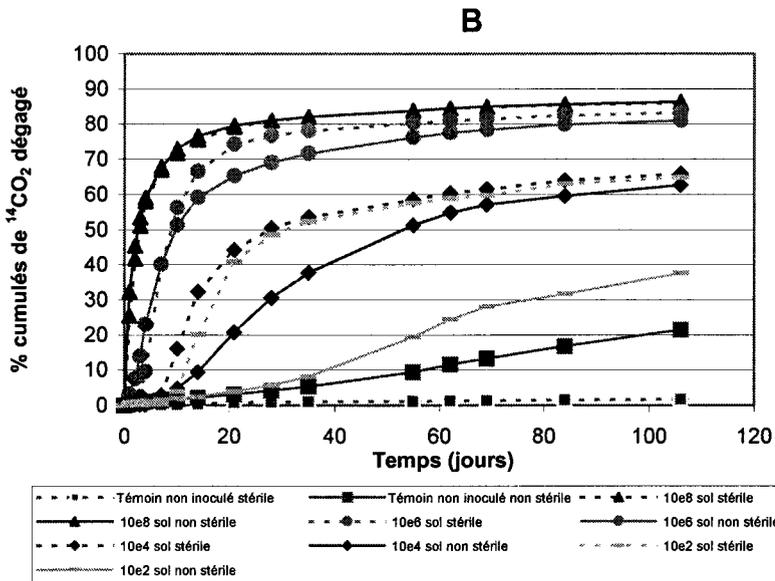
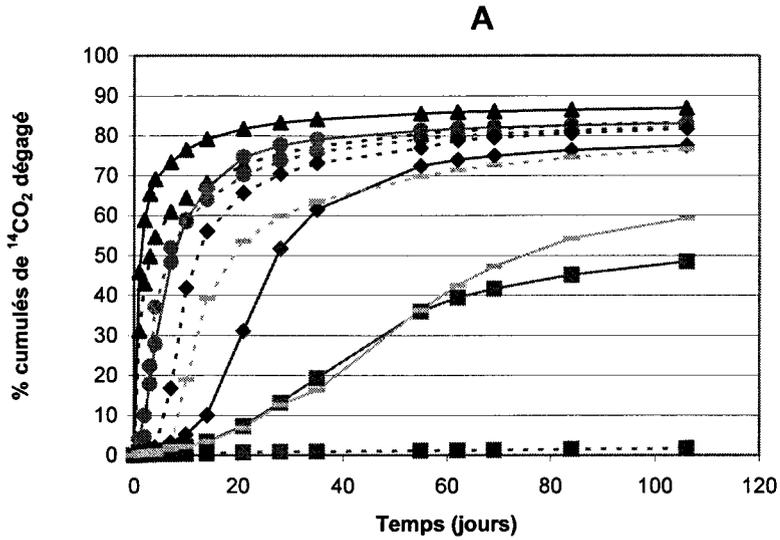
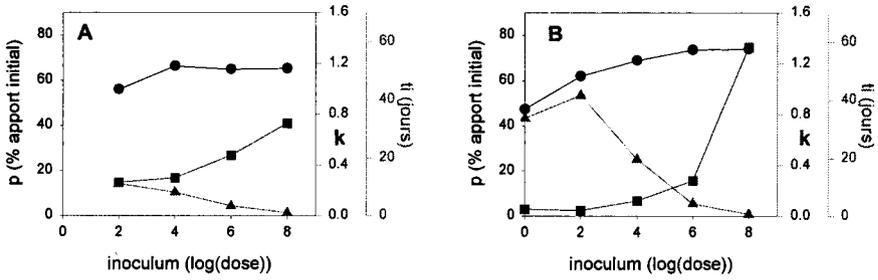


Fig. n° 2 : Courbes moyennes de minéralisation de l'atrazine (marquage cycle) pour les sols stériles et non stériles de Dijon (A) et de La Bouzule (B) inoculés avec différentes concentrations de *C. heintzii*

DIJON



Sol stérile

Sol non stérile

LA BOUZULE

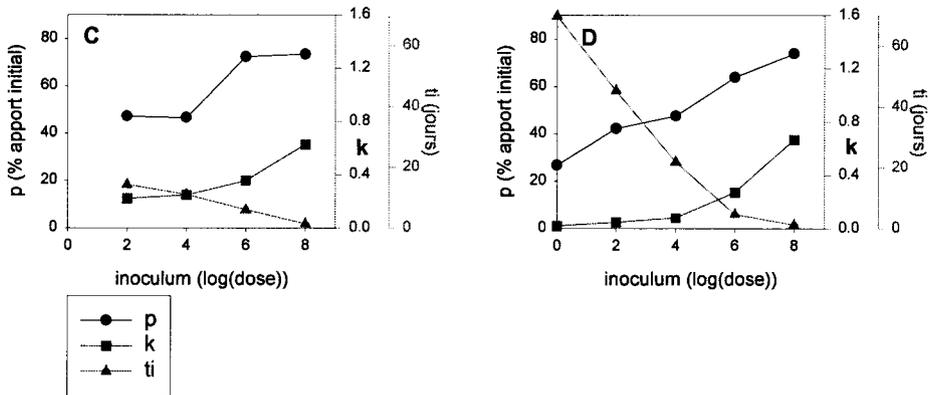


Fig. n° 3 : Variations des paramètres cinétiques (p, k et ti) en fonctions des différentes concentrations d'inoculum pour les sols stériles (A, C) et non stériles (B, D) de Dijon et de La Bouzule.

La figure 3, relative à l'évolution des paramètres cinétiques en fonction du taux d'inoculation pour les sols de Dijon et de La Bouzule, stériles ou non, montre des comportements relativement proches pour ces deux sols qui confirment les observations faites à partir des cinétiques de minéralisation. Nous observons une augmentation du pourcentage final de minéralisation plus marquée pour le sol de La Bouzule que pour celui de Dijon. Ainsi, dans le sol de La Bouzule, le passage d'un taux d'inoculation de 10^4 à 10^6 entraîne une augmentation de la vitesse de minéralisation qui permet un gain de l'ordre de 20% dans la quantité totale d'atrazine minéralisée. Tous les taux d'inoculation en sol non stérile, excepté le

plus faible, contribuent à une augmentation significative de la vitesse de minéralisation, très faible dans le sol non inoculé. Ceci tient au fait que dans les sols de Dijon et La Bouzule, la population dégradante naturelle exerce une pression compétitive moins forte qui permet aux souches importées de s'implanter plus durablement et de s'exprimer dès lors que la densité cellulaire dépasse 10^4 .

Conclusion

Les conclusions de cette étude sont de plusieurs ordres. L'inoculation de *C. heintzii* Cit1 dans des sols où la minéralisation de l'atrazine est inférieure à 50% en 100 jours, permet une augmentation de la vitesse et du taux de minéralisation pouvant aller jusqu'à plus de 50% par rapport au témoin non inoculé. En fait, l'atrazine présente dans le sol est une source d'énergie potentielle pour les bactéries capables de la minéraliser. Or dans les sols faiblement ou non adaptés, les bactéries dégradantes ne sont ni en nombre ni à un niveau d'activité suffisants pour opposer une compétition efficace à l'égard de l'espèce introduite. Ainsi, l'atrazine est utilisée comme ressource nutritive principalement par l'inoculum sans qu'il soit nécessaire d'utiliser des concentrations massives d'inoculum pour obtenir une augmentation du taux de minéralisation.

Afin de confirmer ces premiers résultats, nous envisageons une étude du suivi de la survie de l'inoculum dans des sols faiblement adaptés à la dégradation de l'atrazine, afin d'estimer le nombre de cellules viables et d'optimiser l'inoculation. L'extension de ce type d'étude à d'autres couples sols-inoculum, nous permettrait d'optimiser les essais de bioremédiation par une meilleure connaissance des constitutions et caractéristiques du milieu qui permettent l'implantation optimum de la souche introduite.

Références bibliographiques

- Anderson T.A., Kruger E.L. and Coats J.R. (1994) Enhanced degradation of a mixture of three herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant. *Chemosphere*, 28 : 1551-1557.
- Barriuso E. and Houot S. (1996) Rapid mineralization of s-triazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. *Soil Biol. Biochem.*, 28 : 1341-1348.
- Newcombe D.A. and Crowley D.E. (1999) Bioremediation of atrazine contaminated soil by repeated applications of atrazine-degrading bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 51 : 877-882.
- Pussemier L., Goux S., Vanderheyden V., Debongnie P., Tresinie I. and Foucart G. (1997) Rapid dissipation of atrazine in soils taken from various maize fields. *Weed research*, 37 : 171-179.
- Rousseaux S., Hartmann A. and Soulas G. Isolation and characterization of new Gram negative and Gram positive atrazine degrading bacteria from different French soils. *in press FEMS*.

- Seiler A., Brenneisen P. and Green D.H. (1992) Benefits and risks of plant protection products-possibilities of protecting drinking water : case of atrazine. *Water Supply* 10, 31-42.
- Soulas G. (1993) Evidence for the existence of different physiological groups in the microbial community responsible for 2,4-D mineralization in soil. *Soil Biol., Biochem.*, 4 : 443-449.
- Topp E., Tessier L. and Gregorich E.G. (1996) Dairy manure incorporation stimulates rapid atrazine mineralization in an agricultural soil. *Can. J. Soil Sci.*, 76 : 403-409.
- Wenk M., Bourgeois M., Allen J. and Stucki G. (1997) Effects of atrazine-mineralizing microorganisms on weed growth in atrazine treated soils. *J. Agric. Food Chem.*, 45 : 4474-4480.
- Yanze-Kontchou C. and Gschwind N. (1995) Mineralization of the herbicide atrazine in soil inoculated with a *Pseudomonas* strain. *J Agric. Food. Chem.*, 43 : 2291-2294.
- Yassir A., Rieu C. and Soulas G. (1998) Microbial N-dealkylation of atrazine : effect of exogenous organic substrates and behaviour of the soil microflora. *Pest. Sci.*, 54 : 75-82.

Transport de pesticides en milieu alluvial

Pesticide transport in an alluvial plain

Kirsten Meiwirth, Prof. A. Mermoud
Institute of Soil and Water Management (IATE/HYDRAM)
Swiss Federal Institute of Technology Lausanne (EPFL)
CH - 1015 Lausanne
Tel : ++41 21 693 3727 Fax : ++41 21 693 3739
e-mail : kirsten.meiwirth@epfl.ch

2 mai 2001

Résumé : Le transport de pesticides dans le sol dépend des aspects météorologiques, des propriétés de la substance considérée et des caractéristiques du sol. Afin de quantifier les réactions et les flux, des modèles numériques sont fréquemment utilisés. Les expérimentations de transport fourniront des données pour tester, évaluer et valider de tels modèles. Les simulations ultérieures serviront à expliquer les différentes concentrations de pesticides observées dans l'aquifère et de définir les scénarios les mieux appropriés à la sauvegarde de la qualité de la nappe souterraine.

Abstract : *The pesticide transport through the vadose zone depends on meteorological aspects, properties of the observed substances, and soil characteristics. Numerical model are used to quantify the complex reactions and flow mechanisms. The transport experiments with pesticides will supply data for the calibration and validation of such a model. Simulations will then serve to explain the pesticide concentrations observed in a regional aquifer and to predict the fate of agrochemicals for different scenarios.*

Mots clés : pesticide, caractéristiques du sol, expérimentations de transport, modèle numérique

Key words: *pesticides, soil properties, transport experiments, numerical model*

1. Objectives

Detailed field monitoring, laboratory experimentations, and modeling techniques are used to quantify the pesticide transport to and in an aquifer.

The groundwater quality depends on the physical, chemical, and biological processes in the upper soil layers and the deeper vadose zone. Groundwater quality studies require a multidisciplinary approach. The local pesticide findings are to be correlated to the geological and hydrogeological aspects of the unsaturated zone, and to the usage and farming practices.

Our study is part of the European project PEGASE "Pesticides in European Groundwaters: detailed study of representative Aquifers and Simulation of possible

Evolution scenarios". Within this collaboration 6 field sites are monitored and modeling tools linking root zone and aquifer models are developed and applied to the characterized sites.

The upper Rhone Valley is one of the aquifers that will be examined over a two year time period. The local and seasonal changes of the pesticide concentration in the groundwater are investigated, and the findings are compared to the pesticide application (mass applied, time and method) as well as to the hydrogeological and meteorological conditions. At the same time, pesticides have been applied to small field sites and their transport from the surface to the groundwater table is observed. These data will reveal critical parameters and enable numerical modeling of the unsaturated pesticide transport.

2. The observation area

The observation area is situated in the upper Rhône River valley near Martigny, in the Valais canton (Southwest Switzerland). The valley is intensively cultivated with vegetable farming, fruit trees and corn; crops that are subject to pesticide application. The aquifer of the alluvial plain is of economic and ecological importance ; it supplies the farmers with irrigation water and provides the population's drinking water.

2.1 Soil and groundwater characteristics

The U-shaped valley is filled on a height of 400–500 m with detrital deposits brought by glaciers and more recently by the Rhône River and some lateral torrents. The soil consists mainly of sand and silt and in its lower part of gravel. The organic matter and the clay content are low, less than 2 and 10%, respectively.

The ~20 m thick aquifer is generally unconfined. The water table lies between 1 and 2 m below the soil surface. The water levels are 40–60 cm higher in summer than in winter. The water flows parallel to the Rhône River in a westerly direction with an average gradient of 1‰. The local water flow, piezometric heights, and groundwater chemistry are influenced by inflow from and drainage to surface waters (Rhône River, runoff from the nearby mountains, channels and local drains). For example, the groundwater's electrical conductivity varies between 60 and 1700 $\mu\text{S}/\text{cm}$ depending on the inflow of the highly mineralised water from the slopes. The shallow groundwater table is vulnerable to the contamination by pesticides (SOUTTER 1996)⁴. Nitrate concentrations may reach up to 120 mg/l due to agricultural input (compared to the natural background of 10 mg/l).

⁴ SOUTTER M., 1996 - Prédiction Stochastique à l'Échelle Régionale des Risques de Contamination des Eaux Souterraines par des Pesticides. Lausanne, Thèse EPFL No. 1487, 100 p.

2.2 Pesticides

The Office of Environmental Protection of the Valais canton (SPE) performed groundwater analyses in July 1997 (high position of the water table). Pesticides were detected at concentrations well above the drinking water limit : Atrazine (0.017 mg/l), Isoproturon (0.420 mg/l), Terbutylazine (0.013 mg/l), Dinoseb (0.046 mg/l). During a second sampling performed in February 1998 the concentrations were below detection limit.

3. The experimental study

3.1 Monitoring of the observation area

As the pesticide concentrations change seasonally and locally over small distances (cf. 2.3), the groundwater must be analyzed over short time intervals at specific sites. Therefore, 14 stainless steel piezometers have been installed at locations that are susceptible to pollution by agrochemicals (e. g., fruit tree fields). Groundwater samples are regularly collected since May 2001 and sampling will continue for two years with a higher frequency during the months following pesticide application.

The major physical and chemical parameters of the groundwater are determined. The herbicides Atrazine, Simazine, Terbutylazine, Diuron, Isoproturon and Deethylatrazine, the main metabolite of Atrazine, are extracted by C18 cartridges and quantified by HPLC.

To relate our findings to the application intensity and frequency of the agrochemicals, the farmers will be interviewed about their pesticide application and irrigation practices.

3.2 Local field study in the unsaturated zone

A detailed field study is in progress and will reveal the fate of two pesticides between the soil surface and the groundwater table.

Four field sites are equipped with tensiometers, suction cups, and TDR probes at different depth (Fig. 2). Two pesticides (Atrazine and Isoproturon) and an inert tracer (KBr) have been applied to these sites in early May 2001. The transport of the chemicals through the vadose zone is studied under natural climatic conditions (2 sites) and under irrigation (2 sites). Therefore, soil humidity (TDRs) and pressure head (tensiometers) as well as tracer and pesticide concentration in the soil solution (suction cups) are regularly measured.

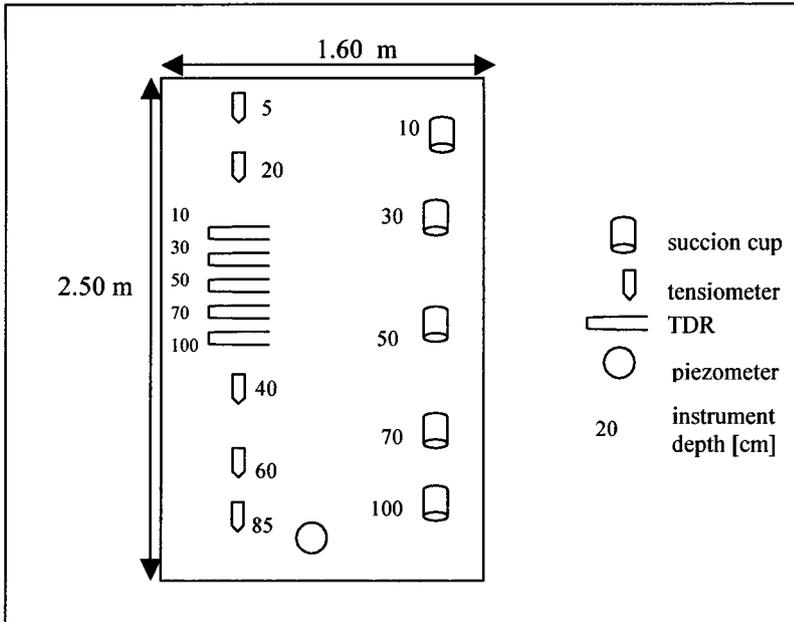


Fig. n° 2 : Scheme of an instrumented field site

The major soil properties (organic carbon content, granular composition, volumetric soil water content) were determined in the laboratory from samples taken during the installation of the instruments. A pluviograph is installed on the field whereas further meteorological data, e.g., vapor pressure, solar radiation and wind speed are accessible from a nearby meteorological station.

3.3 Modelling of the pesticide transport

The obtained data of the solute transport in the unsaturated zone will be used to evaluate and validate a root zone model. The model may subsequently be used to identify zones susceptible to groundwater contamination and to define appropriate management schemes that minimize groundwater pollution by pesticides.

Acknowledgements

We would like to thank the European Community and, for the Swiss part, the Swiss Confederation for financing this study.

