

RELATION
ENTRE L'EFFICACITÉ BIOLOGIQUE
ET LE COMPORTEMENT CHIMIQUE
DU BIFENOX DANS LE SOL
D'UNE CULTURE D'ORGE D'HIVER

par
HERNANI SILVA LEAL *

RÉSUMÉ

Ce travail a comme objectif l'étude du comportement du Bifenox, un herbicide de la famille des diphenyléthers, le méthyl 5 — (2,4 — dichloro-phenoxy) — 2 — nitrobenzoate, dans le sol d'une culture d'orge d'hiver. On envisage la persistance dans le sol de ses résidus et d'un de ses métabolites potentiels, le nitroféne. Cela en fonction du temps et de la profondeur pour évaluer sa phytotoxicité.

Cette étude a été entreprise par l'intermédiaire d'analyses chimiques et biologiques.

En plus, nous avons effectué des observations biologiques, concernant leur efficacité à l'égard des plantes adventices présentes dans cet essai.

* Departamento de Biologia, Laboratório de Ecologia Aplicada, Universidade dos Açores, P-9500 Ponta Delgada, Açores, Portugal.

RESUMO

Este trabalho tem como objectivo o estudo do comportamento do Bifenox, um herbicida da família das difenileteres, o metil 5 — (2,4 — dicloro-fenoxi) — 2 — nitrobenzoato e de um dos seus metabolitos, o nitrofenol, no solo de uma cultura de cevada do inverno, relativamente à persistência dos seus resíduos no mesmo. Este estudo foi feito em função do tempo e da profundidade, a fim de estudar a sua fitotoxicidade relativamente à cultura em questão e meio ambiente.

Paralelamente, foram feitas observações biológicas com vista à determinação da sua eficácia em relação às plantas adventícias presentes neste ensaio.

INTRODUCTION

1.0 LES RÉSIDUS DE PESTICIDES ET L'IMPORTANCE DE LEUR DOSAGE

L'utilisation des substances chimiques pour combattre les maladies des plantes provoquées par les agents pathogènes soit d'origine animale, soit d'origine végétale, remonte à l'Antiquité.

Les produits utilisés provenaient cependant de la chimie inorganique. Il faut attendre la première moitié du XX^e siècle et surtout depuis les trois dernières décennies, pour voir l'apparition des produits organiques de synthèse. A partir de ce moment là, et jusqu'à présent, le nombre de produits a crû d'une façon extraordinaire. On peut estimer qu'aujourd'hui, le nombre des produits différents atteint plusieurs centaines (1).

Du point de vue historique, le développement et l'utilisation des pesticides peut se situer de la façon reprise au tableau I.

TABLEAU I (2)

<i>Année</i>	<i>Type de produit</i>	<i>Classification historique</i>
900 1854	Arsenites (Chine) CS ₂ comme fumigants (France)	Ere des produits naturels Ere des fumigants Produits inorganiques et pétrolifères
1925	Dinitro composés	Ere des insecticides de synthèse
1970	Hormones juvéniles et phéromones	Médiateurs chimiques

Avec le développement massif des pesticides, un problème se pose: Quelle est la persistance, dans l'environnement, de ces produits et leur toxicité à l'égard de l'homme, des animaux et des végétaux? Il faut attendre les années 1950 pour que soient publiés plusieurs travaux concernant le problème de la présence des résidus de pesticides et de leurs métabolites dans les êtres vivants, l'eau, le sol et l'air (1).

Cette question, est ultérieurement abordée au niveau officiel par les comités d'Agrégation, et au niveau international par les groupes d'experts, notamment l'O.M.S., la F.A.O. et la C.E.E. Ils imposent pour chaque produit les «limites maximales de résidus» de façon à limiter les résidus à un niveau toxicologiquement acceptable. Ce niveau est basé sur le concept de la dose journalière admissible (DJA) qui se définit comme étant la «quantité d'un pesticide qui, d'après l'ensemble des données connues, paraît pouvoir être ingérée chaque jour pendant toute la vie sans risques appréciables» (4).

Le problème ainsi défini, on comprend la nécessité des recherches sur les modes de dissipation et de dégradation des pesticides dans le sol et dans la biosphère en général.

Il faut connaître leur influence sur l'équilibre des écosystèmes et sur l'homme. Il convient donc pour chaque produit utilisé, de définir son innocuité du point de vue toxicologique, écologique et son évolution dans les sols. Pour atteindre cet objectif, il faut recourir aux méthodes qualitatives et quantitatives de la Chimie Analytique.

Par voie biologique, la présence d'une molécule peut être mise en évidence par les symptômes toxicologiques qu'elle induit. Cependant, il peut être difficile de séparer la présence de la molécule initiale de ses métabolites sur la base de ces seules données.

Au contraire, les méthodes de l'analyse chimique permettent l'identification et le dosage des métabolites qu'elle que soit leur impact sur les systèmes biologiques.

2.0 LE PROBLÈME DE LA PERSISTANCE DES HERBICIDES DANS LE SOL

Parmi les différents types de pollution par les pesticides c'est, notamment, leur présence dans le sol à laquelle nous nous intéressons particulièrement.

La persistance des pesticides dans le sol est souhaitable pour empêcher la concurrence des plantes adventices sur la culture, mais elle doit être limitée à la culture envisagée et aucun résidu ne doit présenter une phytotoxicité à l'égard de la culture suivante de la rotation culturale.

La disparition d'une molécule d'un pesticide dans le sol est sous la dépendance de divers mécanismes physiques, chimiques et biologiques.

Il faut, donc, suivre non seulement la molécule de l'herbicide mais, aussi, ses produits de dégradation et de métabolisation et connaître leurs effets biologiques sur la plante et éventuellement à l'ensemble de la microflore du sol. Le recours aux techniques de l'analyse chimique adaptée à chaque problème est, comme nous avons déjà dit, indispensable.

3.0 ÉTUDE D'UN CAS PARTICULIER; LE BIFÉNOX

Nous allons, maintenant, appliquer les considérations que nous avons définies dans les points 1.0 et 2.0 à un cas concret; le Bifenox.

Le Bifenox est un herbicide découvert par la Société Mobil Chemical et appartenant à présent à Rhône — Poulenc Agrochimie. Il est commercialisé dans différents pays sous le nom de marque Modown. Du point de vue chimique, c'est un herbicide de la famille des diphényléthers. S'agit du méthyl 5 — (2,4 — dichloro-phenoxy) — 2 — nitrobenzoate.

L'objectif de notre travail sera :

1. d'étudier le comportement du Bifenox dans le sol, d'une culture d'orge d'hiver, du point de vue de la persistance dans le sol de ses résidus et d'un de ses métabolites potentiel: le nitrofène, en fonction du temps et de la profondeur;
2. d'évaluer l'efficacité du produit à l'égard des adventices par des observations biologiques;
3. de déterminer l'influence de l'herbicide sur la culture principale.

