

Effet des sulfonylurées de première et de deuxième génération sur les propriétés biochimiques et microbiologiques d'un sol

Effects of first and last generation sulfonylureas on the biochemical and microbiological properties of a soil

Angelo Mazzatura*, Laura Scranò*, 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 sulfonylurea 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]phénylesulfonyl] urée (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 benzéïque (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)-phénylesulfonyl]-3-[-(4-méthoxy-6-méthyl-1,3,5-triazin-2-yl) urée (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] thiophène-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*-nitrophénole (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.

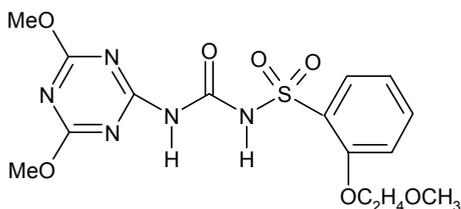


Fig. n° 1. *Cinosulfuron*

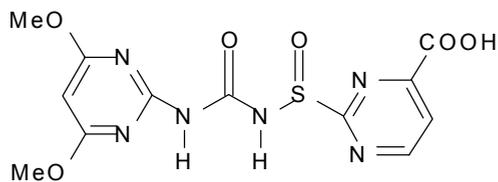


Fig. n° 2. *Primisulfuron*

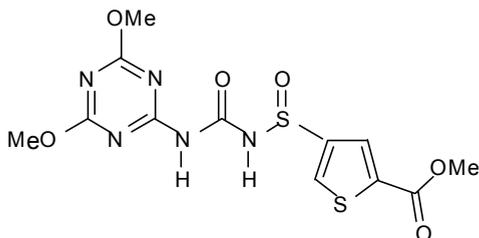


Fig. n° 3. *Thifensulfuron-méthyle*

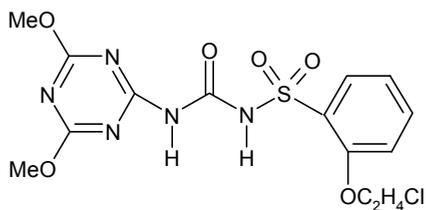


Fig. n° 4. *Triasulfuron*

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)		685

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 carbone 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 élevée.

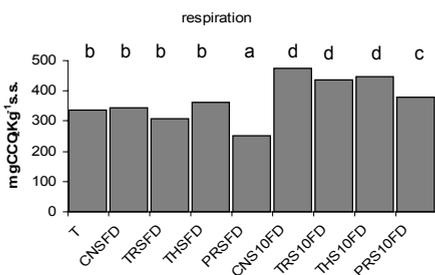


Fig. n° 5. Respiration du sol traité à la dose de champ (FD) et 10 fois la dose de champ (10FD).

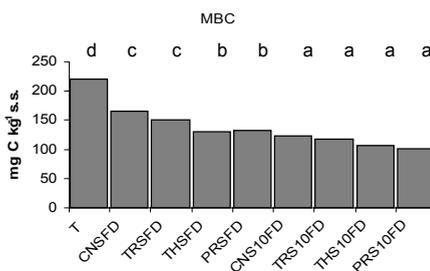


Fig. n° 6. Biomasse microbienne (MBC) du sol traité à la dose de champ (FD) et 10 fois la dose de champ (10FD).

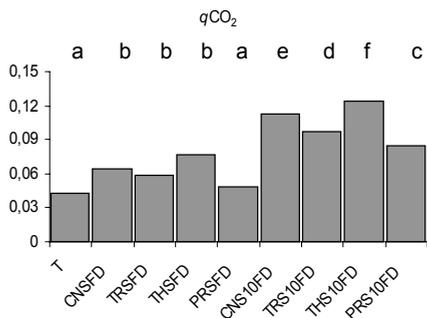


Fig. n° 7. Quotient respiratoire spécifique (qCO_2) du sol traité à la dose de champ (FD) et 10 fois la dose de champ (10FD).

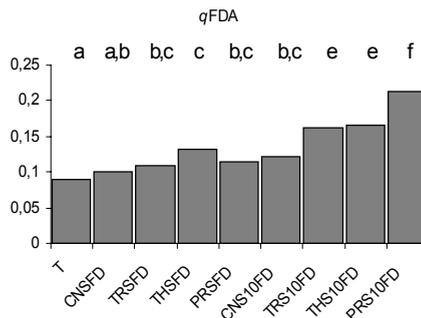


Fig. n° 8. Activité hydrolytique globale ($qFDA$) du sol traité à la dose de champ (FD) et 10 fois la dose de champ (10FD).

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
- Koepe 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.