La contamination des nappes superficielles par les herbicides : diagnostic et facteurs

Herbicide contamination of shallow groundwater : diagnostic and factors

Chantal Gascuel-Odoux
Jérôme Molénat

UMR Sol Agronomie de Rennes-Quimper, INRA-ENSAR
65 Route de Saint Briec CS 84215
35042 Rennes Cedex, France

Date d'envoi : 20/05/2001

Résumé : L'écoulement de nappe est une composante hydrologique majeure des bassins versants sur socle. Or peu de données existent sur la contamination de ces nappes par les pesticides. Un suivi bimensuel réalisé sur le bassin versant de Kervidy-Naizin (56), sur trois années, sur une quinzaine de piézomètres répartis le long de trois transects montre, sur l'atrazine et l'isoproturon, une contamination de la nappe : de niveau très variable dans le temps, allant de la non détection à des concentrations de quelques $\mu\text{g/l}$; de moyenne fréquence (détection dans 35% des analyses pour l'atrazine, 23% pour la déthylatrazine) ; liée à la position topographique en relation avec la profondeur de la nappe. Différents facteurs hydrologiques explicatifs de cette contamination ont été étudiés par une analyse fréquentielle de la profondeur et de l'amplitude des battements de la nappe et une analyse corrélatrice de leur relation avec des paramètres climatiques et hydro-pédologiques. La profondeur et les battements de la nappe apparaissent en première approche liés respectivement au cumul pluviométrique saisonnier et aux cumuls pluviométriques par averse.

Abstract : *Shallow groundwater flow is one of the major hydrologic component in catchments underlying by crystalline bedrock. Only few observations are available about shallow groundwater contamination by pesticides. So groundwater and stream samples were collected fortnightly for three years in the Kervidy-Naizin catchment and analyzed for atrazine and isoproturon. Groundwater contamination appears to be: highly variable in concentration (from no detection to concentrations higher than few $\mu\text{g/l}$); highly variable in time (atrazine detected in 35% of samples, déthylatrazine detected in 23%); linked to the topographic location in relation with groundwater depth. Many hydrologic factors may explain the contamination. A correlative analysis was undertaken to identify the climatic and soil variables explaining the fluctuation and depth of water table. Both variables appear to be determined by seasonal cumulative rainfall and storm rainfall.*

Mots-clés : herbicide, nappe, bassin versant, processus hydrologiques

Keywords : herbicide, shallow ground water, watershed, hydrological processes

Introduction

L'écoulement de nappe est une composante majeure des bassins versants sur socle. La nappe contribue très majoritairement au débit, tant au niveau du bilan hydrologique que de la crue. Elle est proche de la surface du sol ; elle comporte des battements importants ; elle présente des vitesses de transfert très variables selon la position topographique, assez rapides en bas de versant (Molénat, 1999 ; Gascuel-Oudoux et al., 2000). Elle peut ainsi constituer une voie potentielle de transfert des pesticides. Or peu de données existent sur l'état de contamination de ces nappes (Bouwer, 1990 ; Ifen, 1998). Quelques travaux récents révèlent des niveaux de contamination élevés et identifient la nappe comme une voie de transfert possible pour expliquer les fortes contaminations des eaux superficielles (Blanchard et Donald, 1999 ; Jaynes et al., 1999 ; Moorman et al., 1999). Ces travaux montrent ainsi que les caractéristiques hydrologiques des nappes sont importantes, plus déterminantes que les quantités appliquées pour expliquer les différences de contamination entre sites. Ces conditions sont notamment liées à la recharge à la nappe.

Nous nous attachons ici à une double démarche : faire un premier diagnostic de l'état de contamination de la nappe sur un petit bassin versant sur schiste, le bassin versant de Kervidy-Naizin (56) qui est équipé d'un réseau de piézomètres permettant un suivi de la nappe dans le temps et l'espace ; identifier les processus et les facteurs liés à la dynamique de la nappe qui sont susceptibles d'être mis en jeu dans la contamination des nappes par les pesticides.

1. Matériel et méthode

1.1 Le diagnostic sur le bassin versant de Kervidy-Naizin (56)

Le bassin versant de Kervidy-Naizin présente une pluviométrie moyenne de 909 mm. Il a fait l'objet d'études hydrogéologiques, hydrologiques, pédologiques et agronomiques depuis 1971 (Cheverry, 1998), de suivis des pesticides dans la rivière (Clément et al., 1999). Le substratum est constitué de schiste briovérien sur lequel se sont développées des altérites d'épaisseur d'ordre décimétrique assez variable dans l'espace. Les sols sont limoneux et s'organisent dans l'espace autour de deux grands systèmes : en amont, les sols sont bien drainés, très perméables, alors qu'en aval ils sont peu drainants, souvent saturés ou proches de la saturation. Du bas fond jusqu'à mi versant, la nappe reste superficielle en hiver et ne descend pas en dessous de 2 m en été. Elle est très vite mobilisable, avec des variations très marquées durant l'averse, modérées, inférieures à 1,5 m au cours de l'année. Dans le haut de versant, la nappe est au contraire plus profonde et moins réactive. Sa profondeur reste supérieure à 2 m en hiver et à 8 m en été, avec de rares fluctuations liées aux averses mais un battement annuel important, de plus de 4 m.

Un suivi bimensuel de la contamination des nappes en dehors des crues a été réalisé sur ce bassin versant (Fig. 1). Ce suivi a porté sur trois années, visant les périodes proches des traitements herbicides des cultures : trois printemps successifs (mai-août) et un hiver (janvier-avril). Il a concerné une quinzaine de piézomètres répartis le long de trois transects allant de l'amont à l'aval. Ces piézomètres crépinés sur 50 centimètres environ, sont profonds de 1 à 4 mètres et situés pour la plupart dans la nappe d'altérite. Sur ces piézomètres, les niveaux de l'eau sont mesurés en continu depuis février 1997 avec une fréquence d'acquisition de 15mn. Avant tout prélèvement, les piézomètres sont pompés jusqu'à obtenir trois fois le volume ou à les vider entièrement. Le prélèvement est effectué par aspiration à l'aide d'une seringue de 100 ml liée à un tube capillaire en PVC souple glissé dans le piézomètre. Des paramètres physico-chimiques (pH, conductivité électrique, température et potentiel d'oxydo-réduction) sont mesurés *in situ* au moment du prélèvement. Les échantillons sont conservés au réfrigérateur avant d'être analysés. En hiver, le suivi a porté sur l'isoproturon. Au printemps il a porté sur l'atrazine et ses métabolites. Des analyses par test enzymatique et chromatographie ont été effectuées.

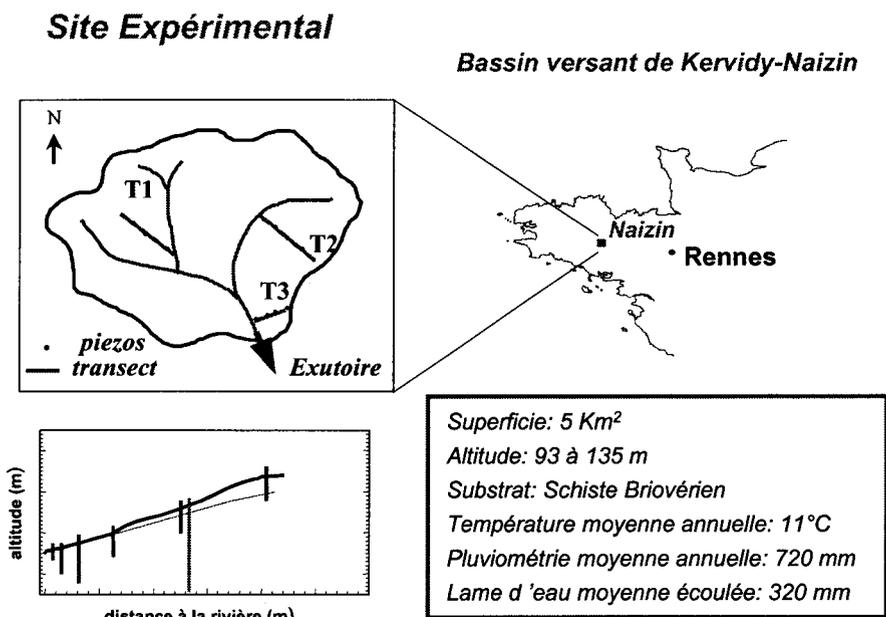


Fig. n°1 : Dispositif expérimental. Transect de Guérinieci (PG1-aval à PG6-amont)

1.2 Les facteurs de contamination des nappes superficielles

Les facteurs de contamination des nappes superficielles sont liés au mode de recharge à la nappe. Cette recharge peut se faire par différents mécanismes, les principaux étant un transfert par convection/dispersion dans la matrice du sol, par

écoulement préférentiel, ou encore par déstockage en relation avec les battements de la nappe. Nous avons porté notre attention sur ces deux derniers mécanismes, ceux-ci étant probablement les plus importants pour les pesticides.

- Les écoulements préférentiels comme mode de recharge à la nappe impliquent un court circuit de la matrice poreuse et une circulation à travers des chemins privilégiés. Ils dépendent en grande partie des caractéristiques structurales des sols et de la profondeur de la nappe. Nous avons ainsi analysé la distribution de la profondeur de la nappe à partir des données piézométriques acquises à une fréquence de 15 mn : dans le temps, en faisant une analyse fréquentielle de la position de la nappe au cours des périodes d'hiver et de printemps qui sont les périodes de traitement ; dans l'espace, de l'amont à l'aval, en comparant les résultats suivant la position topographique des piézomètres.

- Des processus de déstockage des produits accumulés comme mode de recharge à la nappe impliquent une remontée progressive des niveaux de nappe jusque dans des niveaux superficiels ou des battements importants de nappe. Cette hypothèse (flushing hypothesis) a été émise par Creed et Band (1998) pour les nitrates. Elle peut être envisagée pour les pesticides. Cette hypothèse nous a conduit à réaliser une analyse averse par averse, en cherchant des corrélations entre l'amplitude du battement de la nappe au cours de l'averse et divers facteurs climatiques et de milieu liés à l'averse : le cumul pluviométrique, la porosité disponible dans le non saturé, la profondeur de la nappe, l'intensité moyenne horaire, l'intensité maximale sur 6 mn, la durée de l'averse et un indice de pluies antécédentes calculé sur les 10 jours précédents l'averse. Ce travail a été réalisé sur 11 événements pluvieux au cours de l'hiver 99 et 17 au cours des périodes printemps-été 99. Deux événements pluvieux sont distingués dès lors qu'ils sont séparés par douze heures sans pluie supérieure à 5 mm.

2. Résultats

2.1 Le diagnostic sur le bassin versant de Kervidy-Naizin (56)

Les concentrations en herbicides sont de niveau très variables allant de la non détection à des concentrations de quelques $\mu\text{g/l}$ (Fig. 2). La contamination est de moyenne fréquence (détection dans 35% des analyses pour l'atrazine, 23% pour la dééthylatrazine et 6% pour l'isoproturon) (Tab. 1). Elles présentent une grande variabilité dans le temps, les variations de concentrations pouvant être importantes d'une date à l'autre. Cependant, plus le délai entre le traitement et les premières pluies est court, plus les concentrations sont fortes. Par exemple, après le traitement du 25/05/98, les pluies du 27 au 30/05/98 ont provoqué une augmentation des teneurs en triazines dans la nappe qui passent de 0,17 à 6,4 $\mu\text{g/l}$ au niveau de PG3 (aval) et de 0,07 à 0,35 $\mu\text{g/l}$ au niveau de PG5 (versant). Ces concentrations diminuent au cours du temps pour atteindre une valeur minimale de 0,07 $\mu\text{g/l}$ à l'amont et 0,28 $\mu\text{g/l}$ à l'aval. Les concentrations sont également très variables dans l'espace. Sur toute la période suivie, les

piézomètres de bas versant (PG3-aval) apparaissent comme les plus contaminés bien que les traitements aient été effectués sur les parcelles en amont (PG4, PG5 - versant).

La variabilité des concentrations dans le temps montre que la nappe apparaît plus comme une zone de transfert, ponctuellement contaminée, que de stockage, ce qui serait traduit par une contamination stable et pérenne. Ceci indique que les arrivées de pesticides liées à la recharge de la nappe, clairement visibles et intenses à proximité des traitements et lors de forts épisodes de pluies, peuvent subir relativement rapidement des dilutions suffisantes par des eaux non contaminées (échanges d'eaux de différentes porosités, dilution par des eaux provenant de l'amont ou de la profondeur). La variabilité des concentrations dans l'espace, liée à la position topographique, peut dépendre de la profondeur de la nappe, plus proche de la surface en bas qu'en haut de versant. Elle peut également dépendre de la convergence des écoulements de nappe en certains points du versant.

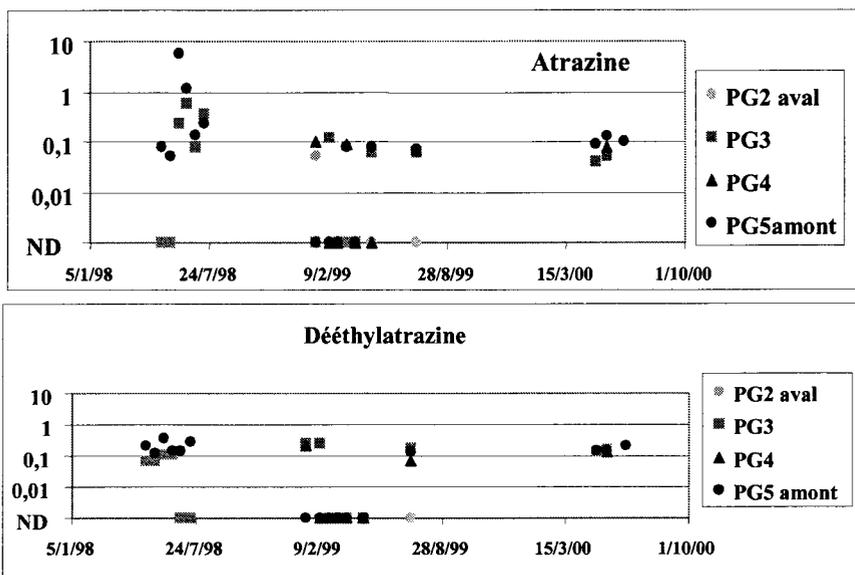


Fig. n° 2 : Variations spatiales et temporelles des concentrations des eaux de nappe sur le bassin versant de Kervidy-Naizin

Test ELISA	Printemps 98				Hiver 98-99				Printemps 99				Printemps 2000				Total			
Triazines	N0	N1	N2	Max.	N0	N1	N2	Max.	N0	N1	N2	Max.	N0	N1	N2	Max.	N0	N1	N2	Max.
Rivière	0	-	-	-	0	-	-	-	6	6	2	0,72	10	10	3	0,86	16	16	5	0,72
Piézomètre	68	56	40	2.44	0	-	-	-	24	24	9	0.16	41	37	3	0.15	133	117	52	2.44

Chromato.	Printemps 98				Hiver 98-99				Printemps 99				Printemps 2000				Total			
Rivière	N0	N1	N2	Max.	N0	N1	N2	Max.	N0	N1	N2	Max.	N0	N1	N2	Max.	N0	N1	N2	Max.
Atrazine	6	3	3	4.20	13	4	2	0.20	1	-	-	-	0	-	-	-	20	7	5	4,2
DEA	6	6	5	0.28	13	3	3	0.40	1	1	1	0.1	0	-	-	-	20	10	9	0,4
Isoproturon	0	-	-	-	13	0	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	13	-	-	-

Piézomètre	N0	N1	N2	Max.																
Atrazine	12	10	7	5.80	53	11	2	0.07	4	3	0	0.07	12	12	2	0.13	69	24	9	5.80
DEA	12	10	8	0.37	53	4	4	0.26	4	2	2	0.18	12	10	5	0.18	69	16	14	0.37
Isoproturon	0	-	-	-	53	4	3	2.00	0	-	-	-	0	-	-	-	53	4	3	2.00

Tableau n° 1 : Bilan des suivis des herbicides dans les eaux de nappe sur le bassin versant de Kervidy-Naizin. N0, N1, N2 respectivement, nombre d'analyses, de détection, de valeurs supérieures à 0,1µg/l

Le pas de temps de prélèvement non asservi aux épisodes de pluies et le faible nombre de prélèvements ne permettent pas de rechercher statistiquement des relations entre les composantes hydrologiques et les concentrations observées.

2.2 L'analyse des facteurs potentiels de la contamination sur le bassin versant de Kervidy-Naizin (56)

2.2.1 Les variations saisonnières de la profondeur de la nappe

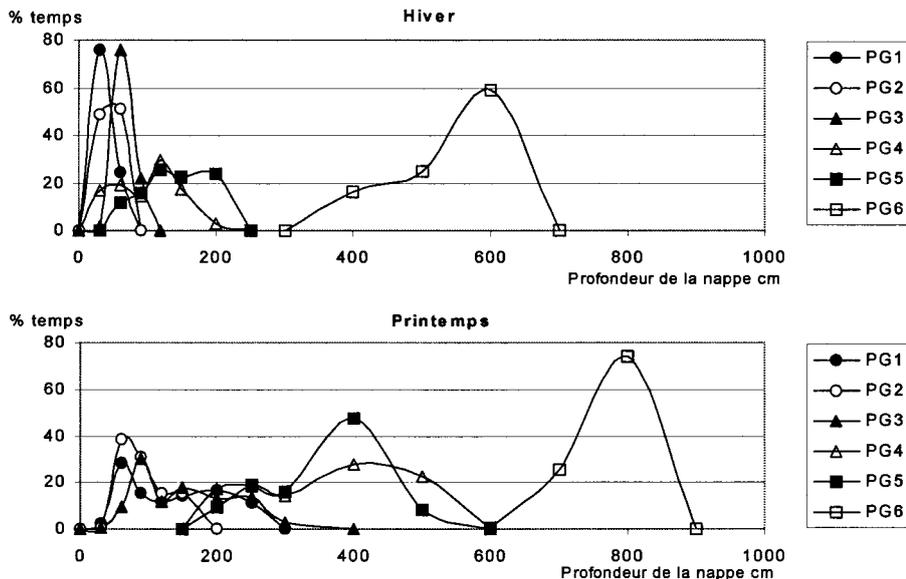


Fig n° 3 : Position de la nappe en fonction du temps. PG1, aval ; PG6 amont

La nappe est très superficielle jusqu'à mi-versant (PG1 à 3), à moins de 60 cm de profondeur, tant en hiver qu'au printemps. Dans le versant (PG4, PG5), elle est à moins de 1,2 m à 80% du temps en hiver, donc relativement proche de la surface, alors qu'elle se situe de plus en plus en profondeur au cours du printemps. Elle n'est profonde en hiver et au printemps qu'en haut de versant. L'amplitude de fluctuation saisonnière, définie comme la différence entre la profondeur maximale et minimale au cours de la saison varie selon les saisons. En hiver, elle est de l'ordre de 60 cm dans le bas fond, 2 m sur le versant et 6,5 m sur le plateau. Au cours du printemps, elle s'élargit dans le bas fond (1,2 m) et diminue vers l'amont (2 à 3 m sur le versant, 3 m au niveau du plateau). Pendant l'été la tendance s'inverse. L'amplitude de variation saisonnière de la nappe devient maximale dans le bas fond (2,2 m) et minimale sur le versant (2 à 1,5 m) et le plateau (1 à 2 m). Ces variations spatiales et temporelles de la profondeur de nappe traduisent des risques de contamination de la nappe variable dans le temps. La période du printemps est une période charnière au cours de laquelle la position de la nappe varie fortement dans le versant. La date et le lieu des traitements de printemps, en relation avec la variation spatiale et temporelle de la nappe apparaît ainsi un facteur clé de la contamination des nappes.