ÉTUDE EXPERIMENTALE

1.0 LE CHOIX DE LA MÉTHODE DE DOSAGE

La littérature (18) renseigne de nombreuses méthodes pour l'analyse des résidus de pesticides.

Nous n'envisagerons, cependant, que les méthodes pour lesquelles les possibilités techniques et instrumentales pouvaient être mises à notre disposition.

Ainsi nous avons considéré deux méthodes :

1.0 La polarographie impulsionnelle différentielle (P.D.I.)

2.0 La chromatographie en phase gazeuse

1.1 ANALYSE DU PRODUIT PUR

La formation présumée de Nitrofène à partir du Bifénox (19) nous a conduit à envisager une méthode d'analyse qui puisse conduire à la détermination simultanée de la molécule initiale (Bifénox) et de son métabolite potentiel (Nitrofène).

1.1.1 (P.I.D.)

1.1.1.1 La molécule de Bifénox présente un groupement NO_2 réductible dans les conditions d'utilisation de l'électrode à gouttes de mercure. Il est donc possible de recourir à la polarographie différentielle pour l'analyse des résidus de cette molécule.

Des premiers essais ont été entrepris au Centre de Recherches de Phytopharmacie (F.S.A.Gx).

Les conditions opératoires générales utilisées sont les suivantes (20) :

- Analyseur polarographique E.G. Mod. 384
- Electrode à gouttes de mercure statique E.G. Mod. 303
- Mode polarographique: impulsionnel différentiel
- Désaéragé des solutions: N₂ pur pendant 3'
- Electrode de référence: Ag/AgCl/KCl sat
- Amplitude des impulsions: 50 mV
- Balayage des potentiels: 4 mV sec⁻¹
- Soustraction des blancs: oui
- Temps de vie de la goutte de Hg : 1»

Les solutions sont toutes préparées dans un milieu H₂O — méthanol 50/50, contenant les différents milieux de base.

Les caractéristiques polarographiques du Bifénox se trouvent dans le tableau II (20).

TABLEAU II

Concentration en bifénox	Milieu de base	Ed (V)	Ep (V)	i (μA)
10 μg/ml	HCl 0,05 N	-0,00	-0,120	1,010
10 μg/ml	HAc-NaAc 0,25 N	-0,10	-0,440	0,180
10 μg/ml	pH 7	-0,10	-0,336	0,929
10 μg/ml	AmOH-AmCl 0,25 N	-0,10	-0,540	1,006
10 μg/ml	NaOH 0,05 N	-0,10	-0,528	1,220
10 μg/ml		-0,10	-0,784	0,382

Ed : potentiel de départ en Volt

Ep : potentiel au sommet du pic en Volt

I : intensité du pic en μ Ampères

Les milieux de base constitués par AmOH-AmCl 0,25 N ou HAC-NaAc semblent les plus indiqués.

La limite de sensibilité se situe, pour le bifénox vers 0,01 $\mu\text{g/ml}$.

Si on suppose que 25 gr de sol sont extraits par 50 ml de solvant, cette concentration correspond à une détection limite de 0,008 p.p.m., si l'on reprend 25 ml de l'extrait qui, après manipulation sont portés de 10 ml et analysés comme indiqué plus haut.

1.1.1.2 La molécule de Nitrofène, contenant elle aussi un groupement NO_2 , est réductible à l'électrode à gouttes de mercure.

Les possibilités de dosage du Nitrofène par cette méthode ont été examinées par A. COPIN et R. DELEU (21). Les conditions opératoires générales utilisées sont les suivantes :

- Méthanol — Tampon acétique pH 4,6 (V/V)
- Potentiel de $\frac{1}{2}$ vague: — 0,374 V/ESC
- La limite de sensibilité trouvée a été $\pm 0,01 \mu\text{g/ml}$

1.1.2 Chromatographie en phase gazeuse

La possibilité de dosage par C.P.G. du Bifénox et du Nitrofène découle de la présence des groupements NO_2 et Cl. Ainsi, il est possible d'utiliser soit le détecteur à capture d'électrons (E.C.D.) qui présente une grande sensibilité à l'égard des composés polychlorés, soit le détecteur spécifique à l'azote (N.P.S.D.) qui a une très bonne sélectivité à l'égard des dérivés organiques azotés avec, cependant, une moins bonne sensibilité que le détecteur à capture d'électrons.

1.1.2.1 Conditions d'analyse chromatographique

Nous avons essayé l'utilisation de ces deux types de détecteurs pour le dosage du Bifénox et du Nitrofène, soit en solution pure, soit dans les extraits de sol.

Les conditions d'analyse chromatographique et les temps de rétention qui en découlent sont repris dans le tableau III.

TABLEAU III

Conditions Appareil	A Carlo Erba Fractovap n° 4.200	B Carlo Erba Fractovap n° 4.200	C Carlo Erba Fractovap n° 4.160
Colonne			
Type	Remplie	Remplie	Capillaire
Phase	SP2250 (1,5 %)/SP2401 (1,95 %) sur chromosorb 100/120 mesh	SP2250 (1,5 %)/SP2401 (1,95 %) sur chromosorb 100/120 mesh	CP tm -SIL 5CB 12 m
Longueur	1 m	1 m	12 m
Diamètre intérieur	3 mm	3 mm	0,32 mm
Gaz vecteur	Ar/CH ₄ ; 47,9 ml/min	Ar/CH ₄ ; 47,9 ml/min	H ₂
Détecteur	E.C.D.	E.C.D.	N.P.S.D.
Températures			
Injecteur	250° C	250° C	90° C
Détecteur	275° C	275° C	262° C
Colonne	225° C	215° C	ti = 70° C 40° C/min (150° C) 8° C/min (180° C) 8° C/min (220° C)
Enregistreur			
Vitesse dérou- lement du papier	5 mm/min	5 mm/min	5 mm/min
Temps de rétention			
Bifénox	5,0 min	6,5 min	9,9 min
Nitroféne	2,0 min	2,3 min	7,2 min

1.1.2.2 Droite de calibrage du Bifénox

La droite de calibrage a été établie à partir de solutions de Bifénox dans l'hexane. Les conditions de chromatographie sont celles qui sont indiquées dans les conditions de la colonne B du tableau III.

Le graphique de la fig. 1 représente cette droite de calibrage.

A partir de cette droite on peut établir que la limite de sensibilité se situe vers $0,005 \mu\text{g/ml}$ en Bifénox. Si on part de 25 g de sol extraits par 50 ml de solvant, cette limite correspond à une limite de détection d'environ 0,01 ppm.

1.2 COMPARAISON ENTRE LA MÉTHODE POLAROGRAPHIQUE ET LA MÉTHODE CHROMATOGRAPHIQUE

L'analyse polarographique différentielle ne convient pas pour l'analyse de solutions contenant en mélange le Bifénox et le Nitroféne; ces deux composés présentent des potentiels de réduction trop voisins pour être différenciés. Par contre, la chromatographie gazeuse permet la séparation de ces deux composés. Elle sera choisie pour ce motif.

