



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة باجي مختار - عنابة

Université BADJI Mokhtar - Annaba

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat

Spécialité : Biologie

En

Protection, Conservation et Valorisation des Ressources Naturelles

Intitulée

**Impact de la pollution par les pesticides sur la
qualité des terres agricoles**

Présentée par

Mademoiselle TAHAR Wafa

Membres du jury

Président	Mr. LAIFA Aziz	Professeur	Université de Annaba
Directrice de thèse	Mme BORDJIBA Ouahiba	Professeur	Université de Annaba
Examinateur	Mr. BENSALD Rabah	Professeur	Université de Skikda
Examinateur	Mr. DJAMAI Rachid	Professeur	Université de Annaba
Examinatrice	Mme. GRARA Nedjoud	M.C.A	Université de Guelma

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

Après quatre années de recherche scientifique ...je voudrais profiter, chers lecteurs, de ces lignes pour remercier toutes les personnes qui ont fait de cette expérience un très bon souvenir.

*Tout d'abord, je tiens à remercier ma directrice de thèse professeure madame **BORDJIBA Ouahiba** qui m'a fait confiance .Merci pour la grande liberté qu'elle m'a laissé afin de réaliser ce travail, tout en restant à l'écoute et en veillant à ce que cette thèse se déroule dans de bonnes conditions .*

Je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude pour sa disponibilité pour répondre à mes interrogations et mes incertitudes, pour le temps consacré aux corrections du manuscrit (même durant ses vacances !) et pour son enthousiasme, sa gentillesse et sa bonne humeur.

*J'adresse mes remerciements à l'ensemble des membres du jury: Monsieur **LAIFA Aziz** responsable de la formation doctorale et président du jury, Messieurs **DJAMAI Rachid** et **BENSAID Rabah** et Madame **GRARA Nedjoud** qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir y participer en tant qu'examineurs à l'évaluation de ce travail.*

*Ce travail de recherche n'a été possible que grâce au soutien matériel et humain de trois laboratoires : le laboratoire de Biologie Végétale et Environnement du professeure **SERIDI Ratiba**, qu'elle trouve ici un grand merci, le laboratoire Sols et Développement Durable du professeur **BENSLAMA Mohamed** et le laboratoire d'Amélioration Génétique des Plantes du professeur **BRINIS Louhichi**. Je remercie beaucoup ces trois professeurs.*

Je tiens également, à remercier:

- *Monsieur **ABDELMADJID Sadek** professeur et agriculteur qui a mis à ma disposition les deux molécules de pesticide: le Tachigazole et le Gésagard.*
- *Monsieur **KHIROUNI Moufid** pour les analyses d'échantillons de sol effectuées au laboratoire de FERTIAL.*
- *Monsieur **SAOUDI Adel** pour l'aide à la mise en forme du présent travail.*

Enfin, je remercie tous mes enseignants qui ont contribué à ma formation durant les trois cycles (licence, mastère et doctorat).

*Un diplôme de licence, puis un diplôme de Mastère 2 et enfin...un diplôme de doctorat 3^{ème} cycle... .Tout un rêve qui s'est concrétisé au département de biologie de l'université **BADJI Mokhtar** d'Annaba.*

Pour finir, c'est à mes parents et mes frères que je pense leur amitié, leurs encouragements, leur soutien, leurs conseils judicieux et surtout leur grand amour m'ont permis de surmonter toutes sortes de difficultés. Ils ont cru en moi. Mes parents ont su être toujours présents à mes côtés même durant les moments difficiles.

Et si j'ai réussi aujourd'hui c'est grâce à eux. Ce travail leur est dédié....

Que chacun trouve ici le cordial merci qui lui revient !