2.2 2 Les variations événementielles de la profondeur de la nappe

En hiver, la nappe réagit à toutes les pluies : l'amplitude de fluctuation de la nappe lors d'un épisode de pluie est plus importante dans le domaine amont (PG4 à PG6), où elle peut atteindre jusqu'à 1,5 m, que dans le domaine aval (PG1 à PG3), où elle reste inférieure à 50 cm. Au printemps, dans le domaine aval comme dans le domaine amont, la nappe ne réagit qu'à partir d'un seuil de pluie, seuil relativement faible en aval, plus fort en amont. L'amplitude des fluctuations devient de plus en plus faible lorsqu'on s'éloigne de l'hiver, celle-ci étant de l'ordre de la dizaine de centimètre seulement en été pour les pluies les plus fortes.

Les facteurs qui semblent contrôler la réponse de la nappe sont le cumul, l'intensité moyenne horaire et la durée de la pluie. Les corrélations montrent que le cumul de la pluie apparaît comme le facteur le plus déterminant sur la réponse de la nappe. L'intensité moyenne de la pluie et la durée interviennent de façon relativement faible par rapport au cumul de la pluie, ces facteurs étant eux-mêmes partiellement corrélés au cumul de la pluie. Selon les saisons, ces facteurs interviennent différemment. L'indice des pluies antécédentes intervient de façon négligeable en hiver, positivement au printemps.

Conclusion

La compréhension des mécanismes de transfert de l'eau et des pesticides à l'échelle du bassin versant élémentaire est un enjeu fondamental en hydrologie, avec des implications très pratiques, notamment pour comprendre l'origine des pollutions agricoles diffuses et identifier les stratégies adéquates pour améliorer la qualité des eaux. Les données acquises sur la contamination de la nappe par les

pesticides indiquent que la nappe peut jouer un rôle majeur dans certaines conditions temporelles et spatiales, correspondant au domaine de bas de versant et à des événements climatiques proches des traitements et à forts cumuls pluviométriques. Les concentrations en pesticides de la nappe peuvent alors être notables. Même dans ces conditions, elles sont bien inférieures aux gammes de valeurs observées dans la rivière, et plus encore, dans le ruissellement de surface. Hormis ces conditions, la contamination reste faible mais néanmoins non négligeable. La nappe peut ainsi véhiculer les pesticides dans certaines conditions, mais elle aussi est susceptible de subir des dilutions de divers ordres, les concentrations étant très variables dans le temps et dans l'espace.

Sans que l'on puisse statistiquement l'établir du fait de l'insuffisance des données au regard de la variabilité des conditions agronomiques, climatiques et hydrologique de terrain, les facteurs contrôlant les contaminations de la nappe dans les bassins versant sur socle semblent liés :

- à l'occupation des sols, induisant une possible synchronisation des traitements sur l'ensemble du versant et donc à une recharge à la nappe également synchrone lors des épisodes de pluie importants, conduisant de fait à des concentrations et des flux tels plus difficilement dilués par d'autres eaux.
- à la profondeur de la nappe fortement corrélée avec la position topographique dans le versant. Les indices topographiques bien corrélés avec les profondeurs de nappe jusqu'à mi-versant peuvent constituer à ce titre des indicateurs intéressants. Cependant il reste beaucoup d'incertitude quant à la limite amont de ce domaine, très différent d'un transect à l'autre, moins lié à l'indice topographique qu'à la nature et aux propriétés des altérations et des substrats. Les calendriers des apports de pesticides pourraient être ainsi mieux adaptés à la proximité des la nappe.
- à une dynamique climatique pour laquelle le cumul pluviométrique de la saison (profondeur de la nappe) et de la pluie impliquée (réactivité de la nappe) semble les facteurs de premier ordre, par rapport à d'autres facteurs testés (intensité pluviométrique, pluie antécédente,...), ces facteurs jouant sur les fluctuations de la nappe aux cours des événements de pluie, et ainsi sur la recharge à la nappe par déstockage des pesticides.

Ce travail montre que, dans les bassins versant sur socle, la nappe constitue une voie de transfert des herbicides, les portions basses des versants et les versants traités de manière homogène pouvant participer de manière notable à la contamination des eaux superficielles. Ces premiers travaux ne constituent qu'une première réflexion qui doit être encore approfondie.

Bibliographie

- Blanchard P.E., Donald, W.W., 1997, Herbicide Contamination of Groundwater Beneath Claypan Soils in North-Central Missouri. *J. Environ. Qual.*, 26, 1612-1621.
- Bouwer H., 1990, Agricultural chemicals and ground water quality. *J. Soils and Water Conservy.* 42 (2), 184-189.
- Clément M., Cann C., Seux R. et Bordenave P., 1999, *Facteurs de transfert vers les eaux de surface de quelques phytosanitaires dans le contexte agricole breton*. Merceron M., Acte de colloques, 24. IFREMER St Brieuc. 141-156p.
- Creed I.F., Band, L.E., 1998, Exploring functional similarity in the export of nitrate-N from forested catchments : A mechanistic modeling approach. *Water Res. Res.*, 34, 3079-3093.
- Gascuel-Oudoux C., Gruau G., Molénat J., Olivie-Lauquet G., Curmi P., Davy P., Dia A., Durand P., Grimaldi C., Riou C. 2000, *Rôle des nappes sur les transferts d'eau et de solutés dans les bassins versants : approche expérimentale et modélisation*. Colloque PNRH, Toulouse, 16-17 Mai, 261-266
- Ifen, 1998. *Les pesticides dans les eaux*. Collecte et traitement des données. 187p.
- Jaynes D.B., Hatfield J.L. Meek D.W., 1999, Water Quality in Walnut Creek Watershed : Herbicides and Nitrate in Surface Waters. *J. Environ. Qual.* 28 : 45-59.
- Molénat J., 1999, Modélisation hydrologique : application à l'évaluation des flux de nitrates à l'exécutoire d'un petit bassin versant. Thèse Université de Rennes.
- Moorman T.B., Jaynes D.B., Cambardella C.A., Hatfield J.L., Pfeiffer R.L., Morrow A.J., 1999, Water Quality in Walnut Creek Watershed : Herbicides in Soils, Subsurface Drainage, and Groundwater. *J. Environ. Qual.*, 28, 35-45.

Etude de la destruction des pesticides par le procédé Fenton sono-électrochimiquement assisté

Study of the destruction of pesticides by sono-electrochemically assisted Fenton's process

Stéphanie Pérocheau^a, Jean-Luc Laborde^b, Stéphane Trevin^b, Mehmet. A. Oturan^a

^a Laboratoire des Géomatériaux, Université de Marne la Vallée, 5 boulevard Descartes, Champs sur Marne, 77454 Marne la Vallée Cedex 2.

^b EDF, Division Recherche et Développement, Site des Renardières, Route de Sens - Ecuelles, 77818 Moret sur Loing Cedex.

Résumé : Afin d'éliminer des polluants organiques en solution aqueuse, de nombreuses méthodes sont déjà utilisées ou étudiées. Parmi elles, les procédés d'oxydation avancés (POA) sont particulièrement intéressants. Dans ce travail nous avons étudié le couplage de deux techniques POA développées au cours de ces dernières années : *électro-Fenton* et *ultrasons* (sono-électro-Fenton) pour la dégradation de deux pesticides de structure différente : le 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique) et le DNOC (4,6-dinitro orthocrésol).

Dans nos conditions, le procédé électro-Fenton conduit à une destruction rapide et totale des deux molécules ainsi que leurs produits de dégradation. Les ultrasons basse fréquence conduisent à une dégradation lente, alors que les ultrasons haute fréquence n'ont aucun effet observable.

Le couplage de ces deux techniques ayant des modes d'action différents, nous a permis d'obtenir une synergie intéressante. La vitesse de dégradation observée est supérieure à celle obtenue par la somme des deux techniques prises séparément. Le procédé sono-électro-Fenton semble donc particulièrement intéressant pour la dégradation des pesticides et écologiquement favorable puisqu'il ne nécessite qu'un très faible apport extérieur (quantité catalytique) de réactif chimique.

Abstract : To eliminate the organic pollutants in aqueous solution, many methods are already used or studied. Among them, the advanced oxidation processes (AOP) are particularly interesting. In this work we studied the coupling between two techniques AOP developed during these last years: *electro-Fenton* + *ultrasounds* (sono-electro-Fenton) for the degradation of two pesticides of different structure: the 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) and the DNOC (4,6-dinitro orthocresol). Under our experimental conditions, the electro-Fenton process led to a fast and total destruction of the two molecules, as well as their breakdown products. The ultrasounds low frequency lead to a slow degradation, whereas the ultrasounds high frequency do not have any observable effect. The coupling of these two techniques having different modes of action, permits us to obtain an interesting synergy. The rate of degradation observed, in case of coupling, is higher than that obtained by the sum of the two techniques taken separately. The sono-electro-Fenton process seems particularly interesting for the degradation of pesticides and ecologically favorable since it requires only a catalytic quantity of chemical reagent.

Mots clés : électro-Fenton, ultrasons, sonolyse, radicaux hydroxyles, 2,4-D, DNOC

Key words: *electro-Fenton, ultrasounds, sonolysis, hydroxyl radicals, 2,4-D, DNOC.*

1. Introduction

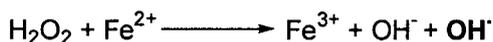
Afin d'éliminer des pesticides en solution, de nombreuses méthodes sont déjà utilisées ou étudiées. Parmi elles, les procédés d'oxydation avancés (AOP) sont particulièrement intéressants et peuvent être classés en trois catégories (Chiron 2000) :

- les procédés photochimiques couplés avec des réactifs chimiques précurseurs de radicaux hydroxyles (H_2O_2 , $H_2O_2/Fe(II)$, TiO_2)
- les procédés d'ozonation
- les nouvelles techniques basées sur la production *in situ* de radicaux hydroxyles oxydants.

Quelle que soit la méthode employée, celle-ci doit conduire à une dégradation rapide des polluants, tout en évitant la formation de nouvelles espèces toxiques ou difficiles à éliminer. L'objectif final est d'arriver à la minéralisation totale des espèces organiques, en utilisant un minimum de réactifs chimiques et au plus faible coût possible.

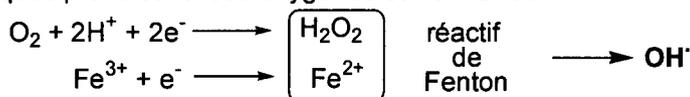
L'objectif de cette étude est de réaliser le couplage entre deux AOP qui ont été développés au cours de ces dernières années : électro-Fenton et ultrasons. Les deux techniques ayant des modes d'action différents, nous les avons ensuite associées, afin de voir si une synergie pouvait être obtenue. Elles ont la particularité de nécessiter très peu (quantité catalytique) ou pas de réactifs chimiques.

Le procédé électro-Fenton repose sur la formation de radicaux hydroxyles (OH^\bullet) par réaction du peroxyde d'hydrogène avec les ions ferreux :



Les radicaux hydroxyles formés sont très réactifs et vont réagir avec les composés organiques pour les oxyder jusqu'à leur minéralisation totale (Oturán M. A., 2000).

L'électrochimie permet de générer *in situ* le réactif de fenton (mélange de l'eau oxygénée et l'ion ferreux) d'une manière catalytique, continue et contrôlée (Oturán M. A., 1999, 2001; Brillas E., 2000). En effet, l'application d'un faible potentiel cathodique (-0.25 V/ENH) permet la réalisation simultanée des deux réactions électrochimiques produisant l'eau oxygénée et l'ion ferreux :



La solution est initialement saturée d'oxygène par barbotage de l'air. Une quantité catalytique de sulfate ferrique est introduite avant de démarrer l'électrolyse.

Depuis quelques années, de nombreuses études ont été menées sur la dégradation par les ultrasons de polluants organiques présents en solution aqueuse. (David B., 1998; Petrier C, 1997). Cette dégradation se produit principalement par deux types de réactions : la pyrolyse dans les bulles de cavitation et l'oxydation par les radicaux OH° formés lors de la sonolyse de l'eau :



L'irradiation d'une solution aqueuse par des ultrasons provoque la formation puis la compression rapide de bulles de cavitation. La disparition de ces bulles induit différents effets qui sont de deux natures : 1°) des phénomènes physiques, avec micro-mélange de la solution et amélioration du transfert de matière (Henglein A., 1995), 2°) des phénomènes chimiques, avec l'apparition de température et de pression très élevées (Hot Spot) lors de la compression des bulles et la génération d'espèces oxydantes comme les radicaux oxygénés (OH°, HO₂°). La fréquence des ultrasons utilisée peut favoriser l'une ou l'autre voie. (Trabelsi F., 1996).

2. Matériels et Méthode

Deux pesticides de structure différente; le 2,4-D (acide 2,4-dichlorophenoxyacétique) et le DNOC (4,6-dinitro-orthocrésol) et un colorant azoïque (azobenzène, AB) ont été choisis comme molécules modèles pour l'étude. Dans toutes les expériences, les solutions sont préparées avec de l'eau pure, par dissolution d'une quantité de substrat de manière à obtenir une concentration égale ou inférieure à 1 mM. Les solutions sont ensuite acidifiées par H₂SO₄ pour ajuster le pH à 3. Elles sont ensuite saturées en oxygène par barbotage de l'air. Une quantité catalytique d'ions Fe³⁺ sous forme Fe₂(SO₄)₃ · 6H₂O est introduite dans la solution.

Les expériences sont réalisées dans cellule en verre de 20 cm de haut et de 8 cm de diamètre. Les trois électrodes sont immergées dans la solution à traiter (cellule non divisée). Electrode de travail (cathode) est constituée d'un feutre de carbone. Une électrode calomel saturé est utilisée comme référence. Un potentiostat/galvanostat (modèle 273A, Princeton Applied Research) est utilisé pour effectuer l'électrolyse à potentiel contrôlé.

Dans le cas des ultrasons, la cellule utilisée est identique à celle utilisée pour l'électrolyse. La céramique qui produit les ultrasons est placée sous la base de la cellule. Un transducteur permet de transmettre les ultrasons à la solution. Les solutions sont soumises à l'irradiation ultrasonique haute fréquence (460 et 465 kHz) et basse fréquence (≈28 kHz), avec des puissances de 20, 60 et 80 watts.

Dans le cas de couplage des deux techniques (sono-électro-Fenton), La solution étudiée est soumise simultanément à l'électrolyse et irradiations ultrasoniques. La cinétique de dégradation est suivie par HPLC et comparé avec celle obtenue par chaque procédé appliqué distinctement.

3. Résultats et Discussion

3.1 Electrolyse seule

Les électrolyses sont réalisées à température ambiante (20-24°C), pour une charge totale correspondant à la dégradation totale du pesticide contenu dans la solution initiale. Le courant décroît rapidement au départ, puis se stabilise autour de 200 mA. Le dosage du pesticide étudié est réalisé par un HPLC-DAD au cours d'électrolyse.

Le 2,4-D (Fig. 1a) et le DNOC (Fig. 1b) sont rapidement dégradés au cours de l'électrolyse, ils sont complètement détruits au bout de passage d'une charge électrique de 1500 C.

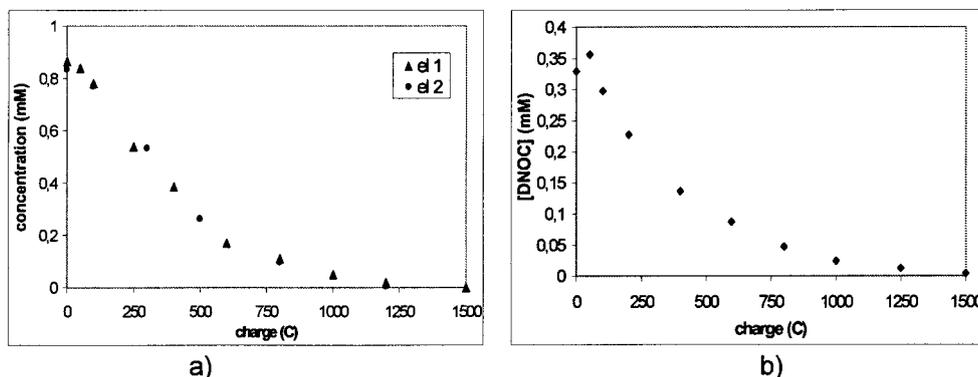


Fig. n° 1 : Variation de la concentration de a) 2,4-D ($C_0 = 0,9$ mM), b) DNOC ($C_0 = 0,4$ mM) au cours de l'électrolyse, en fonction de la charge passée.

3.2 Ultrasons seules

Les solutions sont irradiées par les ultrasons haute et basse fréquence avec différentes puissances: 20, 60 ou 80 watts. Dans le cas des ultrasons haute fréquence la dégradation on n'observe aucune dégradation au bout de 5 heures, quelle que soit la puissance utilisée. Par contre, les ultrasons basse fréquence, contrairement aux hautes fréquences, permettent une dégradation lente mais régulière du 2,4-D et du DNOC. Suivant le cas, elle atteint 25 à 37% au bout de 5 heures.

3.2 Electrolyse et Ultrasons combinés

Le dispositif expérimental est toujours le même, avec cette fois application des ultrasons en même temps que l'électrolyse. Avec des ultrasons haute fréquences, on constate que la puissance des ultrasons a cette fois une influence sur la dégradation. Si les résultats sont identiques avec 20 ou 60 watts, la dégradation est nettement plus lente avec 80 watts.