1.3 CHOIX D'UNE MÉTHODE D'ANALYSE — EXTRACTION ET PURIFICATION

Plusieurs essais ont été entrepris en vue d'obtenir un rendement d'extraction au moins égal à 90 %, sans pour autant que cet extrait présente des interférences au dosage chromatographique.

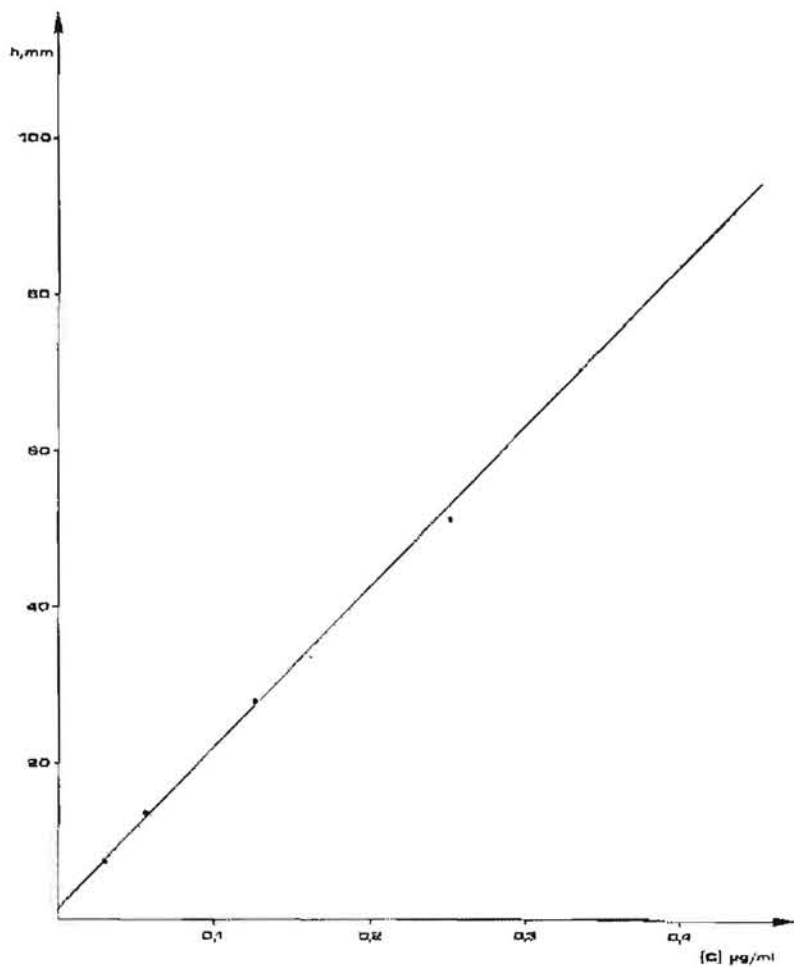


Fig. 1 — Droite de calibrage du Bifénox dans l'hexane.

Technique 1

a. Mode opératoire

- 1.0 Addition de 1 ml d'une solution de Bifénox dans l'acétone (18,8 $\mu\text{g/ml}$) à 25 g de sol blanco humide (22,6 % humidité).
- 2.0 Sèchage à l'air, environ 24 h
- 3.0 Extraction de la matière active par agitation de l'échantillon avec 50 ml d'acétone p.a. pendant 30 min.
- 4.0 Laisser reposer pendant la nuit
- 5.0 Agitation 30 min.
- 6.0 Refroidir dans le frigo environ 3 h
- 7.0 Filtrer sur filtre Schleicher & Schüll 602 eh $\frac{1}{2}$
- 8.0 Prélever 25 ml de la solution filtrée
- 9.0 Evaporation à sec à l'évaporateur rotatif
- 10.0 Faire passer un courant de N_2 pendant 3 min.
- 11.0 Ajouter 1 ml d'une solution contenant du Nitrofène à 7,4 $\mu\text{g/ml}$ (étalon interne) et de l'isopropaline 1,08 $\mu\text{g/ml}$ dans un mélange benzène/toluène (50/50)
- 12.0 Evaporation à sec
- 13.0 Faire passer un courant de N_2 pendant 3 min.
- 14.0 Ajouter 40 ml benzène p.a.
- 15.0 Analyse de la phase benzénique par Chromatographie en phase gazeuse (conditions A et C du tableau III).

Observations :

- Nous avons préparé aussi un blanco.
- La référence est constituée par dilution à 50 ml d'acétone de 1 ml de la solution de Bifénox.

Une quantité de cette solution évaporée et reprise dans le benzène sert de témoin 100 %.

b. Résultats

TABLEAU IV

<i>Rendement en pourcentage de récupération</i>		
Echantillon	C. classique	C. capillaire
1	82,3	76,4
2	86,1	81,1
3	82,5	76,4
4	83,8	68,7
5	86,7	69,1
6	80,7	—
7	82,5	—
8	82,5	—
9	80,7	—
10	80,7	—
	$\bar{x}_1 = 82,8$	$\bar{x}_2 = 74,3$

\bar{x}_1 (moyenne) pour 10 répétitions

\bar{x}_2 (moyenne) pour 5 répétitions

c. Discussion

1.0 Le schéma analytique ne contient pas de stade de purification

2.0 L'observation du tableau IV montre que :

- Les rendements obtenus, soit par chromatographie classique, soit par chromatographie capillaire n'atteignent pas 90 % de la quantité appliquée.

- La reproductibilité des résultats basée sur la seule mesure de hauteur est moins bonne en chromatographie capillaire qu'en chromatographie classique.
- Les faibles rendements obtenus peuvent avoir comme cause :

* le phénomène de volatization éventuel du produit. Néanmoins, la faible tension de vapeur du produit nous permet d'écarter cette possibilité.

* Le phénomène d'immobilisation dû à l'évaporation de l'eau.

L'intensité et l'irréversibilité de l'adsorption des produits est sous la dépendance directe de la teneur en eau. Une diminution de celle-ci accroît l'importance de l'adsorption.