Le dispositif expérimental est toujours le même, avec cette fois application des ultrasons en même temps que l'électrolyse. Avec des ultrasons haute fréquences, on constate que la puissance des ultrasons a cette fois une influence sur la dégradation. Si les résultats sont identiques avec 20 ou 60 watts, la dégradation est nettement plus lente avec 80 watts.

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 2 pour le 2,4-D et figure 3 pour le DNOC. On observe une nette augmentation de la vitesse de dégradation par rapport à l'électrolyse seule, à haute et à basse fréquences. Puisque les ultrasons seuls (notamment à hautes fréquences) ne permettent pas d'une dégradation, on peut penser que l'amélioration observée provient plus des effets mécaniques des ultrasons (augmentation de la vitesse de diffusion au niveau de l'électrode) que des effets chimiques (production des OH°). Par contre, la vitesse de dégradation est plus faible pour l'électrolyse avec US (80W), par comparaison avec l'électrolyse seule. Il s'agit probablement d'un effet sur le dégazage de la solution qui diminuerait la concentration en O_2 au niveau de la cathode.

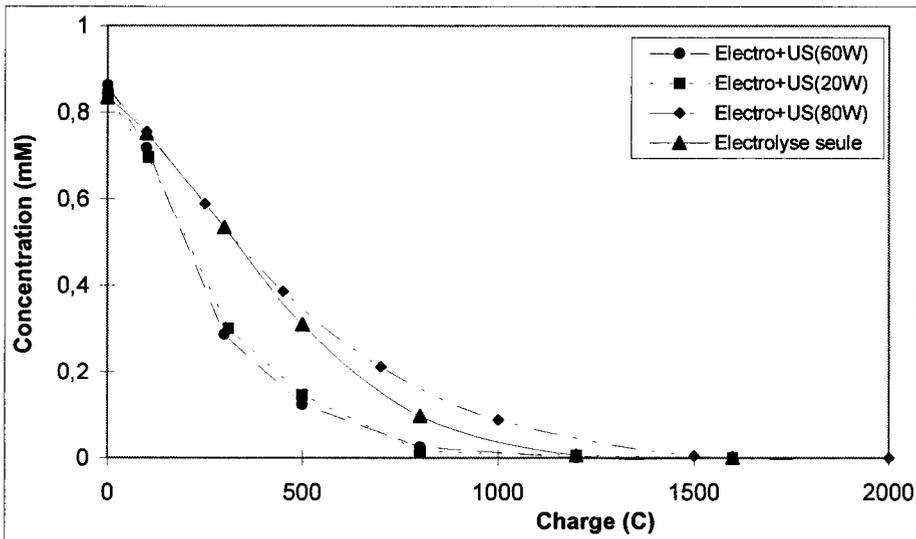


Fig. n° 2 : Evolution de la concentration du 2,4-D au cour d'électrolyse seule ou en combinaison avec des ultrasons haute fréquence.

Les résultats concernant le DNOC (figure 3) obtenus avec et sans les ultrasons, montre à nouveau une augmentation importante de la vitesse de dégradation. Il apparaît donc à nouveau une synergie intéressante entre les deux méthodes.

4. Conclusion

Les techniques électro-Fenton et ultrasons font intervenir l'action oxydante des radicaux OH^\bullet , avec des modes de production différents. Le couplage de ces deux techniques permet d'obtenir une synergie intéressante. La vitesse de dégradation obtenue par le procédé sono-électro-Fenton est supérieure à celle obtenue par la somme des deux techniques prises séparément. En effet, le procédé électro-Fenton permet d'additionner les avantages des deux techniques :

- augmentation de la vitesse de diffusion au niveau de l'électrode pour la production électrochimique du réactif de Fenton,
- production plus importante de radicaux hydroxyles grâce à la réalisation simultanée de la sonolyse et de la réaction de Fenton
- accélération de la dégradation par l'action complémentaire de l'oxydation et de la pyrolyse.

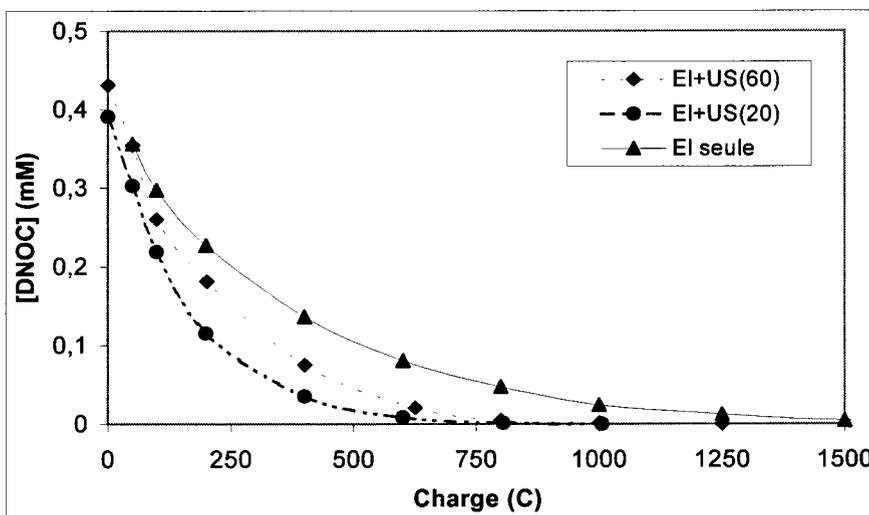


Fig. n° 3 : Dégradation du DNOC au cours d'électrolyse seule et en présence des ultrasons (sono-électro-Fenton).

Références

- Brillas E.**, Sauleda R., Casado J. "Use of an acidic Fe/O₂ cell for wastewater treatment : degradation of aniline", *J .Electrochem.Soc.*, 146(12), 4539-4543 (1999)
- Chiron S.**, Fernandez-Alba A.,Rodriguez A., Garcia-Galvo E. "Pesticide chemical oxidation : state of the art", *Wat.Res.*, 34(2), 366-377 (2000)
- David B.**, Lhote M., Faure V., Boule P. "Ultrasonic and photochemical degradation of chlorpropham and 3-chloroaniline in aqueous solution", *Wat.Res.*, 32(8), 2451-246, (1998)
- Henglein A.** "Chemical effects of continuous and pulsed ultrasound in aqueous solutions", *Ultrason.Sonochem.*, 2(2), 115-121 (1995)
- Oturan M. A.**, Aaron J. J., Oturan N., Pinson J. "Degradation of chlorophenoxyacid herbicides in aqueous media, using a novel electrochemical method", *Pestic.Sci.*, 55, 558-562 (1999)
- Oturan M. A.** "An ecologically effective water treatment technique using electrochemically generated hydroxyl radicals for in situ destruction of organic pollutants. Application to herbicide 2,4-D", *J.Appl.Electrochem.*, 30, 475-482 (2000)
- Oturan M. A.**, Oturan N., Lahitte C., Trevin S. "Production of hydroxyl radicals by electrochemically assisted Fenton's reagent. Application to the mineralisation of an organic micropollutant, pentachlorophenol" *J. Electroanal. Chem.*, (sous presse)
- Pétrier C.**, Francony A. "Ultrasonic waste-water treatment: incidence of ultrasonic frequency on the rate of phenol and carbon tetrachloride degradation", *Ultrason.Sonochem.*, 4, 295-300 (1997).

Recherche d'effets biologiques de l'atrazine sur hémocytes d'huître creuse, *Crassostrea gigas*, *in vivo* et *in vitro*

In vivo and in vitro search of biologic effects of atrazine on Pacific oyster, Crassostrea gigas, haemocytes

B. Gagnaire^{1,2}, H. Thomas-Guyon², S. Lapègue¹, K. Bouilly¹, T. Renault¹

¹Laboratoire de Génétique et Pathologie, IFREMER La Tremblade
LGP, BP 133, 17390 La Tremblade, 05-46-36-98-41

²Laboratoire de Biologie et d'Environnement Marin, La Rochelle
avenue Michel Crépeau, 17042 La Rochelle Cedex, 05-46-50-02-97

Résumé : La conchyliculture et notamment l'ostréiculture se sont beaucoup développées en France dans les dernières décennies. Le bassin de Marennes-Oléron (Charente-Maritime) est le premier bassin français producteur d'huîtres. Mais cette zone est également soumise à de nombreuses pollutions récurrentes, apportées principalement par la Charente. La recrudescence de l'utilisation d'herbicides en agriculture implique le transfert vers le milieu aquatique de nouveaux polluants dans les zones d'estuaires. L'atrazine fait partie de ces herbicides récemment introduits. Il convient de s'interroger sur ses effets néfastes sur les animaux vivant dans ces zones, tout particulièrement les huîtres. De plus, le développement de techniques permettant d'analyser l'impact d'un tel composé sur la biologie d'un bivalve pourrait aboutir à la mise en place d'outils diagnostiques adaptés au suivi du transfert de produits phytosanitaires vers les zones estuariennes.

Dans ce contexte, l'influence de l'atrazine sur les mécanismes de défense développés par l'huître japonaise, *Crassostrea gigas*, espèce essentiellement élevée dans le bassin de Marennes-Oléron, a été testée. Le polluant a été testé d'une part *in vitro* sur des hémocytes, cellules du système immunitaire, en utilisant plusieurs concentrations (2, 20 et 200 mg.L⁻¹) et différents temps de contact (4 et 24 heures). D'autre part, le même composé a également été utilisé dans des expériences *in vivo* : dans ce cas, des huîtres ont été mises en contact avec deux concentrations d'atrazine (0,01 et 0,1 mg.L⁻¹) pendant deux mois. Dans les deux types d'expériences, les hémocytes ont été analysés en cytométrie de flux ; la viabilité ainsi que différentes activités cellulaires (activité phagocytaire, recherche d'enzymes hydrolytiques, cycle cellulaire) ont été déterminées. Les résultats montrent que l'atrazine n'induit pas de mortalité chez les hémocytes dans les conditions testées *in vitro*. En revanche, les expériences menées *in vivo* ont permis de mettre en évidence un possible effet génotoxique de ce polluant (apparition de nombreuses cellules en division).

Abstract : In the last decades, shellfish farming and in particular ostreiculture have developed in a significant way in France. Marennes-Oleron (Charente-Maritime) basin is the first French producer of oysters. But this area is also subjected to many recurring pollution, brought mainly by the Charente river. The recrudescence using of herbicides in agriculture including atrazine implies the transfer towards the aquatic environment of new pollutants in estuarine areas. Moreover industrial rejections bring many heavy metals in these same estuarine areas. It is appropriate of wondering on harmful effects of all these pollutants on the animals living in these areas, particularly oysters. Bivalve molluscs have been

postulated as ideal indicator organisms because of their way of life. They filter large volumes of seawater and may therefore concentrate contaminants within their tissues. Moreover, the development of techniques allowing the analysis of the impact of such compounds on bivalve biology could lead to the installation of diagnostic tools adapted to the follow-up of the transfer of pollutants towards the estuarine areas.

In this context, the influence of atrazine on the mechanisms of defence developed by Japanese oyster, *Crassostrea gigas*, species primarily high in the basin of Marennes-Oléron, was tested. Atrazine was tested *in vitro* on the defence cells of the organism, haemocytes, with several concentrations (2, 20 and 200 mg.L⁻¹) and several times of contact (4 and 24 hours). Atrazine was also tested in *in vivo* experiments : oysters have been in contact with atrazine (0.01 and 0.1 mg.L⁻¹) for two months. In both experiments types, haemocytes were analyzed by flow cytometry; viability and cellular activities (phagocytosis activity, hydrolytic enzymes, cell cycle) were monitored. The results show that atrazine induce no mortality on the haemocytes under the conditions tested *in vitro*. But experiments carried out *in vivo* allowed us to show a possible genotoxic effect of this pollutant (increase of number of dividing cells).

Mots-clés : *Crassostrea gigas*, hémocytes, cytométrie de flux, atrazine.

Key-words : *Crassostrea gigas*, haemocytes, flow cytometry, atrazine.

Introduction

L'aquaculture fournit en France plus de 80 % des coquillages produits, mais son développement peut être limité par des mortalités parfois massives, en particulier dues à des parasites, bactéries et virus. Les fortes densités d'individus peuvent favoriser la propagation de ces agents pathogènes, de la même manière que les milieux contaminés par des xénobiotiques dans lesquels les organismes peuvent se montrer plus sensibles au développement de maladies. Face à ces dernières qui sont une limite à la rentabilité des élevages, l'étude du système immunitaire et la compréhension des capacités de défense de ces organismes sont les clés indispensables au bon développement de la conchyliculture. Chez les invertébrés, dans l'état actuel des connaissances, les mécanismes de défense sont définis comme innés.

Les mollusques bivalves sont considérés comme des organismes sentinelles dans le suivi des pollutions aquatiques. Ces organismes sont benthiques et souvent sédentaires : ce mode de vie les expose à toutes les modifications physico-chimiques de l'environnement (température, salinité, contaminants chimiques, etc) sans possibilité de fuite. Leur mode de nutrition de type suspensivore pour la majorité les conduit à accumuler dans leurs tissus des polluants à des facteurs de concentration souvent de l'ordre de 10³ à 10⁶. Cette capacité à concentrer les micropolluants a été utilisée par l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER) dans le cadre du Réseau National d'Observation de la qualité de l'eau (RNO) pour suivre les niveaux de contamination du littoral français en métaux lourds.

Les données disponibles à l'heure actuelle montrent l'altération des capacités du système immunitaire chez des mollusques bivalves exposés à des contaminants. Depuis quelques années, l'étude de la modulation du système immunitaire ou immunomodulation chez les mollusques marins est devenue l'une des voies de recherche privilégiée pour l'évaluation des effets physiologiques de facteurs environnementaux sur les capacités immunitaires (Oubella et Auffret, 1995).

Cette étude a consisté à tester l'effet d'un polluant environnemental, l'atrazine, sur le système immunitaire de l'huître creuse, *Crassostrea gigas* (Thunberg), par des mises en contact d'hémocytes avec le polluant *in vitro* et *in vivo* avec des adultes. En effet, la zone d'élevage de Marennes-Oléron reçoit les apports de rivières transportant de nombreux polluants, notamment les produits issus de l'agriculture. L'atrazine, un désherbant introduit massivement durant ces dernières années, fait partie de ces produits. Elle est principalement utilisée sur les cultures de céréales. Absorbée par les racines, elle provoque une inhibition puissante du photosystème II, maillon central de la photosynthèse chez tous les organismes autotrophes et notamment le phytoplancton.

La réponse immunitaire des huîtres creuses a été évaluée par le suivi de différentes activités enzymatiques et la mortalité des hémocytes ; l'outil de mesure choisi a été la cytométrie de flux, pour ses nombreuses possibilités d'analyses au niveau cellulaire.

1. Matériels et Méthodes

L'atrazine a été testée d'une part *in vitro* sur des hémocytes d'huître creuse, cellules du système immunitaire, en utilisant plusieurs concentrations (2, 20 et 200 mg.L⁻¹) et différents temps de contact (4 et 24 heures). D'autre part, le même composé a également été utilisé dans des expériences *in vivo* : dans ce cas, des huîtres adultes ont été mises en contact avec deux concentrations d'atrazine (0,01 et 0,1 mg.L⁻¹) pendant deux mois. Dans les deux types d'expériences, les hémocytes ont été analysés en cytométrie de flux à l'aide d'un EPICS XL (Beckman Coulter). La viabilité ainsi que différentes activités cellulaires (phagocytose, recherche d'enzymes lysosomiales (estérases, cathepsines, aminopeptidases, peroxydases), cycle cellulaire) ont été déterminées.

Afin de valider la technique, des expériences ont été réalisées *in vitro* en mettant en contact les hémocytes avec du mercure aux concentrations 0,5; 5; 50 mg.L⁻¹. Ce polluant a été choisi du fait de sa forte toxicité.

Les données ont été testées en utilisant le test de Kruskal-Wallis pour échantillons indépendants. A la suite de ce test, s'il aboutissait au rejet de H₀, le test *a posteriori* de Student-Newman-Keuls (SNK) a été utilisé pour démontrer un effet dose.

2. Résultats/Discussion

2.1 Atrazine

L'ensemble des tests statistiques montre qu'il n'y a pas d'effet dose de l'atrazine sur les propriétés immunitaires suivies des huîtres ni à 4 heures, ni à 24 heures aux doses utilisées. Les résultats des test *in vitro* sont exprimés sous forme de courbe (Figures 1 et 2).

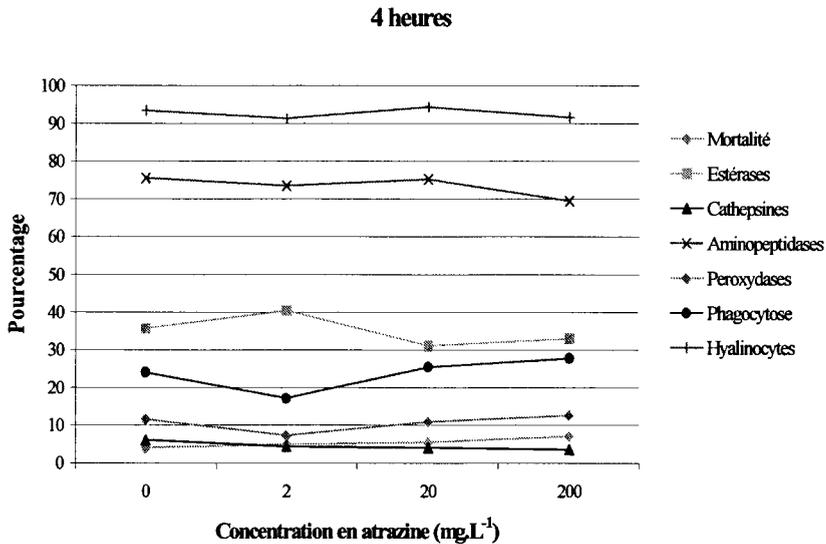


Fig. n° 1 : évolution des différents paramètres testés en cytométrie de flux en fonction des différentes concentrations d'atrazine *in vitro* (0 ; 2 ; 20 ; 200 mg.L⁻¹) à l'issue de 4 heures d'incubation. Les essais de mise en contact des hémocytes avec les polluants ont été réalisés sur trois pools différents d'hémocytes.

24 heures

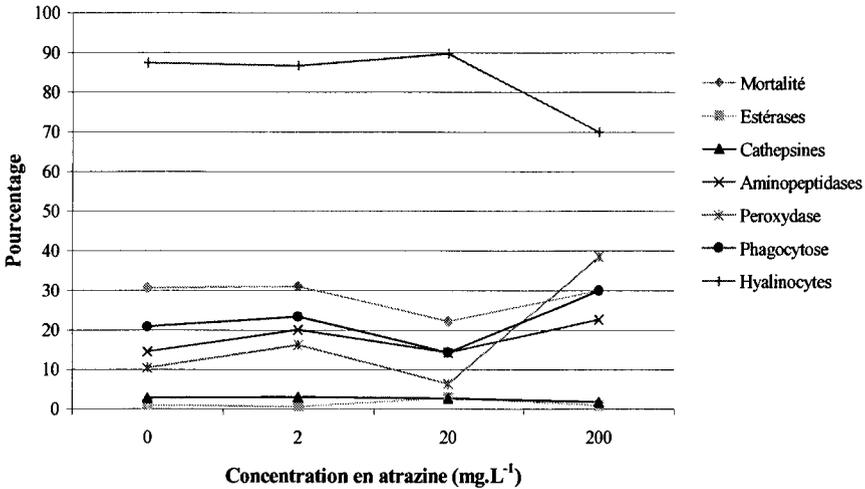


Fig. n° 2 : évolution des différents paramètres testés en cytométrie de flux en fonction des différentes concentrations d'atrazine in vitro (0 ; 2 ; 20 ; 200 mg.L⁻¹) à l'issue de 24 heures d'incubation. Les essais de mise en contact des hémocytes avec les polluants ont été réalisés sur trois pools différents d'hémocytes.

Les analyses *in vivo* ont été réalisées sur des pools de 4 individus seulement. Les tests statistiques montrent que l'atrazine ne semble avoir aucun effet sur les paramètres hémocytaires testés après un contact durant 3 semaines, à l'exception du nombre de cellules en division, qui sont les seuls résultats présentés ici.

En temps normal, les cellules 2n sont majoritaires (Tableau A). Après avoir reçu de l'atrazine pendant 3 semaines au cours de la première expérience, le nombre de cellules 4n augmente de façon significative pour le lot ayant reçu 0.1 mg.L⁻¹ d'atrazine (Tableau B). En revanche, lors de la deuxième expérience, le nombre de cellules 4n est également important dans le témoin et dans les lots ayant reçu l'atrazine (Tableau C).

Témoïn	Cycle cellulaire		
	% cellules 1n	% cellules 2n	% cellules 4n
Moyenne	11,02	79,58	9,4
Ecart-type	4,31	4,63	2,45

Tableau A : Pourcentages des différentes cellules pour les animaux témoins n'ayant reçu aucune dose d'atrazine; les cellules 2n sont majoritaires.

Expérience 1 3 semaines	Concentration en atrazine	Cycle cellulaire		
		% cellules 1n	% cellules 2n	% cellules 4n
Moyenne	0 mg.L ⁻¹	19,75	59,70	20,55
	0,01 mg.L ⁻¹	28,10	54,30	17,60
	0,1 mg.L ⁻¹	11,30	48,70	40,00
Ecart-type	0 mg.L ⁻¹	12,23	3,96	8,27
	0,01 mg.L ⁻¹	4,95	10,04	5,09
	0,1 mg.L ⁻¹	14,99	16,26	31,25

Tableau B : Pourcentages des différentes cellules pour les animaux de l'expérience 1 ayant reçu les deux concentrations d'atrazine pendant 3 semaines.

Expérience 2 3 semaines	Concentration en atrazine	Cycle cellulaire		
		% cellules 1n	% cellules 2n	% cellules 4n
Moyenne	0 mg.L ⁻¹	27,45	29,15	43,40
	0,01 mg.L ⁻¹	14,55	26,20	59,25
	0,1 mg.L ⁻¹	22,00	34,60	43,40
Ecart-type	0 mg.L ⁻¹	20,15	22,13	42,28
	0,01 mg.L ⁻¹	12,80	4,53	8,27
	0,1 mg.L ⁻¹	3,54	10,61	14,14

Tableau C : Pourcentages des différentes cellules pour les animaux de l'expérience 2 ayant reçu les deux concentrations d'atrazine pendant 3 semaines.

L'atrazine n'induit pas d'effet sur les hémocytes dans les conditions testées *in vitro*. En revanche, les expériences menées *in vivo* ont permis de détecter une variation concernant le nombre de cellules en division, ce qui permet d'envisager un possible effet génotoxique de ce phytosanitaire. Cependant ce résultat n'est pas constant, car dans l'expérience 2, un nombre élevé de cellules en division est également retrouvé en absence d'atrazine. Ceci pourrait éventuellement s'expliquer par les variations des conditions physico-chimiques du milieu liées aux fortes précipitations des derniers mois.

Les études concernant les effets de ce polluant chez les vertébrés ne sont pas nombreuses : elles ont été réalisées principalement sur des lignées de cellules de mammifères, en particulier humaines. Lioi *et al.* (1998b) utilisent des concentrations comprises entre 1 et 11 mg.L⁻¹ sur des cultures de lymphocytes humains, avec un temps d'exposition de 72 heures. Des concentrations élevées ont été utilisées dans ce travail car une réponse rapide des cellules était recherchée. En effet, aucun système de culture ne permet de maintenir ces cellules *in vitro* et elles ne conservent pas longtemps leurs propriétés une fois prélevées. De plus il n'existe pas à l'heure actuelle de lignées cellulaires de mollusques bivalves sur lesquels il aurait été possible de réaliser les essais.

Les résultats rapportés ici se rapprochent de ceux rapportés dans la littérature. Les études de Robert *et al.* (1986) et His et Seaman (1993) sur la toxicité de l'atrazine sur les jeunes stades larvaires de *Crassostrea gigas* ne montrent pas d'effet de cette molécule à ce stade du développement. L'atrazine ne semble pas avoir non plus d'effet écotoxicologique détectable chez les mollusques d'eau douce (Roses *et al.*, 1999). Les études se sont réalisées sur la génotoxicité de l'atrazine chez l'Homme et les mammifères ont montré que cette substance n'est pas un inducteur d'aneuploïdie chez l'Homme. Elle n'est pas génotoxique ni mutagène chez les mammifères (Kligerman *et al.*, 2000). En comparaison, des études similaires portant sur d'autres herbicides (glyphosate, vincozolin) ont mis en évidence un potentiel mutagène de ces substances sur des cultures de lymphocytes de bovins (Lioi *et al.*, 1998a).

L'atrazine ne semble donc pas impliquer d'effets significatifs quelque soit le niveau considéré, ce qui est rassurant pour les populations qui y ont été confrontées. Il serait néanmoins intéressant de répliquer l'expérience retranscrite ici afin d'obtenir des résultats fiables concernant les possibles augmentations du nombre de cellules en division en présence d'atrazine.

2.2 Mercure

Les tests ont permis de suivre l'effet du mercure sur la mortalité et certains paramètres immunitaires. Les courbes et l'analyse statistique permettent de montrer l'effet dose-dépendant du mercure sur la mortalité des cellules après quatre heures d'incubation (Figure 3).

Ce polluant est connu pour sa forte toxicité et sa bioaccumulation. Les études sur ce composé sont nombreuses en écotoxicologie des mammifères marins, pour qui l'accumulation du mercure est une cause importante de mortalité (Cossa et Fichet, 1999). Les résultats montrent que le mercure provoque une mortalité croissante des hémocytes avec les concentrations utilisées (0,5-5-50 mg.L⁻¹) dès 4 heures de mise en contact. Cet effet rapide a été rapporté par Cheng et Sullivan (1984) sur les hémocytes de l'huître américaine, *Crassostrea virginica* : la mortalité des hémocytes augmentait dès 2 heures de contact pour une concentration de 5 ppm. La toxicité de ce polluant est confirmée dans cette étude chez l'huître creuse avec les concentrations choisies.

Ce résultat permet de valider la méthode utilisée dans cette expérience.

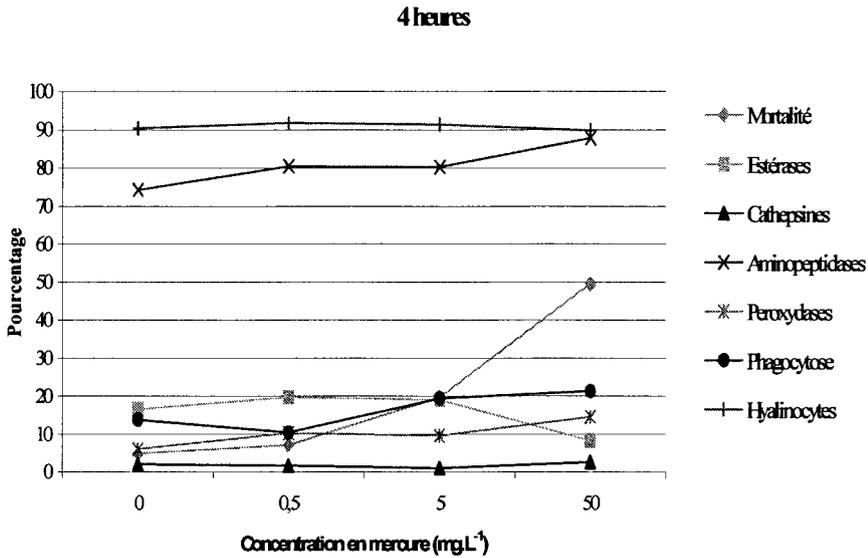


Fig. n° 3 : évolution des différents paramètres testés en cytométrie de flux en fonction des différentes concentrations mercure *in vitro* (0 ; 0.5 ; 5 ; 50 mg.L⁻¹) à l'issue de 4 heures d'incubation. Les essais de mise en contact des hémocytes avec les polluants ont été réalisés sur trois pools différents d'hémocytes.

Conclusion

Cette étude a permis de tester la sensibilité des huîtres creuses à divers micropolluants et leurs influences sur la réponse immunitaire de ces animaux. Les résultats permettent de conclure que l'atrazine ne semble pas présenter de toxicité aigüe, ni de toxicité chronique sur les hémocytes, à l'exception des cellules en division. *A contrario*, le mercure est un polluant très actif. Il serait donc intéressant de mener une expérience *in vivo* comme celle de l'atrazine avec du mercure pour étudier la toxicité chronique de ce composé.

Ce travail a permis de montrer que le développement de nouvelles techniques (cytométrie de flux) permettant l'analyse de l'impact d'un composé tel que l'atrazine sur la biologie d'un bivalve marin pourrait aboutir à la mise en place d'outils diagnostiques adaptés au suivi du transfert de produits phytosanitaires vers les zones estuariennes.

Bibliographie

CHENG, T.C., et SULLIVAN, J.T. (1984). Effects of heavy metals on phagocytosis by molluscan hemocytes. *Marine Environmental Research*, 14 : 305-315.

- COSSA, D., et FICHET, A. (1999). La dynamique du mercure. *Programme scientifique Seine-Aval*, n°11.
- HIS, E., et SEAMAN, M.N.L. (1993). Effects of twelve pesticides on larvae of oysters (*Crassostrea gigas*) and on two species of unicellular marine algae (*Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans*). *ICES C.M., Marine Environmental Quality Committee*.
- KLIGERMAN, A.D., DOERR, C.L., TENNANT, A.H., et ZUCKER, R.M. (2000). Cytogenetic studies of three triazine herbicides. I. *In vitro* studies. *Mutation Research*, 465 : 53-59.
- LIOI, M.B., SCARFI, M.R., SANTORO, A., BARBIERI, R., ZENI, O., DI BERARDINO, D., et URSINI, M.V. (1998a). Genotoxicity and oxidative stress induced by pesticide exposure in bovine lymphocyte cultures *in vitro*. *Mutation Research*, 403 : 13-20.
- LIOI, M.B., SCARFI, M.R., SANTORO, A., BARBIERI, R., ZENI, O., SALVEMINI, F., DI BERARDINO, D., et URSINI, M.V. (1998b). Cytogenetic damage and induction of pro-oxidant state in human lymphocytes exposed *in vitro* to glyphosate, vinclozolin, atrazine and DPX-E9636. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 32 : 39-46.
- OUBELLA, R., et AUFFRET, M. (1995). Immuno-modulation in populations of mollusc bivalves from the Rade de Brest. *Acte de Rencontre Scientifique Internationale (Programme Rade de Brest)*, 1 : 307-319.
- ROBERT, R., HIS, E., et MAURER, D. (1986). Toxicité d'un désherbant, l'atrazine-simazine, sur les jeunes stades larvaires de *Crassostrea gigas* et sur deux algues fourrages, *Isochrysis aff-galbana* et *Chaetoceros calcitrans*. *Haliotis*, 15 : 319-325.
- ROSES, N., POQUET, M., et MUNOZ, I. (1999). Behavioural and histological effects of atrazine on freshwater molluscs (*Physa acuta* Drap. And *Ancylus fluviatilis* Müll. Gastropoda). *Journal of Applied Toxicology*, 19 : 351-356.

Révélation d'une pollution diffuse par la tolérance induite chez les communautés de microalgues

Application de la méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance) dans une rivière contaminée par des herbicides

Detecting pollution from diffuse agriculture sources by the induced tolerance of microalgal communities

Application of the PICT-method (Pollution-Induced Community-Tolerance) in a herbicide contaminated river

Annette Bérard*, Ursula Dorigo, Jean-François Humbert, Xavier Bourrain, Nicolas Cauzzi, Jean-Claude Druart, Christophe Leboulanger
INRA, av. de Corzent 74203 Thonon cedex
Agence de l'eau Loire-Bretagne, av. de Buffon 45100 Orléans La Source
berard@thonon.inra.fr

Résumé : Dans le cadre d'une étude confiée par l'Agence de l'Eau Loire-Bretagne, notre équipe s'est intéressée aux effets de molécules herbicides sur les communautés de microalgues naturelles. Nous avons suivi la contamination en pesticides sur divers sites de la rivière Ozanne (Eure et Loir) et évalué la sensibilité des communautés de microalgues prélevées en ces mêmes sites aux deux contaminants principaux, l'atrazine et l'isoproturon. Associé à ces tests, nous avons estimé la structure de ces peuplements, pour valider les principes de la méthode PICT. Les tendances PICT sur périphyton et phytoplancton confirment les analyses de phytosanitaires : Les sites les moins pollués, présentent les communautés algales les plus sensibles à l'atrazine et à l'isoproturon, alors que les deux stations qui ont connu des concentrations très variables mais élevées en triazines et en urées substituées, sont caractérisées par des tolérances plus élevées ; ceci au cours de 5 campagnes de prélèvements. Ces différents résultats montrent le côté intégrateur des communautés algales qui gardent une tolérance acquise malgré des variations importantes en concentrations d'herbicides dans le milieu. Cette étude a montré que le PICT pouvait être appliqué avec succès sur le terrain dans le cadre de rivières contaminées par des pollutions diffuses.

Abstract : *In the frame of a study, which has been undertaken by the Water Agency Loire-Bretagne, our laboratory was interpellated to evaluate the effects of herbicides on natural communities of microalgae.*

Existing pesticide contamination on different sites of the river Ozanne (Eure and Loir) was monitored and the sensitivity to the two main pollutants, atrazine and isoproturon, of microalgae communities, collected in these sites, was evaluated. In parallel to these tests, we assessed the structure of these populations, in the aim to validate the principles of the

PICT-method. The PICT-trends enlightened on both periphyton and phytoplankton, confirmed the analysis of phytosanitary products: the less polluted the site, the more sensitive the communities with regards to atrazine and isoproturon, even though the two sites, which were submitted to highly variable but important concentrations of atrazine and isoproturon are characterized by higher tolerances; and this during 5 campaigns of sampling. These different results show the "integrative" aspect of algae communities, which keep the acquired tolerance, despite important environmental variations of the herbicide concentrations. This study illustrates that the PICT concept could be successfully applied in field in the case of diffused pollution in rivers.

Mots-clés : communautés algales, rivière, tolérance, bioévaluation

Keywords : *algae communities, river, tolerance, bioevaluation*

Introduction

Nous avons réalisé une étude sur cinq campagnes couvrant trois saisons de l'année 2000. Cette étude a abordé les effets de molécules herbicides sur les communautés de microalgues naturelles. Le système étudié, la rivière Ozanne, a été choisi en fonction d'une connaissance déjà acquise concernant les modalités de contamination par des herbicides, liées principalement aux calendriers de pratiques agricoles (FREDEC, DRAF, SRPV, 1999). L'étude a consisté d'une part en un suivi de la contamination elle-même sur divers sites de la rivière, et en l'évaluation de la sensibilité des microalgues prélevées en ces mêmes sites aux deux contaminants principaux, l'atrazine et l'isoproturon. Enfin, une estimation de la richesse (diversité) des peuplements a été réalisée, afin de mettre à l'épreuve les principes de la méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance, Blanck *et al.* 1988). Cette méthode postule qu'un toxique peut déstructurer une communauté algale en sélectionnant certaines espèces tolérantes au dépens des plus sensibles: il en résulte à la fois des changements dans la biodiversité, et dans la tolérance apparente (lors de tests écotoxicologiques à court terme) des communautés sélectionnées aux mêmes polluants. La réponse des communautés algales au toxique est non seulement variable selon la nature de celui-ci mais aussi selon les paramètres du milieu et les interactions interspécifiques associés aux saisons et aux successions. Les conséquences écologiques potentielles des phénomènes de déstructuration sont importantes, car les microalgues constituent souvent la base du fonctionnement trophique de ces écosystèmes. Enfin, la saisonnalité des réponses des communautés algales au polluant est à confronter au "calendrier" des arrivées des toxiques dans les milieux aquatiques (cas des pesticides associés aux pratiques agricoles et aux événements pluviaux). Le présent rapport s'attachera à démontrer la pertinence de l'approche PICT, couplée à des points finaux de mesure adéquats, lors d'une tentative d'évaluation a posteriori des effets d'une pollution sur une communauté biologique naturelle.

1. Matériel et méthodes

Nous avons échantillonné le phytoplancton et le périphyton d'une rivière de l'Eure-et-loir et son affluent contaminés par des herbicides d'origine agricole (triazines et urées substituées). Quatre à cinq campagnes de prélèvements et d'analyses ont été effectuées entre mai 2000 et janvier 2001, en fonction des applications saisonnières des différents pesticides dans la région agricole (FREDEC, DRAF, SRPV, 1999). Cinq sites ont été échantillonnés en fonction de leur position par rapport aux zones de pollution diffuse suspectées, et selon le cours lentique (phytoplancton) ou lotique (périphyton) de la rivière.