Technique 2

a. Mode opératoire

- 1.0 Addition de 0,5 ml d'une solution de Bifénox dans l'acétone (18,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$) à 25 g de sol humide blanco placé dans un Erlenmeyer
- 2.0 Les échantillons bouchés sont laissés au frigo pendant 24 h
- 3.0 Extraction de la matière active par agitation de l'échantillon avec 50 ml d'acétone p.a. pendant 30 min.
- 4.0 Laisser reposer pendant une nuit
- 5.0 Agitation 30 min.
- 6.0 Refroidir dans le frigo environ 3 h
- 7.0 Filtrer sur un filtre Schleicher & Schüll 602 eh $\frac{1}{2}$
- 8.0 Prélever 15 ml de la solution filtrée
- 9.0 Evaporation à sec à l'évaporateur rotatif
- 10.0 Faire passer un courant de N_2 pendant 3 min.
- 11.0 Ajouter 10 ml d'une solution de nitrofène 0,185 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (étalon interne) dans le benzène

12.0 Agitation pendant 5 min.

13.0 Récupération de la phase benzénique

14.0 Analyse de la phase benzénique par chromatographie en phase gazeuse (Condition A du tableau III).

Observations :

- Nous avons préparé aussi un blanco
- La référence est constituée, par dilution à 50 ml d'acétone de 1 ml de la solution de Bifénox.

Une quantité de cette solution évaporée et reprise dans le benzène, sert de témoin 100 %.

b. Résultats

1.0

TABLEAU V

<i>Rendement en pourcentage de récupération</i>	
Echantillon	C. classique
1	79,9
2	98,7
3	79,0
4	78,0
5	95,8
6	91,5
	$\bar{x} = 87,15$

\bar{x} (moyenne) pour 6 répétitions

c. Discussion

1.0 Les résultats du tableau V montrent un rendement moyen plus élevé que dans l'essai précédent.

2.0 La faible reproductibilité des résultats trouve son origine dans la présence d'une interférence.

Celle-ci se marque par une altération continue du courant de base. Ce qui entraîne une diminution de la hauteur des pics du Bifénox. La technique suivante envisage une purification des extraits. Cette opération tente l'élimination de l'interférence qui empêche la mesure exacte des pics.

Technique 3

a. Mode opératoire

Les points 1 à 7 sont identiques à ceux qui ont été énoncés dans la technique 2.

- 8.0 Prélever 10 ml de la solution filtrée dans un ballon rodé de 100 ml
- 9.0 Ajouter 5 ml d'eau distillée
- 10.0 Evaporation à sec à l'évaporateur rotatif
- 11.0 Faire passer un courant de N_2 pendant 3 min.
- 12.0 Laisser dans le frigo pendant 24 h
- 13.0 Ajouter 10 ml d'une solution de nitrofène $0,185 \mu\text{g/ml}$ en benzène
- 14.0 Agitation pendant 30 min.
- 15.0 Récupération de la phase benzénique
- 16.0 Analyse de la phase benzénique par chromatographie en phase gazeuse (conditions A du tableau III).

Observations

- Nous avons préparé aussi un blanc.
- La référence est constituée par dilution à 50 ml d'acétone de 1 ml de la solution de Bifénox.

Une quantité de cette solution évaporé et reprise dans le benzène, sert de témoin 100 %.

b. Résultats

TABLEAU VI

<i>Rendement en pourcentage de récupération</i>	
Echantillon	C. classique
1	100,0
2	100,0
3	95,5
4	95,5
5	97,7
6	100,0
	$\bar{x} = 99,11$

\bar{x} (moyenne) pour 6 répétitions

c. Discussion

1.0 L'extraction est quantitative

2.0 La reproductibilité des résultats est assurée.

3.0 Cette méthode appliquée à l'extraction du nitrofène conduit à des rendements de récupération $> 90 \%$, d'une façon reproductible.

Technique 4

a. Mode opératoire

Lors de l'analyse de certains prélèvements de sol (22.4.83), la purification établie dans la technique 3, ne semble pas suffisante, voir figure 2.

Pour éliminer l'interférence, nous avons modifié la purification décrite dans la technique 3.

Le mode opératoire jusqu'au point 7 correspond à celui qui est écrit dans la technique 2.

- 8.0 Prélever 25 ml d'extrait dans un ballon rodé de 100 ml
- 9.0 Évaporation à sec à l'évaporateur rotatif
- 10.0 Ajouter 0,5 ml d'acétone p.a., 10 ml d'eau distillée et 10 ml de benzène p.a.
- 11.0 Agitation pendant 30 min.
- 12.0 Récupération de la phase benzénique, après 15 min. de refroidissement dans le frigo
- 13.0 Analyse de la phase benzénique par chromatographie en phase gazeuse (conditions B du tableau III).

b. Discussion

La répétition des analyses de sol après cette méthode de purification a montré que la ligne de base reste stable. Voir figure 3.

La méthode de purification nous semble adaptée et nous allons considérer cette méthode comme valable pour les essais suivants.

Remarque :

Lors de l'analyse des échantillons du sol traité, il est bien évident que le nitrofène que nous recherchons comme éventuel métabolite, ne peut plus être considéré comme étalon interne. Le dosage s'est fait par rapport à une droite de calibrage.

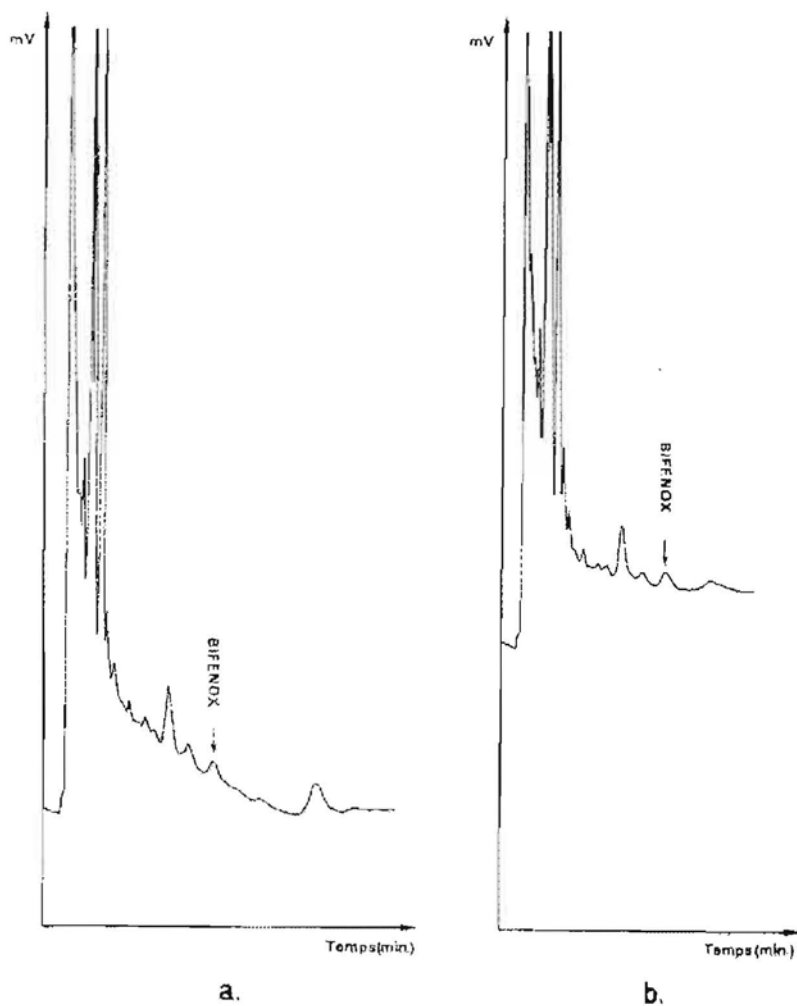


Fig. 2 — Chromatogramme obtenu dans les analyses des échantillons de sol. Profondeur : 10-30 cm. a. $t=0$ b. $t=2\text{ h}$