Des analyses de pesticides des eaux superficielles (GREPPES 2000) ont été réalisées ponctuellement sur certains des 5 sites. Nous avons utilisé la méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance, Bérard *et al.* 1998, Bérard et Benninghoff 2001) appliquée au phytoplancton et au périphyton colonisé (2 à 4 semaines selon la saison) sur substrats artificiels (pastilles de verre fritté, Nyström 1997), pour évaluer l'impact écotoxicologique de ces herbicides sur les communautés algales. Les analyses de la structure des communautés ont été réalisées au microscope inversé sur les diatomées pour le périphyton, ainsi qu'à l'aide d'outils de biologie moléculaire (ADNr 18S, PCR, clonage, séquençage, Dorigo 2001) pour le périphyton. Les tests physiologiques à court terme de dose réponse ont été réalisés avec l'atrazine et l'isoproturon, considérées dans cette étude comme molécules modèle et dominantes en concentrations des triazines et des urées substituées (FREDEC, DRAF, SRPV, 1999). Le paramètre physiologique étudié sur les communautés algales était la fluorescence *in vivo* induite (mesures au PAM et CE 50 pour le périphyton, Dorigo et Leboulanger 2001, et au fluorimètre Turner et CE 125 pour le phytoplancton, Nyström *et al.* 2001).

2. Résultats discussion

Fig. n° 1 : résultats d'analyses de triazines et d'urées substituées ($\mu\text{g/l}$) de l'eau prélevée aux 4 stations correspondant aux sites de colonisation du périphyton.

Figure 1 a :

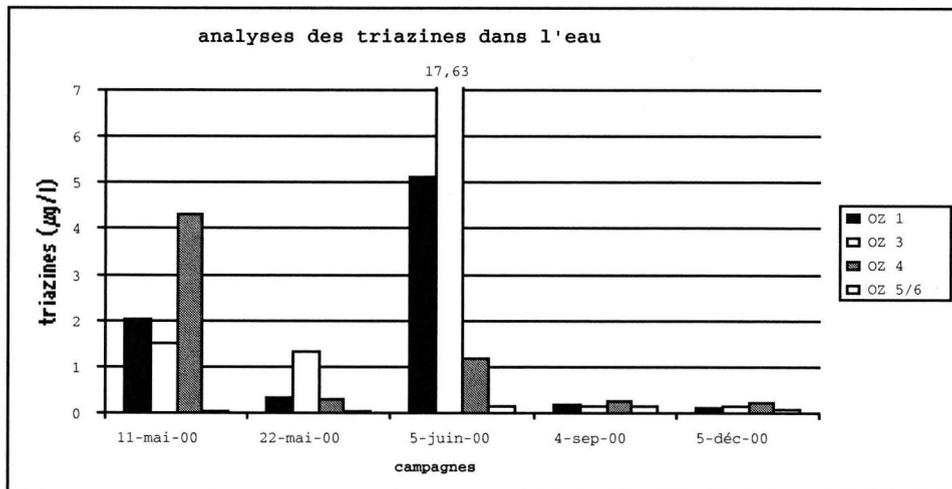
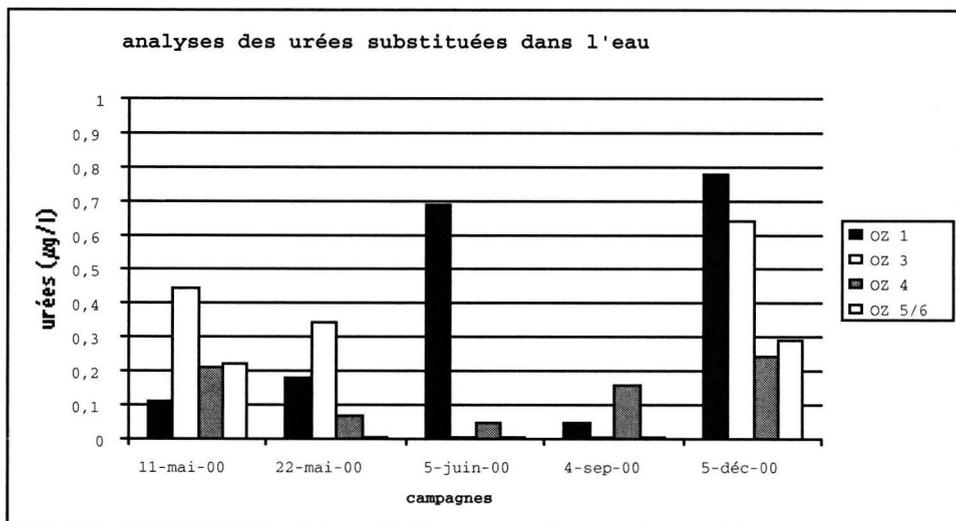


Figure 1 b :



2.1 Herbicides

Les analyses de triazines et d'urées substituées montrent une forte variabilité au cours de la période de suivi (fortes pollutions en mai-juin, faibles concentrations en septembre, concentrations plus élevées en urées au mois de décembre, Fig. 1).

Fig. n° 4 : tolérance du périphyton à l'atrazine et à l'isoproturon, estimée par la CE 50 de la fluorescence induite (juin : les échantillons d'OZ1 et OZ5/6 n'ont pu être analysés).

Figure 4 a :

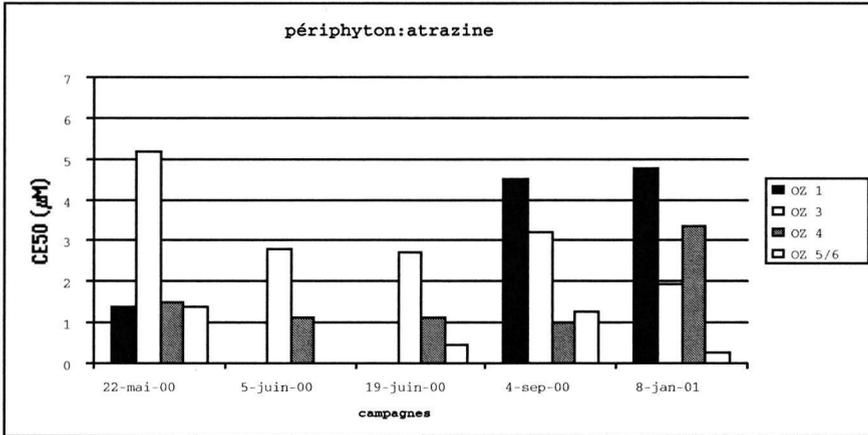
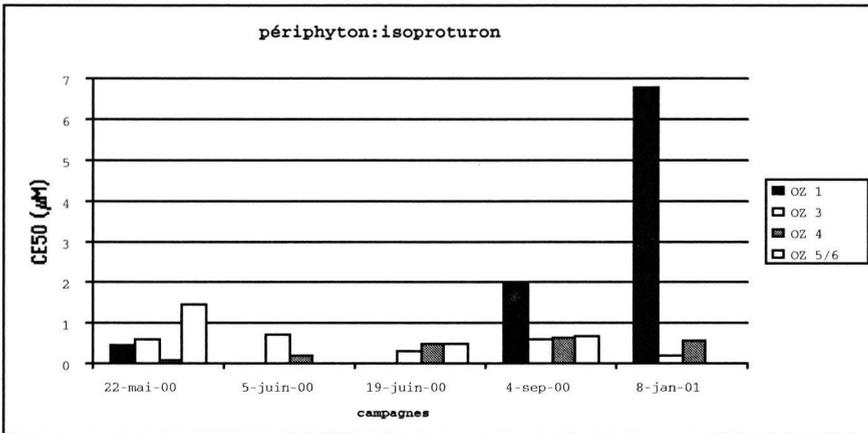


Figure 4 b :



Les stations 5/6 en amont de la rivière, restent les moins contaminées par les herbicides. Ces concentrations mesurées résultent de la saisonnalité des pratiques agricoles, des pluies sur le bassin versant et probablement de certaines pollutions ponctuelles (station 3 en juin 2000 par exemple, FREDEC, DRAF, SRPV, 1999).

2.2 Périphyton

Toutes les "stations lotiques" n'ont pu être échantillonnées en raison de pertes de substrats artificiels emportés lors des crues.

Globalement les tendances PICT sur le périphyton confirment les analyses de phytosanitaires : Les résultats sur la structure des peuplements de diatomées et les analyses génétiques, présentés sous forme d'analyses multivariées (AFC), montrent une influence saisonnière importante, mais chacune de ces deux analyses isole les stations 5/6 des autres stations (Fig. 2, Fig. 3).

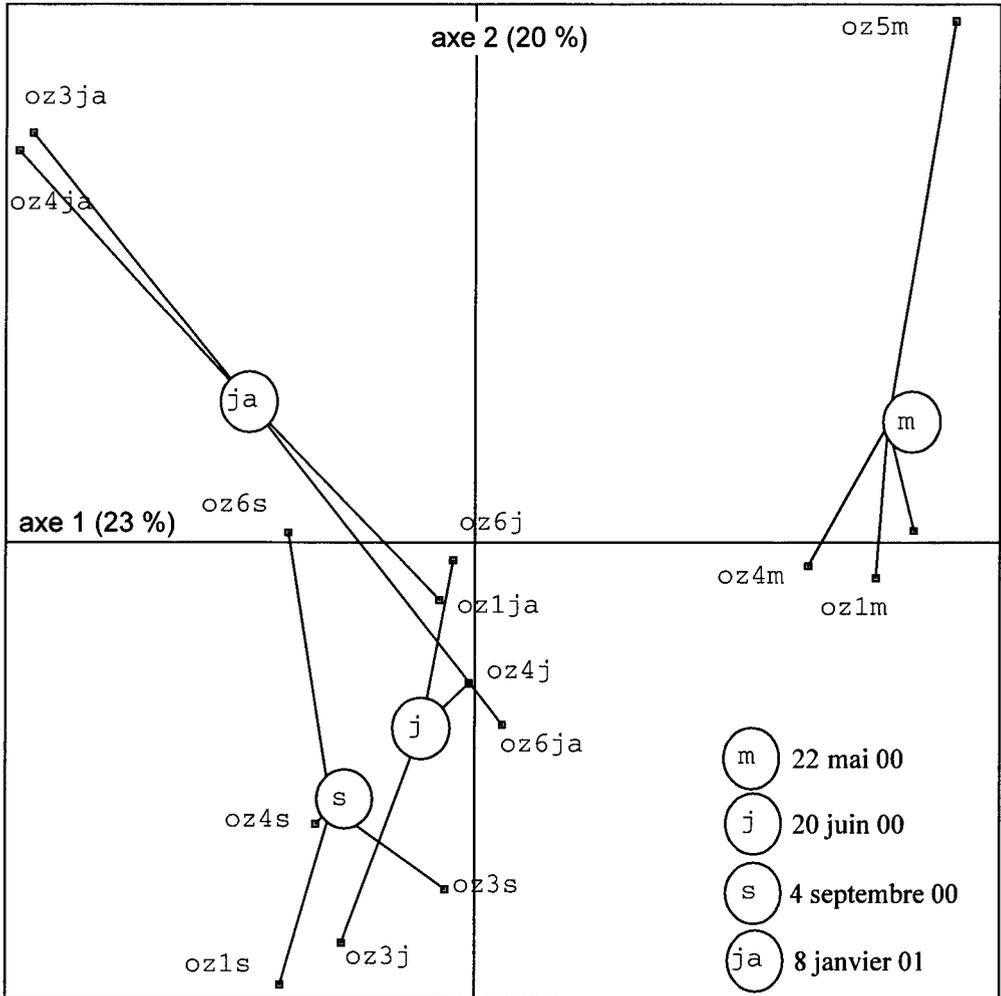


Fig. n° 2 : Analyse factorielle de correspondance sur les comptages au microscope des diatomées du périphyton : quatre campagnes.

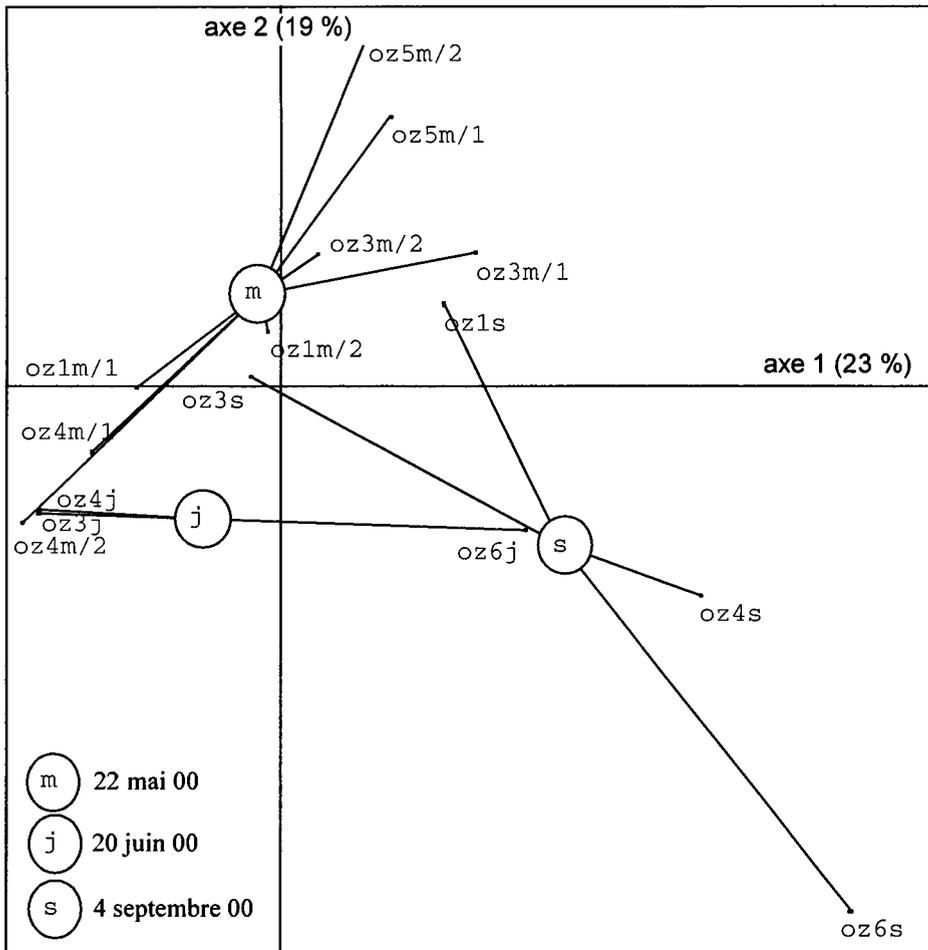


Fig. n° 3 : Analyse factorielle de correspondance sur les analyses génétiques du périphyton (à partir d'un arbre phylogénétique) : trois campagnes.

Les sites OZ 5-6 qui sont les moins pollués, présentent les communautés algales les plus sensibles à l'atrazine, alors que OZ3 et OZ1 qui ont connu des concentrations très variables mais élevées en triazines et, dans une moindre mesure, en urées substituées, sont caractérisés par des tolérances plus élevées. La station OZ 4 présente des profils PICT et de pollution intermédiaires (Fig. 4).

Mais les CE 50 sont moins variables dans le temps que les analyses de triazines. En particulier lors de la campagne de septembre, les analyses d'herbicides montrent des concentrations très faibles en triazines et urées, alors que le périphyton reste tolérant à l'atrazine et à l'isoproturon, (station OZ1). En décembre-janvier les concentrations en triazines sont faibles alors qu'elles sont les plus élevées en urées (période d'épandage des herbicides sur céréales d'hiver), on

constate quand même une tolérance accrue des algues à l'atrazine (ainsi qu'à l'isoproturon). Il existe peut-être un phénomène de co-tolérance entre l'atrazine et l'isoproturon qui sont tous deux des inhibiteurs du photosystème II (Molander 1991). Ces différents résultats montrent le côté intégrateur du périphyton qui garde une tolérance acquise malgré des variations importantes en concentrations d'herbicides dans le milieu.

2.3 Phytoplancton et triazines

La dernière campagne (janvier 2001) n'est pas représentée, car les résultats obtenus n'étaient pas exploitables : les eaux testées au fluorimètre contenaient beaucoup de particules (période de fortes pluies) qui ont rendu l'analyse difficile et impossible à comparer aux campagnes précédentes. La station OZ2 n'a pas été échantillonnée pour analyses en phytosanitaires, mais compte tenu de sa position dans le réseau et des résultats d'analyses en phytosanitaires obtenus les années précédentes (FREDEC, DRAF, SRPV, 1999, GREPPES 2000) nous pouvons considérer que c'est une station soumise aux pollutions par les herbicides. **Globalement les tendances PICT sur le phytoplancton confirment aussi les analyses de triazines.** OZ 6-7 qui sont les stations les moins polluées, sont les plus sensibles à l'atrazine. Alors que OZ1 est plus tolérante et présente des concentrations en triazines plus élevées. OZ2 qui est en amont du OZ1, présente généralement un profil PICT intermédiaire (Fig. 5). Mais on peut faire les mêmes remarques que pour le périphyton : les CE 125 sont moins variables dans le temps que les analyses de triazines. En particulier lors de la campagne de septembre où là encore, les communautés algales présentent un gradient de tolérance, malgré des résultats d'analyses présentant de faibles concentrations en herbicides. Bien que non fixé, le phytoplancton montre qu'il est capable de conserver plusieurs semaines une tolérance induite par un cocktail d'herbicides.

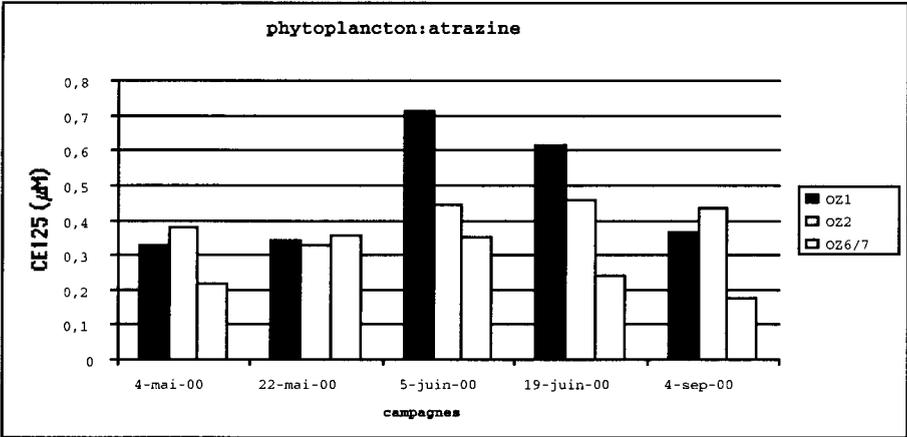


Fig. n° 5 : tolérance du phytoplancton à l'atrazine estimée par la CE 125 de la fluorescence induite

Conclusion

Cette étude a montré que le PICT pouvait être appliqué avec succès sur le terrain dans le cadre de rivières contaminées par des pollutions diffuses. Elle montre l'intérêt d'utiliser des communautés naturelles pour mettre en évidence un impact écotoxicologique durable de contaminations chroniques. Nous avons de plus, comparé deux types de communautés algales, le phytoplancton prélevé ponctuellement et non fixé et le périphyton prélevé après une période de colonisation et fixé ; ces deux types de communautés répondent positivement à la méthode PICT et sont donc susceptibles d'être utilisés en rivière selon le cours (lentique ou lotique) de celle-ci.

Références bibliographiques

- Bérard A. et Benninghoff C., 2001. Pollution-Induced Community Tolerance (PICT) and seasonal variations in the sensitivity of phytoplankton to atrazine in nanocosms. *Chemosphere*, sous presse.
- Bérard A., Pelte T., Menthon E., Druart J.C. & Bourrain X, 1998. Caractérisation du phytoplancton de deux systèmes limniques vis-à-vis d'un herbicide inhibiteur de la photosynthèse : la méthode PICT, application et signification. *Annls. Limnol.* 34 (3) : 269-282.
- Blanck H., Wängberg S.-A. et Molander S. 1988.– Pollution-Induced Community Tolerance - A New Ecotoxicological Tool. *In* Functional Testing of Aquatic Biota for Estimating Hazards of Chemicals. ASTM STP 1988. J. Cairns Jr. & J.R. Pratt. (eds). American Society for Testing and Materials, Philadelphia : 219-230.
- Dorigo, U. et Leboulanger C., 2001. A PAM fluorescence-based method for assessing the effects of photosystem II herbicides on freshwater periphyton. *Journal of Applied Phycology*, sous presse.
- Dorigo U., 2001. Methodologies to assess the effects of pesticides on freshwater microphytobenthos. Tesi di Laurea. Université de Padoue : 112 pp. + annexes.
- FREDEC, DRAF, SRPV, 1999. Diagnostics de pollution des eaux par les produits phytosanitaires sur le bassin versant de l'Ozanne. Année 1997, rapport technique : 25 pp + annexes.
- GREPPPEs, 2000. Poursuite du diagnostic de pollution des eaux superficielles par les produits phytosanitaires sur le bassin versant de l'Ozanne (Eure et Loir). Résultats 1999-2000, rapport technique : 37pp.
- Molander, 1991.– Detection, validity and specificity of pollution-induced community tolerance (PICT). Thèse de Doctorat, Université de Göteborg, Suède, 30p. + 4 publications.
- Nyström B., Becker-van Slooten K., Bérard A., Grandjean D., Druart J.C., et Leboulanger C., ****. Toxic effects of Irgarol 1051 on phytoplankton communities and macrophytes in Lake Geneva. *Water Research*, en révision.
- Nyström, B.A., 1997. Metabolic indicators of ecotoxicological effects in freshwater periphyton communities. Thèse de Doctorat, Université de Göteborg, Suède, 26 p. + 5 publications.

Utilisation des communautés de microalgues telluriques comme bioindicateurs potentiels de contamination des sols

Premiers essais sur l'extraction des algues, la mesure de leur activité photosynthétique et leur sensibilité à l'atrazine

The Use of soil microalgae communities as potential bioindicators of soil contamination

First developments of indigenous algal assay procedures for monitoring photosynthetic activity and its sensitivity to atrazine

Alexandre Saint Olive, Christophe Leboulanger, Annette Bérard
berard@thonon.inra.fr

Résumé : Les algues terrestres sont présentes dans tous les sols, cultivés ou non, en quantités et avec une diversité importante. Ces microorganismes photosynthétiques, concentrés sur les premiers millimètres de la surface, présentent des structures de communautés variables selon les caractéristiques pédoclimatiques des sols, selon les pratiques agricoles et en particulier selon les applications de pesticides. Il est probable que ces communautés (structure et activité) puissent être des indicateurs précoces de perturbations associées aux polluants, tout en intégrant les changements environnementaux sur plusieurs semaines. Une première étude réalisée sur des échantillons de terre de surface, a permis de tester plusieurs modes d'extraction de la biomasse algale, et d'évaluer l'activité photosynthétique de ces organismes à l'aide de la technique d'incorporation du ^{14}C . Nous avons testé l'atrazine sur ces échantillons naturels et avons mis en évidence un effet inhibiteur de la photosynthèse significatif par cet herbicide (CE 50 = 0,3 $\mu\text{g/g}$ de sol sec). Ces premiers résultats sont prometteurs pour utiliser les communautés de microalgues telluriques et leur activité (sensibilité) comme bioindicateurs potentiels de contamination des sols par les xénobiotiques.

Abstract : Soil algae are present in all kind of soils, cultivated or not, in large amounts and with a great diversity. These photosynthetic microorganisms, which are concentrated in the first millimeters of the surface, show a variable community structure depending on the soil types, on the agriculture practices and on the application of pesticides. It is probable that these communities (structure and activity) might be early indicators of perturbations, which are related to pollutants, integrating environmental changes on several weeks. A first study, which has been realized on soil surface samples, permitted us to test several isolation methods of the algae, and to evaluate the photosynthetic activity of these organisms by the mean of the ^{14}C incorporation method. The impact of atrazine was significant on the photosynthesis of these natural samples (CE 50 = 0,3 $\mu\text{g/g}$ of dried soil). These first results are promising concerning the use of soil microalgae communities and the measurements of their activity (sensitivity) as potential bioindicators of xenobiotic soil contamination.

Mots-clés : communautés algales, sol, tolérance, bioévaluation

Keywords : algae communities, soil, tolerance, bioevaluation

1. Introduction

Cette étude a pour but d'évaluer l'intérêt d'utiliser les communautés d'algues vivant à la surface des sols comme indicateurs sensibles de la présence de pesticides, et de préciser si ces communautés peuvent servir de modèle pour une application de la méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance) au milieu terrestre. Le concept du PICT est le suivant : la présence d'un toxique dans un milieu va structurer la communauté en sélectionnant celle-ci au niveau interspécifique et/ou intraspécifique, conduisant l'ensemble de cette communauté perturbée à devenir plus tolérante face au toxique incriminé. C'est cette acquisition de tolérance que la méthode PICT tente de mettre en évidence par des tests physiologiques à court terme, associés à une étude de la diversité de ces communautés.

Différents essais d'extraction et de visualisation au microscope des algues d'un sol, ont confirmé la grande diversité taxonomique de celles-ci, par conséquent, leur potentiel d'indicateurs biologiques. Ces différentes méthodes sont complémentaires, elles sont à développer et à standardiser avec d'autres (épifluorescence et techniques d'extraction) pour analyses microscopiques et génétiques.

Nous avons ensuite réalisé des tests protocolaires de mesures d'activité photosynthétique, afin de mettre au point une technique qui pourrait présenter les mêmes avantages que celles déjà développées avec les communautés d'algues aquatiques : simplicité d'utilisation, précision et reproductivité.

2. Matériel et méthodes

Cette description correspond au protocole final élaboré après les essais développés dans les paragraphes suivants. Nous avons testé la sensibilité (ou tolérance) d'algues telluriques vis-à-vis de l'atrazine. Pour cela nous avons prélevé une couche de terre nue (sans végétation dans un potager biologique) dans les premiers centimètres de surface du sol : la terre est tamisée à 2 mm de maille, puis nous pesons 5 g de terre humide (4 g de terre sèche) que nous mélangeons avec 50 ml d'eau ultrapure. Le tout est mis à agiter dans une bouteille de 100 ml, pendant 2 heures sur un plateau⁵ (vitesse 200 t/mn) à l'abri de la lumière. Puis nous effectuons un second tamisage à 500 µm de maille. Nous distribuons alors 900 µl du filtrat dans des fioles à scintillation. Puis nous ajoutons 100 µl de solution de toxique (gamme de 9 concentrations croissantes d'atrazine comprises entre 4 10⁻¹⁰M et 4 10⁻⁶ M), ce qui fait un milieu d'incubation de 1ml. Les fioles sont ensuite

⁵ Heidolph promax 2020

disposées aléatoirement sur des portoirs et mises à préincuber durant une heure à 20°C sous une lumière de 120 µE. Nous ajoutons ensuite dans chacune des fioles, 25 µl de ¹⁴C (activité: 0.5 µCi). Les témoins noirs (incubés à l'obscurité, pour évaluer l'incorporation non photosynthétique) sont entourés de papier aluminium, et nous ajoutons dans les témoins blancs 100µl de formol (pour évaluer l'incorporation non-biologique). L'incubation a lieu durant quatre heures dans les mêmes conditions que la préincubation. Pour arrêter l'incubation, nous ajoutons 100 µl de formol sauf dans les blancs déjà formolés. Le ¹⁴C non fixé est éliminé avec 200 µl d'acide acétique pur. Les fioles sont agitées durant 1 heure sur un plateau rotatif⁶ (150 tours mn-1) avec les bouchons à peine vissés. Nous ajoutons 2ml d'eau ultrapure et les fioles sont placées dans une étuve à 80°C durant une heure pour solubiliser la matière organique. Nous laissons ensuite refroidir les fioles et nous ajoutons 14 ml de liquide scintillant⁷, les fioles sont agitées violemment pour achever la dissolution de la matière organique. Les fioles sont entreposées pendant au moins trois jours avant d'être lues dans le compteur à scintillation⁸.

3. Résultats discussion

3.1 Choix de la quantité de terre agitée

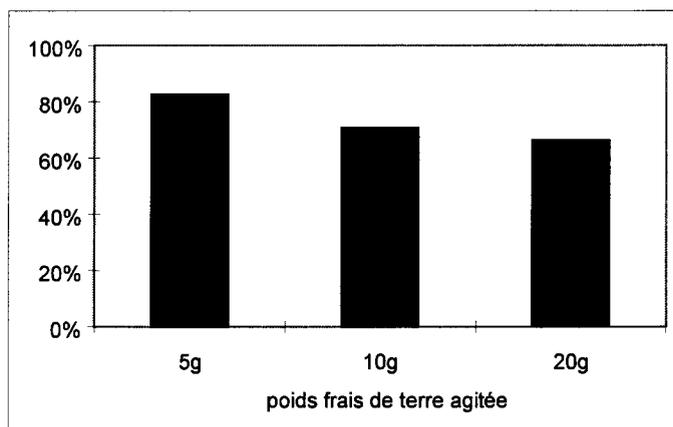


Fig. n° 1 : Pourcentage d'inhibition par l'atrazine (0.4µM, soit 86,3 µg/l) de l'incorporation du ¹⁴C en fonction du poids frais de terre utilisée

Nous avons réalisé des essais d'extraction des algues par agitation d'échantillons de terre de poids variés dans l'eau ultrapure (50 ml) et tamisage. Nous avons effectué des mesures associées de l'activité photosynthétique (incorporation du

⁶ IKA Labortechnik KS250 basic

⁷ (Ultima Gold LLT).

⁸ Tri-carb 2100TR (Liquid scintillation analyser)

^{14}C) et de l'inhibition de celle-ci par $0,4 \mu\text{M}$ d'atrazine ($86,3 \mu\text{g/l}$). L'échantillon de 5 g de terre fraîche présente la plus forte activité photosynthétique et sa plus forte inhibition par l'atrazine (Fig. 1). La variabilité inter réplicats est relativement faible (9,93 % et 23,5 % de variation pour les échantillons avec 5 g).

3.2 Essais de conservation des échantillons de terre

Dans l'éventualité où un temps (exemple transport) soit nécessaire entre le site de prélèvement et le laboratoire, nous avons testé différents modes de conservation des échantillons de terre. Pour cela nous avons placé un prélèvement en chambre froide durant 72h et faisant chaque jour un test d'inhibition. Nous avons de plus testé si un séchage à 30°C durant 12 h avait un effet sur la tolérance

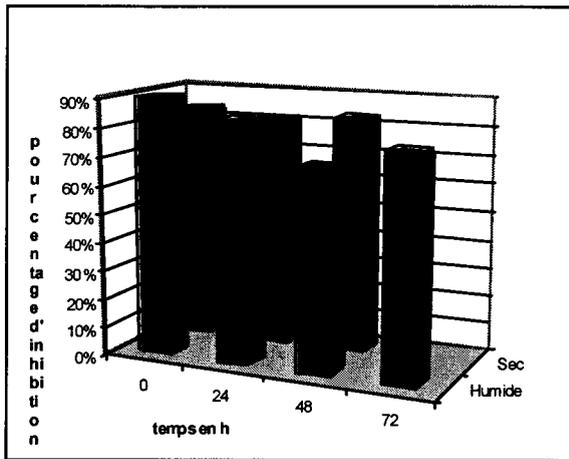


Fig. n° 2 : Suivi de l'inhibition de l'activité photosynthétique (^{14}C) par $0,4 \mu\text{M}$ d'atrazine (5 réplicats) en fonction du temps de stockage et du séchage (12 h à 30°C) des échantillons de terre

La conservation et le séchage ont un effet significatif sur l'inhibition de l'activité photosynthétique (Mann Whitney 0,01, Fig. 2). Les paramètres du milieu tels que l'humidité sont probablement des facteurs importants influençant l'activité photosynthétique et sa sensibilité aux xénobiotiques. Cependant, il faut noter que l'échantillon initial était très humide (prélèvement après de pluie, 36% d'humidité) ; une expérimentation supplémentaire avec un échantillon initial ayant un taux d'humidité moindre serait à refaire. De plus, la comparaison des échantillons secs entre eux ne montre pas d'effet significatif du temps sur l'inhibition. Il serait donc possible de comparer des échantillons ayant eu un temps de conservation différent en les ayant préalablement séchés à 30°C . Le fait de tamiser avant de sécher a une forte influence, sans doute significative à la fois sur l'activité totale et sur l'inhibition, il faudra donc éviter d'utiliser cette méthode.

3.3 Évaluation de la sensibilité d'un échantillon d'algues telluriques à l'atrazine, estimation d'une CE 50

Nous avons prélevé sur la même parcelle de sol un échantillon (23,0 % d'humidité) et testé une gamme de 9 concentrations croissantes d'atrazine (comprises entre $4 \cdot 10^{-10}$ M et $4 \cdot 10^{-6}$ M, 5 réplicats témoins et 3 réplicats par concentration).

Les résultats confirment la sensibilité importante de l'activité photosynthétique du sol à l'herbicide et nous donnent une CE 50 (Concentration inhibant 50 % de l'activité photosynthétique) de 19,3 μ g/l (soit de 0,3 μ g/g de sol sec, Fig. 3).

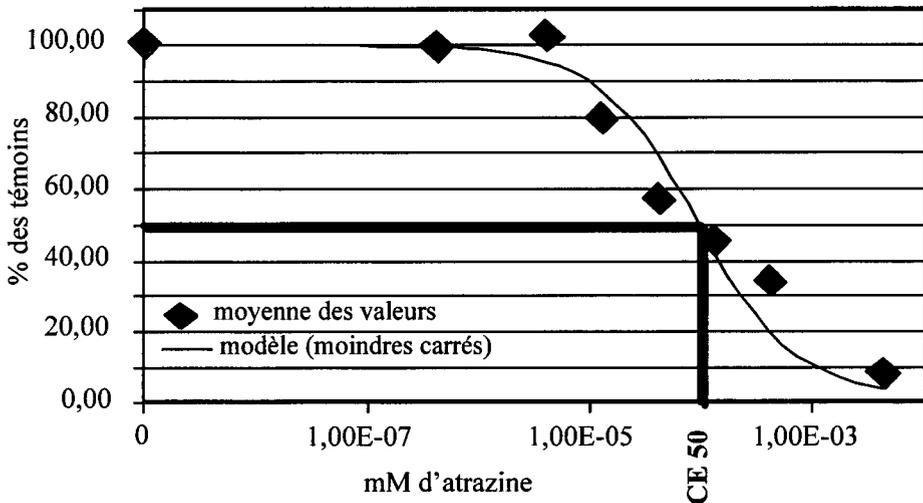


Fig. n° 3 : Courbe dose-réponse de l'inhibition de l'activité photosynthétique (14 C) par l'atrazine.

4. Conclusion

D'après ces premiers résultats et observations, les algues telluriques semblent être un modèle prometteur d'indicateur biologique pour l'application du PICT au milieu terrestre, dans le cadre d'études sur les herbicides : diversité importante, activité mesurable, sensibilité importante à l'atrazine ... Un certain nombre de points sont à préciser et à développer, tels les méthodologies (échantillonnage, techniques d'extraction et outils biomoléculaires pour l'évaluation de la diversité de ces communautés, ...) et les études écologiques dans les agro-systèmes (en rapport avec les variations saisonnières, les facteurs du milieu, les pratiques agricoles, transferts de pesticides ...).

5. Références bibliographiques

- Hoffmann L., 1989. Algae of terrestrial habitats. *The botanical Review*, 55 (2) : 77-105.
- Pipe A.E. et Shubert L.E., 1984. The use of algae as indicators of soil fertility. In *Algae as ecological indicators*. Edts L.E. Shubert. Academic press, Inc. : 213-233.
- Stellmacher G., Reisser W., 1999. The quantitative isolation of algae from soils. A suggestion for standardization. *Pedobiologia* 43 : 206-208.
- Yeates G.W., Bongers T., de Goede R.G.M., Freckman D.W., Georgieva S.S., 1993. Feeding habits in soil nematodes families and genera-an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology*, 25 (3) : 315-331.

Effet des sulfonilurées de première et de deuxième génération sur les propriétés biochimiques et microbiologiques d'un sol

Effects of first and last generation sulfonyleureas on the biochemical and microbiological properties of a soil

Angelo Mazzatura*, Laura Scrano*, Antonio Scopa*, Jean-Marc Chovelon**

*Dipartimento di Produzione Vegetale, Università di Basilicata, Via N. Sauro 85, 85100 Potenza, Italy. Tel ++39.0971.202314. email: sl505agr@unibas.it

**Lace, Université Claude Bernard, Boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

Le 13 Mai 2001

Résumé : Les effets du cinosulfuron, du primisulfuron, du thifensulfuron-méthyle et du triasulfuron sur la biomasse microbienne ainsi que sur quelques propriétés biochimiques d'un sol italien, le Calcic Vertisol, ont été étudiés au niveau du laboratoire. Les herbicides ont été ajoutés à différentes doses: la dose de champ et 10 fois cette dose.