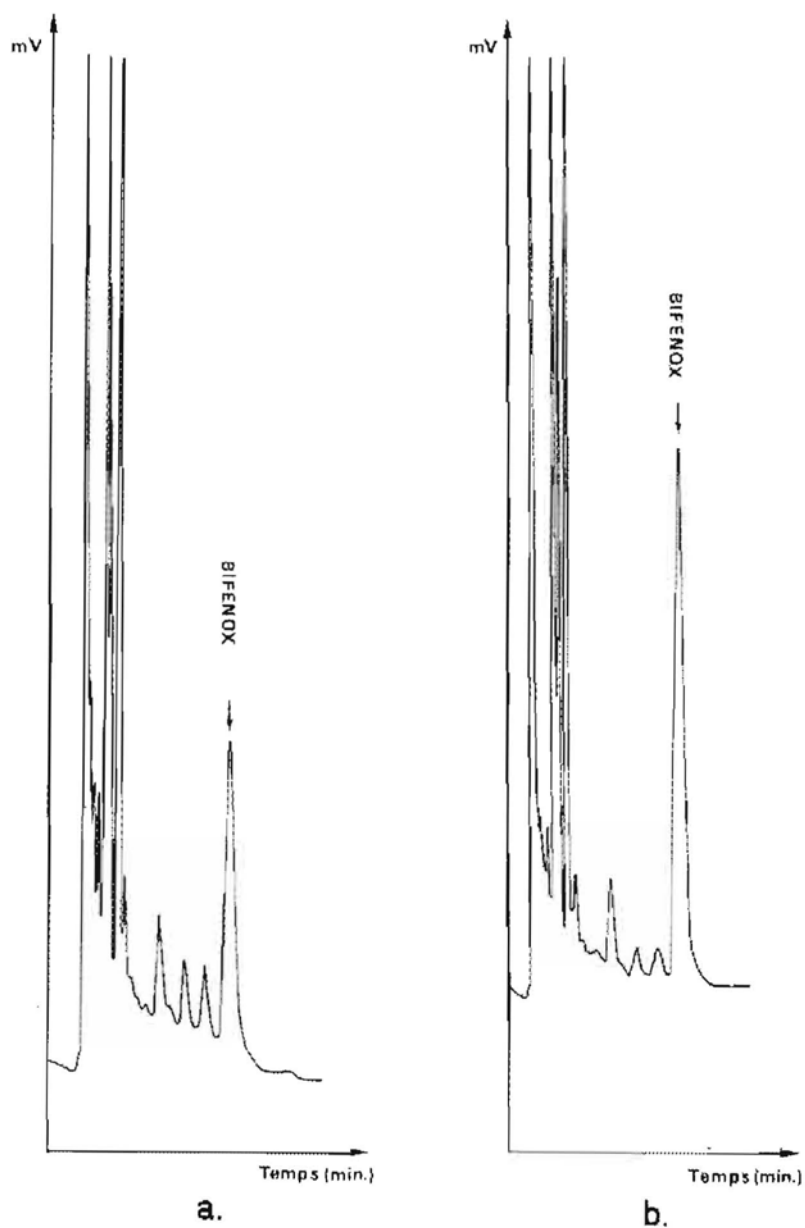


Fig. 3 — Chromatogramme obtenu dans l'analyse des échantillons de sol après purification.
 a. $t = 0$
 b. $t = 2\text{ h}$

2.0 MÉTHODE D'APPLICATION DU PRODUIT

Le Bifénox a été appliqué sous la forme de suspension concentrée (S.C.) à une culture d'orge d'hiver suivant la méthode des blocs aléatoires, en 6 répétitions de parcelles de 3 m × 20 m.

Dans chaque bloc est prévu une parcelle non traitée qui sert de blanco. Chaque parcelle est échantillonnée aux deux profondeurs : 0-10 cm et 10-30 cm.

La localisation, type de sol et conditions d'application sont indiquées dans le tableau VII.

TABLEAU VII

Lieu : Orbais, Province de Namur (Belgique)
Type de sol : limon
Culture : orge d'hiver, var. Gerbel
Date de semis : 29.09.82
Pulvérisation : — en pré-émergence : 04.10.82
— en post-émergence : 10.11.82
Nombre de passages du pulvérisateur : 1
Quantité de produit par passage du pulvérisateur :
— Dose simple : 1,67 l/ha
— Dose double : 3,33 l/ha
Dosage : — dose simple : 800 g/ha en M.A.
— dose double : 1 600 g/ha en M.A.

R e m a r q u e :

Nous avons travaillé sur les parcelles qui correspondent à la pré-émergence pour les analyses chimiques. Par contre, les observations biologiques se rapportent aux deux modes d'application.

3.0 MÉTHODES D'ANALYSE

3.1 *Analyse Biologique — estimation de l'efficacité et sélectivité du Bifénox*

L'action du Bifénox et sa sélectivité est faite sur une estimation visuelle suivant une échelle logarithmique de cotation proposé par le Comité des Méthodes de l'European Weed Research Council.

Dans la cotation, on peut distinguer :

1° Sur les mauvaises herbes:

- a. Comptages
- b. Observations visuelles

2° Sur la culture:

Observations visuelles

3.1.1. *Efficacité du Bifénox*

Suivant l'échelle logarithmique, ainsi:

- 1 = absence de mauvaises herbes
- 9 = envahissement comparable à celui des parcelles témoins

3.1.2 *Action sur la céréale*

Suivant l'échelle logarithmique, ainsi :

- 1 = état végétatif comparable aux parcelles témoins
- 9 = destruction totale de la culture

3.2 *Analyse des dépôts initiaux*

Dans chacune des parcelles, ont été placés sur un papier filtre, pour éviter les éventuels rejaillissements de la bouillie, 4 groupes de 3 lamelles couvre-objets en verre. La surface totale de trois plaquettes est de 43,2 cm².

Sans attendre l'évaporation du véhiculant, les plaques sont recueillies par groupes de trois dans des flacons d'extraction

La matière active présente dans le dépôt est mise en solution par agitation dans 15 ml d'une solution de toluène contenant 14,8 µg/ml de nitroféne.

La solution est analysée par chromatographie en phase gazeuse en colonne remplie et avec un détecteur N.P.S.D.

3.3 *Analyse des résidus*

L'analyse des résidus a été faite suivant la méthode mise au point dans le point 1.3.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1.0 ANALYSE BIOLOGIQUE — ESTIMATION DE L'EFFICACITÉ DU BIFÉNOX ET DE SA SÉLECTIVITÉ

1.1 *Efficacité herbicide*

Environ 7 semaines après les traitements de pré-émergence (le 23.11.82), on procéda d'un dénombrement des mauvaises herbes.

Ce comptage a été effectué dans trois aires de un tiers de m² par parcelle; celles-ci sont délimitées au moyen d'un cadre mobile avec un tiers de m² placé au hasard dans la parcelle.

Les chiffres moyens trouvés dans les 6 répétitions et ramenés au m² sont représentés dans le tableau VIII.

En plus, l'action herbicide du produit a été observée à plusieurs reprises.

1.2 *Action sur les céréales*

L'action sur la céréale a été contrôlé à différentes dates est estimée suivant la même échelle logarithmique indiquée au point 1.1.

Les cotations sont indiqués dans le tableau IX.

TABLEAU VIII
Efficacité herbicide

Produits ⁽¹⁾	Doses appliquées 1/ha (dil. dans 360 l d'eau)	Dénombrement des plantes adventices au m ²									
		Stellaria media	Ranunculus arvensis	Capsella bursa-pastoris	Matricaria chamomilla	Alchemilla arvensis	Galium opertine	Lamium amplexicaule	Total des dicotylées	Alopecurus agrestis	Total général
SC 480 g/l Bifénox	16,7	4,7	0,2	0	0	0	0	0	4,9	0	4,9
SC 480 g/l Bifénox	3,33	7,7	0	0	0	0	0	0	7,7	0,2	7,9
Témoin	—	9,2	8,3	0,8	0,7	0,7	0,7	0,2	20,6	0,2	20,8

(1) Appliqué le 04.10.82 en pré-émergence, après 3,5 l/ha d'une S.C. 500 g/l chlortoluron.

1.3 Rendements de la récolte

La récolte fut effectuée parcelle par parcelle à la moissonneuse-batteuse. Dans chaque parcelle, il était récolté en un seul passage, une surface égale à la longueur de la parcelle multiplié par la largeur de la barre de coupe (19 m \times 2,80 m) soit une surface totale de 53,2 m².

Les rendements furent rapportés en kg/ha (voir tableau IX).

Le calcul statistique des résultats a été effectué. Le coefficient de variation est de 4,72 %. Il ressort de ces calculs qu'il n'y a pas de différences significatives lorsque l'on compare entre eux les différents rendements obtenus.

1.4 Discussion

1.4.1 Efficacité herbicide

Il ressort de ces comptages et observations que la suspension concentrée contenant par litre 480 g de Bifénox appliqué en pré-émergence et en post-émergence préhivernale (le 10.11.82 au stade D de la culture) aux doses de 1,67 l/ha et 3,33 l/ha ne possède aucune efficacité herbicide à l'égard de *Stellaria media*, mauvaise herbe présente en grand nombre dans l'essai.

Lorsque le Bifénox est appliqué aux mêmes doses au printemps (13.04.83 au stade HI de la culture) son action à l'égard de cette espèce est meilleure (22).

A l'égard des autres dicotylées présentes dans l'essai et à l'égard d'autres dicotylées représentées dans cet essai le Bifénox possède une efficacité très satisfaisante.

Vis-à-vis des graminées (*Alopecurus agrestis*, *Avena fatua*) le Bifénox ne possède aucune action.

TABLEAU IX
Comportement biologique du Bifénox

Produits (1)	Date du traitement	Stade au moment du traitement	Doses appliquées dil. dans 360 l eau/ha	Etat de propreté des parcelles			Etat végétatif de la céréale					Rendements récoltés 15.7.83	
				Date			Date					Rendements moyens kg/ha	Rendements comparés au témoin
				18.12.82 Stade E (2) Dicot.	13.04.83 Stade H Dicot.	29.04.83 Stade K Dicot.	16.10.82 Stade CD	18.11.82 Stade E	23.12.82 Stade F	13.04.83 Stade H	29.04.83 Stade K		
S.C. à 480 g/l de Bifénox	04.10.82	Pré-émerg.	1,67	4,8	6,8	8,0	1,0	1,7	1,0	1,0	1,0	7.879	100,5
S.C. à 480 g/l de Bifénox	04.10.82	Pré-émerg.	3,33	4,5	6,5	7,8	1,0	3,0	1,0	1,0	1,0	7.689	98,1
S.C. à 480 g/l de Bifénox	10.11.82	D	1,67	—	6,5	8,0	—	4,0	1,0	1,0	1,0	7.975	101,7
S.C. à 480 g/l de Bifénox	10.11.82	D	3,33	—	5,5	6,7	—	6,0	1,0	1,0	1,0	8.252	105,3
S.C. à 180 g/l de Bifénox + 420 g/l MCPP	13.04.83	HI	4,25	—	—	4,7	—	—	—	—	1,7	8.238	105,1
S.C. à 180 g/l de Bifénox + 420 g/l MCPP	13.04.83	HI	8,50	—	—	3,7	—	—	—	—	1,0	8.351	108,5
Témoin				9	9	9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	7.839	100,0

(1) Appliquées après 3,5 l/ha d'une S.C. 500 g/l chlortoluron en pré-émergence le 04.10.82.

(2) D'après l'échelle phénologique élaboré par W. FEEKES.

1.4.2 Action sur la céréale

Il ressort de ces observations que, lors des observations du 18.11.82, des dégâts ont été observés. Ils sont faibles pour les applications de pré-émergence et se caractérisaient par un retard de croissance et un aspect moins dense de la culture. Par contre, pour les applications réalisées en post-émergence le 10.11.82, les dégâts étaient plus graves et se caractérisaient par de nombreuses nécroses blanches dans les feuilles.

Dans les deux cas, ces dégâts ont été temporaires et lors des observations réalisées un mois plus tard (23.12.82) ils n'étaient plus visibles.

2.0 ANALYSE DES DÉPÔTS INITIAUX

2.1 Les résultats obtenus selon la méthode indiquée dans le point 3.2, sont représentés dans les tableaux X et XI

TABLEAU X

Dosage de la matière active dans les dépôts initiaux

Doses appliquées M.A., g/ha	800	1 600
Echantillons	Matière active $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	
A10 (I)		8,70
A10 (II)		7,94
A10 (III)		7,62
A10 (IV)		14,93
C10 (I)		11,60
C10 (II)		12,20
C10 (III)		12,52
C10 (IV)		11,78
E10 (I)		19,03
E10 (II)		24,41
E10 (III)		9,19
E10 (IV)		—
A 9 (I)	—	
A 9 (II)	2,10	
A 9 (III)	3,09	
A 9 (IV)	4,05	
C 9 (I)	5,83	
C 9 (II)	6,76	
C 9 (III)	6,55	
C 9 (IV)	7,63	
E 9 (I)	6,66	
E 9 (II)	9,00	
E 9 (III)	7,16	
E 9 (IV)	5,48	

TABLEAU XI

*Teneurs moyennes pour chaque groupe de lamelles
et pour chaque dose*

<i>Echantillons</i>	<i>Teneurs moyennes, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$</i>
A10	9,80
C10	12,03
E10	17,80
A 9	4,75
C 9	6,69
E 9	7,08
Dose simple (A9, C9, E9)	6,30
Dose double (A10, C10, E10)	2,72

2.2 Discussion

- a. Les teneurs moyennes trouvées dans le tableau XI correspondent

Dose simple — 630 g/ha M.A.