Les résultats montrent que tous les herbicides ont réduit la biomasse microbienne, la respiration des sols et ses activités enzymatiques. Les herbicides ajoutés à la dose de champ ont affecté l'activité de la phosphatase alcaline et acide, tandis que pour les doses supérieures presque toutes les activités microbiennes testées ont été affectées.

Parmi les caractéristiques physiologiques de la biomasse microbienne, le coefficient respiratoire (qCO_2) se confirme comme un index particulièrement fiable de l'évaluation de la toxicité des herbicides vis à vis de la biomasse microbienne des sols. On propose ici la mesure de l'activité hydrolytique spécifique ($qFDA$) comme nouveau index synthétique pour l'étude des effets toxiques des substances xénobiotiques sur l'activité microbienne des sols.

Abstract : *The interactive effects of the sulfonyleurea herbicides cinosulfuron, primisulfuron, thifensulfuron-methyl and triasulfuron on some biochemical and microbiological properties of an Italian soil were investigated. The herbicides were applied at field and 10-fold field rates. All herbicides exerted a detrimental effect on soil microbial biomass and its biochemical properties. Even though the effect of the herbicides on soil microbial biomass was not detectable at the field rate, some significant influences on acid and alkaline phosphatase were observed. The higher rate of herbicide application impaired the observed microbial parameters to a greater degree. Among the studied microbial characteristics, the specific respiration quotient was particularly reliable and sensitive in determining the influence of herbicides on the soil microbial biomass. In this paper a new synthetic index, the specific hydrolytic activity (qFD), for assessing microbial activity in reply to xenobiotic treatments has been proposed.*

Mots-clés : Cinosulfuron, Primisulfuron, Thifensulfuron-méthyle, Triasulfuron, Coefficient respiratoire, Activité hydrolytique spécifique

Keywords : *Cinosulfuron, Primisulfuron, Thifensulfuron-methyl, Triasulfuron, Specific respiration quotient, FD-hydrolase*

Introduction

Au cours de ces dernières années, l'intérêt de l'opinion publique mais aussi des chercheurs à l'égard de l'utilisation des produits phytosanitaires et de ses conséquences sur l'environnement n'a cessé d'augmenter. Les études les plus fréquentes concernent la présence de ces molécules dans le sol (Senesi, 1992), la contamination des eaux (Domagalski et al., 1997), la dégradation biotique et abiotique des produits antiparasitaires (Miller et al., 1997; Bollag et al., 1992), leur utilisation comme source de carbone par les micro-organismes présents dans le sol (Dumontet et al., 1993) et enfin l'identification de résidus qui apparemment semblent avoir un lien avec elles (Calderbank, 1989; Bollag et al., 1992). L'intérêt actuel à l'égard des effets des pesticides sur la biomasse microbienne est lié au fait que lors d'une analyse de contrôle dans le sol, on a découvert un taux de micro-organismes important en même temps qu'une concentration d'atomes de C, N, P et S trop faible. Normalement ces atomes résultent de processus de décomposition, de minéralisation et d'immobilisation de la part des micro-organismes (Saratchandra et al., 1988). En présence de xénobiotiques, une réduction du processus de minéralisation va se produire, puisqu'une grande partie de l'énergie active de la biomasse microbienne sera consacrée aux nouveaux produits (Anderson et Domsch, 1990). Une telle situation peut avoir des conséquences négatives de manière définitive sur la fertilité des sols. De même, les processus d'humidification peuvent apparaître altérés, avec pour conséquence un appauvrissement des propriétés physiques, chimiques et microbiologiques du sol (Haider, 1992; Wood et Edwards, 1992; Kirchner et al., 1993). Compte tenu de l'intérêt croissant pour de nouveaux herbicides, étudiés pour être utilisés à faibles et même très faibles doses (quelques grammes par hectare), nous avons souhaité donner les résultats préliminaires obtenus en étudiant les effets des récentes et même très récentes générations de sulfonilurées sur la biomasse microbienne d'un sol cultivé et sur certaines activités biochimiques. L'étude se concentre tout particulièrement sur l'interaction entre les herbicides cinosulfuron (CNS), primisulfuron (PRS), thifensulfuron-méthyle (THS) triasulfuron (TRS) et les micororganismes présents dans le sol en tenant compte d'un important paramètre biologique comme le quotient respiratoire spécifique (qCO_2) et d'un tout aussi important paramètre biochimique tel que l'activité hydrolytique spécifique ($qFDA$).

1. Matériels et Méthodes

1.1 Produits Chimiques et dispositif expérimental

Les sulfonilurées sont des herbicides à large spectre utilisées dans diverses cultures et présentant une activité biologique important (Koeppel et Brown, 1994). Ils exercent leur moyen d'action en bloquant la division cellulaire au niveau du méristème (Ray, 1982), en inhibant l'enzyme acétolactate synthase (ALS) qui est capital dans la biosynthèse d'acides aminés essentiels (Ray, 1984).

Le *Cinosulfuron* 1-[4,6-bis-(diméthoxy-1,3,5-triazine-2-yl)-3-[-2-méthoxyéthoxy]phenylsulfonyl] urea (Fig. n° 1) est un herbicide utilisé en post-émergence pour le riz (10-80 g p.a./Ha) (Worthing et Hance 1991).

Le *Primisulfuron*, 2-[4,6-bis-(difluorométhoxy)pyrimidin-2-ylcarbamoylsulfamoyl] acide benzoïque (Fig. n° 2) est un herbicide sélectif utilisé pour le désherbage du maïs (10-40 g p.a./Ha). Il est absorbé rapidement par voie foliaire et transporté dans la plante (Worthing et Hance 1991).

Le *Triasulfuron*, 1-[2-(2-chloroéthoxy)-phenylsulfonyl]-3-[-(4-méthoxy-6-méthyl-1,3,5-triazin-2-yl) urea (Fig. n° 3), est un herbicide sélectif utilisé pour le désherbage des céréales (20-40 g p.a./Ha). Il est absorbé par voie foliaire et par les poils adsorbant des racines. Son efficacité d'action dépend du climat (Worthing et Hance 1991).

Le *Thifensulfuron-méthyle*, Methyl 3-[3-(4-méthoxy-6-méthyl-1,3,5-triazin-2-yl) ureidosulphonyl] thiophene-2-carboxylate (Fig. n° 4), est un herbicide sélectif utilisé pour le désherbage du maïs (5-25 g p.a./Ha). Il est rapidement absorbé par les feuilles (2-6 heures) et transporté dans la plante. Son activité est favorisée par un climat chaud et humide après le traitement (Worthing et Hance 1991).

Pour l'expérimentation ont été utilisés *p*-Nitrophenylphosphate et *p*-nitrophenole (Sigma Chemical, St Louis, USA) et le diacétate de Fluoresceine (3',6'-diacetyl-fluoresceine; FDA) commercialisé par la société Aldrich-Chemie (Steinheim, Allemagne).

Le spectrophotomètre utilisé pour la détermination analytique est un Varian Cary 210.

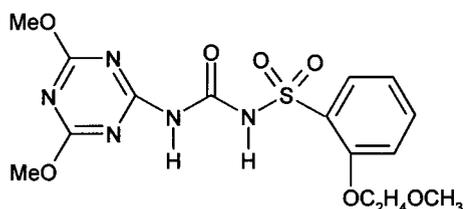


Fig. n° 1. *Cinosulfuron*

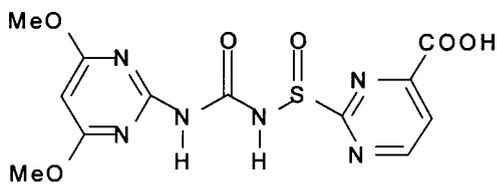


Fig. n° 2. *Primisulfuron*

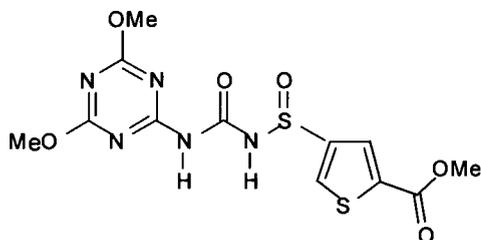


Fig. n° 3. *Thifensulfuron-méthyle*

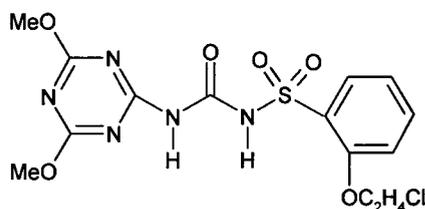


Fig. n° 4. *Triasulfuron*

1.2 Préparation des échantillons de sol

Les expériences ont été menées sur un sol italien, le Calcic Vertisol. Dans le *Tableau n°1* est reportée la composition physico-chimique du sol utilisé.

2 Kg de sol ont été séchés à température ambiante, tamisés à 2 mm, homogénéisés pendant 1 heure dans un cylindre rotatif, placés dans 2 conteniteurs en plastique et gardés pour une semaine à 25°C. Ensuite le sol a été divisé en 2 parties. Chaque partie a été subdivisée en 5 fractions de 100 g. Une fraction a été utilisée pour le blanc. Les autres parties ont été traitées avec les herbicides.

P-Olsen	mg/kg	24
K ₂ O	mg/kg	1455
C Organique	%	1,08
Total N.	%	0,17
CaCO ₃	%	16
Sable	%	18,4
Limon	%	40,3
Argile	%	41,3
pH (H ₂ O)	-	7,65
pH (KCl1N)		6,87

Tableau n°1. Composition physico-chimique du sol Calcic Vertisol

1.3 Préparation des solutions et traitement herbicide

Les herbicides ont été ajoutés au sol à la dose de champ (FD) ($30 \text{ g ha}^{-1} \Rightarrow 30 \mu\text{g kg}^{-1}$) et 10 fois cette dose (10 FD) ($300 \text{ g ha}^{-1} \Rightarrow 300 \mu\text{g kg}^{-1}$). La conversion de dose de champ à mg d'herbicide/ kg de sol a été mesurée prenant en compte une homogène distribution de chaque herbicide en 10 cm de sol (densité $1,0 \text{ g cm}^{-3}$). Des solutions des produits standard ont été préparées dans un mélange méthanol-eau (20:80, v:v) (1 mg L^{-1}). 3 ml de la solution de l'herbicide en méthanol-eau ont été ajoutés à une fraction de sol (10 g). Puis l'on a fait évaporer le solvant à température ambiante. Ensuite la fraction séchée a été mélangée avec 90 g de sol tel quel et homogénéisée pendant 1 heure dans un cylindre rotatif. La même expérience a été menée pour le blanc en utilisant la solution méthanol-eau sans l'herbicide. Enfin les échantillons du sol traité ont été placés en capsules en verre équipées d'une fermeture étanche et équilibrées pendant 5 jours à 22°C et 60% de humidité.

2. Résultats et Discussion

Les résultats montrent que les pesticides étudiés présentent à peu près les mêmes effets toxiques vis-à-vis des différents paramètres évalués de la microflore tellurique.

- En ce qui concerne la respiration (*Fig. n° 5*), le sol témoin dégage en 30 jours d'incubation la même quantité de CO₂ que pratiquement tous les traitements FD à l'exception du PRS qui présente une respiration plus faible. En revanche, les traitements 10FD respirent sensiblement plus que le témoin.

- Le carbon de biomasse microbienne (MBC) (*Fig. n° 6*) décroît considérablement à cause de l'effet toxique des pesticides. En moyenne la MBC des traitements FD est de 35% plus faible par rapport à celle du témoin, alors qu'elle est de 49% plus faible pour les traitements 10FD.

- Le qCO₂ mesure la quantité de CO₂ dégagée par unité de MBC (*Fig. n° 7*). Cet index synthétique permet d'estimer l'efficacité d'utilisation de l'énergie métabolique par la microflore. Une faible valeur de qCO₂ souligne une utilisation efficace des substrats oxydables, tandis qu'une forte valeur de qCO₂ indique une perturbation de l'activité respiratoire due à une plus grande utilisation des substrats conduisant à un gaspillage de l'énergie métabolique. Les pesticides ajoutés à la dose FD ont un faible effet sur ce quotient, tandis que les doses 10FD montrent une forte augmentation du qCO₂.

- Le qFDA mesure l'activité d'hydrolytique globale par unité de MBC (*Fig. n° 8*) et donne des informations complémentaires à celles fournies par le qCO₂. Cet index confirme le faible effet de dose FD et l'effet remarquable des doses 10FD.

- Du point de vue des paramètres microbiologiques il demeure difficile de mettre en évidence une échelle de toxicité parmi les différents pesticides utilisés. Il est clair que toutes les doses FD ont une toxicité modérée et comparable, tandis que les dose 10FD ont une toxicité très élevé.

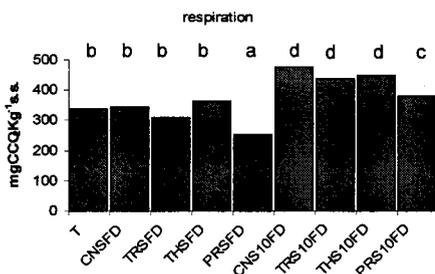


Fig. n° 5. Respiration du sol traité à la dose de champ (FD) et 10 fois la dose de champ (10FD).

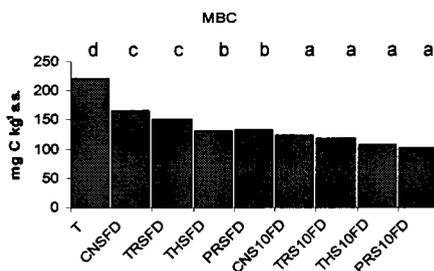


Fig. n° 6. Biomasse microbienne (MBC) du sol traité à la dose de champ (FD) et 10 fois la dose de champ (10FD).

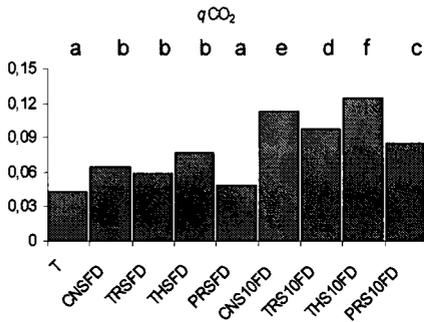


Fig. n° 7. Quotient respiratoire spécifique (qCO_2) du sol traité à la dose de champ (FD) et 10 fois la dose de champ (10FD).

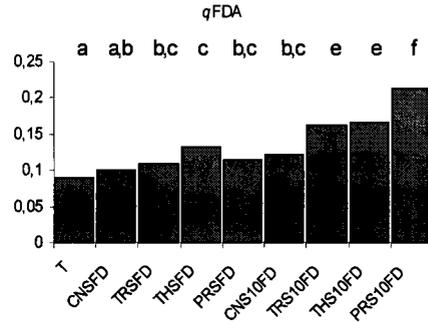


Fig. n° 8. Activité hydrolitique globale ($qFDA$) du sol traité à la dose de champ (FD) et 10 fois la dose de champ (10FD).

Références Bibliographiques

- Anderson JM, Domsch KH (1990) Application of eco-physiological quotients (qCO and qD) on microbial biomass from soils of different cropping histories. *Soil Biol Biochem* 22: 51–55
- Bollag JM, Myers CJ, Minard RD (1992) Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *Sci Tot Environ* 123/124: 205–217
- Calderbank A (1989) The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. *Rev Environ Contam Toxicol* 108: 71–103
- Domagalski JL, Dubrovsky NM, Kratzer CR (1997) Pesticides in the San Joaquin River, California: inputs from dormant sprayed orchards. *J Environ Qual* 6: 454–465.
- Haider K (1992) Problems related to the humification processes in soils in temperate climates. *Soil Biol Biochem* 7: 55–94
- Kirchner MJ, Wollum AG II, King LD (1993) Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agro-ecosystems. *Soil Sci Am J* 57: 1007–1012
- Koeppel MK, Brown HM (1994) Sulfonylurea herbicide plant metabolism and crop selectivity. In: *Herbicides inhibiting branched-chain amino acid biosynthesis, recent developments (Chemistry of Plant Protection)*, J Stetter ed., N.10, pp 9–14
- Miller JL, Wollum G, Weber JB (1997) Sterile and non-sterile degradation of carbon-14-primsulfuron in soil from four depths. *J Environ Qual* 26: 440–445
- Ray TB (1982) The mode of action of Chlorsulfuron: a new herbicide for cereals. *Pesticide Biochem and Physiology* 17: 10–17
- Ray TB (1984) Site of action of Chlorsulfuron. *Plant Physiol* 75: 827–835
- Sarathchandra SU, Perrot KW, Boase MR, Waller JE (1988) Seasonal change and the effects of fertilisers on some chemical, biochemical and microbiological characteristics of high-producing pastoral soil. *Biol Fertil Soils* 6: 328–335
- Senesi N (1992) Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Sci Tot Environ* 123/124: 63–76
- Wood CW, Edwards JH (1992) Agro-ecosystem management effects on soil carbon and nitrogen. *Agric Ecol Environ* 39: 123–138
- Worthing CR, Hance RY (1991) *The pesticide manual*, 9th Ed. British Crop Protection Council.

Achever d'imprimer en février 2003
Cemagref – Antony – France

REÇU le
05 MAI 2003
Rép: ... DM ...

Le thème principal du XXXI^e congrès du Groupe Français des Pesticides était le transfert des produits phytosanitaires vers le milieu aquatique et l'atmosphère, le diagnostic de la pollution associée et les solutions correctives.

Le présent ouvrage réunit l'ensemble des travaux présentés au cours de ce congrès : analyse des résidus de phytosanitaires dans les eaux et diverses matrices solides, voies de dégradation, méthodes de diagnostic de la pollution et les solutions correctives, transfert et transformation, écotoxicologie et toxicologie des substances phytosanitaires.

L'intérêt de ce document est de rassembler une large diversité de contributions de spécialistes en agronomie, pédologie, hydrologie, écotoxicologie, chimie, ainsi que des acteurs des groupes régionaux phytosanitaires, du développement agricole, des responsables des services de la réglementation et de l'industrie de la protection des plantes.

MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
DE L'ALIMENTATION
DE LA PÊCHE
ET DES AFFAIRES RURALES



MINISTÈRE
DE L'ÉCOLOGIE
ET DU
DÉVELOPPEMENT DURABLE



MONSANTO



NOVARTIS

ISBN 2-85362-610-5

Prix : 42 € TTC



9 782853 626101