Dose double — 1 272 g/ha M.A.

- b. Pour la dose simple les quantités retrouvées de Bifénox représentent en moyenne 78,75 % les quantités théoriques.

Pour la dose double les quantités retrouvées de Bifénox représentent en moyenne 79,50 % des quantités théoriques.

3.0 ANALYSE DES RÉSIDUS

3.1 Les résultats des analyses de résidus de Bifénox dans le sol sont repris dans les tableaux XII et XIII. L'extraction de chacun des prélèvements 0-10 cm a été réalisée en double.

L'analyse de chacun des extraits est elle-même répétée. Ainsi donc, 4 résultats sont associés à l'horizon supérieur de chacune des parcelles.

Par contre, pour l'horizon inférieur (10-30 cm) une seule extraction et une seule analyse ont été effectuées pour la date du 22.4.83.

Pour le 26.6.83, l'extraction a été analysée en double.

TABLEAU XII

(Teneur en Bifénox dans le sol (ppm sur la matière sèche)
 (prélèvement effectué le 22.4.83) limite de détection
 de la méthode (Ld) = 0,002 ppm

Doses appliquées M.A. g/ha	800		1 600	
	Profondeurs		Profondeurs	
Echantillons	0-10 cm	10-30 cm	0-10 cm	10-30 cm
A10				0,003
A10 (1)			0,031	
			0,031	
A10 (2)			0,056	
			0,056	
C10				Ld
C10 (1)			0,098	
			0,098	
C10 (2)			0,098	
			0,090	
E10				Ld
E10 (1)			0,060	
			0,062	
E10 (2)			0,064	
			0,068	
A 9		Ld		
A 9 (1)	0,022			
	0,020			
A 9 (2)	0,022			
	0,020			
C 9		Ld		
C 9 (1)	0,018			
	0,016			
C 9 (2)	0,016			
	0,020			
E 9		Ld		
E 9 (1)	0,040			
	0,038			
E 9 (2)	0,028			
	0,028			

TABLEAU XIII

Teneur en Bifénoxy dans le sol (ppm sur la matière sèche)
 (prélèvement effectué le 26.6.83). Limite de détection
 de la méthode (Ld) = 0,002 ppm

Doses appliquées M.A. g/ha	800		1 600	
	0-10 cm	10-30 cm	0-10 cm	10-30 cm
	Profondeurs			
	Echantillons			
A10				0,003 0,004
A10 (1)			0,033 0,033	
A10 (2)			0,035 0,034	
C10				Ld Ld
C10 (1)			0,084 0,084	
C10 (2)			0,120 0,116	
E10				< Ld < Ld
E10 (1)			0,022 0,020	
E10 (2)			0,018 0,018	
A 9		< Ld < Ld		
A 9 (1)	0,006 0,006			
A 9 (2)	0,006 0,006			
C 9		< Ld < Ld		
C 9 (1)	0,010 0,009			
C 9 (2)	0,008 0,008			
E 9		< Ld < Ld		
E 9 (1)	0,012 0,012			
E 9 (2)	0,018 0,017			

3.2 Discussion

L'observation des tableaux montre que :

- a. Le Bifénox reste totalement fixé dans les 10 premiers cm de sol.
- b. Il faut cependant remarquer :
 - Les concentrations trouvées pour la dose simple et pour la dose double ne sont pas dans un rapport 1 : 2;
 - Une certaine irréproductibilité se marque surtout au niveau des résultats de la dose double.

A notre avis, ces deux constatations peuvent trouver leur origine dans une certaine irrégularité constatée dans les dépôts initiaux.

En effet, l'observation du tableau XI, montre que pour les échantillons C10, les teneurs moyennes retrouvées sont plus élevées que dans la parcelle A10.

- En plus de la variabilité entre parcelles, il faut constater une certaine dispersion des résultats à l'intérieur d'une même parcelle. Le cas le plus frappant consiste dans la parcelle C10 du 26.6.83.

Les répétitions sur le même extrait sont excellentes, mais les résultats entre 2 échantillons divergent.

Ce manque de reproductibilité, trouve son origine dans les difficultés rencontrées à l'homogénéisation d'un sol humide.

Il semble qu'une étude particulière devrait être entreprise sur la manière de conditionner un sol, en vue de son homogénéisation.

- c. Les valeurs des résidus retrouvées pour l'horizon 10-30 cm ne sont pour aucun des deux prélèvements significativement différentes de la limite de sensibilité de la méthode; 0,002 p.p.m. Ce produit n'a donc pas dépassé les 10 premiers cm de profondeur.
- d. En ce qui concerne la présence de nitrofène, les résultats des analyses montrent que, s'il existe, il se trouve à une teneur inférieure à la limite de détection de la méthode c'est-à-dire 0,002 p.p.m.

CONCLUSIONS

1.0 En ce qui concerne, l'efficacité du Bifénox, l'analyse biologique montre que le Bifénox appliqué sous la forme d'une suspension concentrée, contenant 480 g/l, après une suspension concentrée contenant 500 g/l de chlortoluron, en préémergence et en postémergence préhivernale en mélange avec MCPP aux doses de 1,67 l/ha et 3,33 l/ha, ne possède aucune efficacité herbicide à l'égard de *Stellaria media*, mauvaise herbe présente en grand nombre dans l'essai. Par contre il possède une bonne efficacité sur les autres dicotylées présentes dans cet essai.

2.0 En ce qui concerne la phytotoxicité du Bifénox nous allons considérer :

a. Analyse biologique

Pour les applications de préémergence les dégâts sont faibles et se caractérisaient par un retard de croissance et un aspect moins dense de la culture. Pour les applications en post-

émergence les dégâts sont plus grands et se caractérisaient par de nombreuses nécroses dans les feuilles. Ces dégâts n'ont pas été visibles dans les parcelles traitées au printemps avec Bifénox en mélange le Mécoprap.

De toute façon, dans deux cas, ces dégâts ont été temporaires et, plus tard, ils n'étaient plus visibles et on peut dire que le Bifénox présente un effet phytotoxique temporaire vis-à-vis de la céréale étudiée. En plus, ces dégâts n'ont pas influencés les rendements de la récolte.

b. *Analyse chimique*

1.0 Sur base des observations biologiques de l'orge d'hiver, il est permis d'avancer que les résidus trouvés dans le sol le 22.4.83 et le 26.6.83 n'ont aucun effet phytotoxique sur cette même céréale.

Il est, cependant, intéressant de faire la comparaison avec d'autres herbicides (pendiméthaline et trifluraline) qui ont été étudiés sur la même culture et pendant la même période.

Ces herbicides ont été appliqués le 4.10.83 aux doses :

Stomp : dose simple 2,5 l/ha à 330 g/l en M.A. (Pendiméthaline)
dose double 5 l/ha

Tréflan: dose simple 1,5 l/ha à 480 g/l en M.A. (Trifluraline)
dose double 3 l/ha

cette étude a été entreprise aux profondeurs (0-5/5-10 et 10-30 cm).

Les résultats des analyses de résidus reportés par calcul sur les 0-10 cm, sont repris dans le tableau XIV (3).

TABLEAU XIV

Teneurs en trifluraline et pendiméthaline dans le sol (ppm sur la matière sèche) (prélèvement effectué le 27.6.83)

Dose		Simple	Double
Profondeurs		0-10 cm	0-10 cm
Produit			
Trifluraline	A ₃	0,085	
		0,085	
	C ₃	0,100	
		0,95	
	E ₃	0,070	
		0,065	
	A ₄		0,135
			0,130
		0,135	
		0,150	
		0,070	
		0,070	
Pendiméthaline	A ₁	0,100	
		0,110	
	C ₁	0,065	
		0,080	
	E ₁	0,050	
		0,050	
	A ₂		0,290
			0,310
		0,350	
		0,330	
		0,170	
		0,190	

L'observation du tableau XIV montre :

1. Dose simple

Que pour le profil cultural 0-10 cm les teneurs trouvées soit pour la trifluraline, soit pour la pendiméthaline sont supérieures aux teneurs trouvées pour le Bifénox pour le même profil.

2. Dose double

— Que pour le profil cultural 0-10 cm les teneurs trouvées soit pour la trifluraline, soit pour la pendiméthaline sont supérieures aux teneurs trouvées par le Bifénox pour le même profil.

Il semble, donc, que par rapport au Bifénox la permanence dans le sol de la trifluraline et de la pendiméthaline soit plus grande.

— Cependant, il y aurait peut-être intérêt à continuer cette étude pour déterminer si ces résidus de Bifénox peuvent avoir une action phytotoxique sur une culture suivante.

— Il y a lieu de remarquer que l'étude de la métabolisation du Bifénox est incomplète. Nous n'avons recherché que le nitro-fène dont nous avons la matière active à l'état pur.

Il y aurait lieu d'entreprendre la recherche des autres métabolites indiqués dans la littérature (24) notamment le 5 — (2,4 dichlorophenoxy) — 2 — nitrobenzoi: acid et le 5 — (2,4 dichlorophenoxy) antranillic acid.

— Enfin, l'étude des résidus de Bifénox a été limitée au sol. Dans le cadre d'un travail ultérieur, il y aurait lieu d'envisager la présence de cet herbicide dans le végétal (pailles-graines).

REMERCIEMENTS

Cet'étude a été réalisé à la chaire de chimie analytique Faculté des Sciences Agronomiques de l'État, Gembloux, Belgique.

L'auteur adresse ses remerciements à Monsieur le Professeur P. Nangiot qui l'a accueilli dans son laboratoire et tout spécialement, au Dr. A. Copin, qui a suggéré le thème de ce travail et aussi a donné l'aide scientifique et technique qui a été tellement précieuse.

BIBLIOGRAPHIE

1. Edwards, C. A., *Environmental Pollution by Pesticides*, Plenum Press, 1976.
2. Matsumura, F., *Toxicology of Insecticides*, Plenum Press, 1976.
3. Lichtenstein, E. P., *Environmental Factors Affecting Fate of Pesticides*, Presented at the Conference on «Degradation of Synthetic Organic Molecules», National Research Council San Francisco, California, June 12-13, 1971.
4. Henriot, J. *et al.*, Le problème des résidus de pesticides pour le consommateur et l'environnement, *Revue de l'Agriculture* 32, 2 (1979).
5. Copin, A., *Dégradation Chimique des Herbicides*, Institut d'Agriculture Méditerranéenne — Saragosse, 22-27 septembre (1980).
6. Jamet, P., Le comportement des produits agropharmaceutiques dans le sol, *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 28, 87 (1970).
7. Van Bladel, R. et Moreale, A., Comité de Recherche sur les échanges dans le système sol-eau (C.R.E.S.S.E.). Rapport d'Activités, Convention 3784 A (1983).
8. Calvet, R., *Dynamique des herbicides dans les sols; Aspects Physiques et physico-chimiques*, Institut d'Agriculture Méditerranéenne — Saragosse, 2-24 septembre (1980).
9. Calvet, R. *et al.*, *Les herbicides et le sol*, Columa, 1977.
10. Calvet, R., *Mise au point bibliographique. Adsorption des pesticides par les sols et leurs constituants*, *Ann. Agron.* 31 (1), 33; (2) 125; (3) 413 et 385 (1980).
11. Haque, R., Freed, V. H., *Environmental Dynamics of Pesticides*, Plenum Press, 1975.

12. Kearney, P. C., Kaufman, D. D., *Herbicides 1*, Marcel Dekker, Luc, 1975.
13. Baldwin, B. C., *Xenobiotic Metabolism in Plantes*. Imperial chemical Industries Ltd, (Plant Protection Division), Jealott's Hill Research Station, Bracknell, Berkshire RG 126 EY, U.K.
14. Hill, I. R., Wright, J. L., *Pesticides Microbiology*, Academic Press, 1978.
15. Bifenox, Rapport Technique, Rhône-Poulenc Agrochimie.
16. Prove, P., Qu'est-ce que le Bifox ?, *La défense des végétaux*, (2), 19, janvier-février (1983).
17. Bifox, Rapport Technique, Société Elanco.
18. Gould, R.F., Editeur, *Pesticides Identification at the residue Level*. *Advances in Chemistry Series 104*, American Chemical Society, 1975.
19. Rouchaud, J. Meyer, J. A., *New Trends in the studies about the metabolism of pesticides in plants*, *Residue Reviews*, 82, 1 (1982).
20. Centre de Recherches de Phytopharmacie — Rapport d'Activités, convention D 1/4 — 4617/3281 A (1980-1982).
21. Copin, A., Deleu, R., *Travaux personnels*.
22. Salembier, J. F., Gomand, M., *Communication Personnelle*.
23. Copin, A., Deleu, R., *Communication Personnelle*.
24. Leather, G. R., Foy, C. L., *Metabolism of Bifenox in soil and plants*, *Pesticides Biochemistry and Physiology*, 7, 437-442, (1977).