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

RESUMES 1

INTRODUCTION 4

CHAPITRE1 : APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

1. PARTIE 1 : LA FERTILITE DU SOL 7

1.1. Définition 7

1.2. Types de fertilités 7

1.2.1. La fertilité biologique 7

1.2.2. La fertilité chimique 9

1.2.3. La fertilité physique 11

1.3. Dégradation des sols 13

1.3.1. L'appauvrissement de la diversité biologique 14

1.3.2. Porosité des sols 15

1.3.3. L'érosion 16

2. PARTIE 2 : GENERALITES SUR LES PESTICIDES 18

2.1. Définition 18

2.2. La consommation mondiale des pesticides 20

2.3. Commercialisation des pesticides en Algérie 21

2.4. Classification des pesticides 22

2.4.1. Classement selon la cible visée 22

2.4.2. Classification selon la nature chimique de la molécule 23

2.5. Présentation commerciale des pesticides 25

2.6. Réglementation en vigueur pour l'utilisation des produits phytosanitaires :
Homologation 26

2.7. Devenir des pesticides dans le sol	26
2.7.3. Volatilisation	27
2.7.4. Rétention	28
2.7.5. Persistance ou rémanence	29
2.7.6. Dégradation chimique	30
2.7.7. Biodégradation par les micro-organismes	31
2.7.8. La bioaccumulation	31
2.7.9. Stabilisation des pesticides sous forme de résidus non extractibles	33
2.8. Propriétés physico-chimiques des pesticides	34
2.8.1. Pression de vapeur ou tension de vapeur	34
2.8.2. Constante de Henry	34
2.8.3. Solubilité dans l'eau ou dans les solvants organiques	35
2.8.4. Coefficient de partage octanol/eau (P)	35
2.8.5. Vitesse d'hydrolyse	35
2.8.6. Vitesse de photolyse	35
2.8.7. Dissociation dans l'eau (pKa)	35
2.8.8. Dose létale 50 (DT50)	36
2.8.9. Koc et Kd	36
2.9. Toxicité Des Pesticides	37
2.9.1. Effets des pesticides sur le sol	37
2.9.2. Effets des pesticides sur L'eau	39
2.9.3. Effetsdes pesticides sur L'atmosphère	39
2.9.4. Effets des pesticides sur la plante	40
2.9.5. Effets des pesticides sur la faune	43
2.9.6. Effets des pesticides sur la microflore microbienne	44
2.10. Effets des pesticides sur l'homme	45
2.11. Comment tester la toxicité d'un pesticide	45
2.12. Les facteurs influençant la toxicité des pesticides	46

**CHAPITRE 2. EFFETS DESPESTICIDES SUR LA FERTILITE DU SOL.
EVALUATION DES INDICATEURS PHYSIQUES, CHIMIQUES ET
BIOLOGIQUES**

1. Introduction	47
2. Matériel et méthodes	48

2.1. Présentation du site de prélèvement des échantillons de sol	48
2.1.1. Les facteurs géologiques	49
2.1.2. Les facteurs climatiques	49
2.1.3. La végétation	50
2.2. Prélèvement du sol	50
2.3. Dispositif expérimental	50
2.4. Les pesticides	52
2.4.1. Hymexazole	52
2.4.2. Prométryne	53
2.4.3. Deltaméthrine	54
2.5. Détermination des paramètres physiques et chimiques du sol	55
2.6. Détermination des paramètres biologiques du sol	56
2.6.1. Dénombrement de la microflore du sol	56
2.6.2. Quotient respiratoire	57
2.7. Analyse des paramètres biochimiques	58
2.7.1. Dosage de la phosphatase acide et de la phosphatase alcaline	58
2.7.2. Dosage de la déshydrogénase	58
2.8. Analyses statistiques	58
2.8.1. Analyse de la variance à un critère de classification	59
2.8.2. Test de TUCKEY	59
2.8.3. Test de DUNNETT	59
3. Résultats et discussion	59
3.1. Paramètres physiques et chimiques du sol	59
3.2. Evaluation quantitative de la biomasse microbienne totale	71
3.3. Evaluation qualitative de la biomasse microbienne	73
3.4. Dosage du quotient respiratoire	74
3.5. Détermination des activités enzymatiques : phosphatases acide et alcaline, déshydrogénase	76
3.6. Discussion	81
Conclusion	86

**CHAPITRE 3. LES TRAITEMENTS DU SOL PAR LES PESTICIDES ET LEURS
INCIDENCES SUR LA PLANTE (*TRITICUM DURUM*).
EVALUATION DE QUELQUES BIOMARQUEURS
BIOCHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES**

1. Introduction	87
2. Matériel et méthodes	88
2.1. Objectifs	88
2.2. Principe	88
2.3. Matériel végétal	89
2.4. Méthodes	89
2.4.1. Evaluation quantitatives des pigments chlorophylliens	89
2.4.2. Evaluation quantitatives des glucides solubles totaux	89
2.4.3. Evaluation quantitative des protéines solubles totales	90
2.4.4. Evaluation quantitative de la proline	91
2.4.5. Calcul de la faculté germinative des semences in situ	92
2.4.6. Analyses statistiques	92
2.5. Résultats et discussion :	92
2.5.1. Evaluation du taux de la germination des semences in situ dans (le sol)	92
2.5.2. Evaluation quantitative et des pigments chlorophylliens	93
2.5.3. Evaluation quantitatives des glucides solubles totaux	94
2.5.4. Evaluation quantitative des protéines solubles totales	95
2.5.5. Evaluation quantitative de la proline	95
2.5.6. Discussion	96
Conclusion	100
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	102
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	105
ANNEXES	123

Liste des abréviations

Symbole	Intitulé
D	Dose
D1	Dose une
D2	Dose deux
D3	Dose trois
T	Témoin
H	Herbicide
F	Fongicide
I	Insecticide
DH1	Dose une de l'herbicide
DH2	Dose deux de l'herbicide
DH3	Dose trois de l'herbicide
DI1	Dose une de l'insecticide
DI2	Dose deux de l'insecticide
DI3	Dose trois de l'insecticide
DF1	Dose une du fongicide
DF2	Dose deux du fongicide
DF3	Dose trois du fongicide

Liste des tableaux

Numéro	Chapitre 1	Page
1.1	Commercialisation des pesticides en Algérie	22
1.2	Les différentes familles des pesticides selon leurs natures chimiques	24
1.3	Rémanence de quelques pesticides dans le sol	30
Numéro	Chapitre 2	Page
2.1	Paramètres, techniques et appareillages utilisés en expérimentation	56
2.2	Evaluation qualitative de la microflore de l'insecticide	75
2.3	Evaluation qualitative de la microflore du fongicide	75
2.4	Evaluation qualitative de la microflore de l'herbicide	76
Numéro	Chapitre 3	Page
3.1	Evaluation du taux de germination des semences in situ dans (le sol)	92

Liste des figures

Numéro	Chapitre 1	Page
1.1	Marché mondiale des pesticides	21
1.2	Devenir des pesticides dans l'environnement	24
1.3	Bioaccumulation des DDT en écosystème aquatique	32
Numéro	Chapitre 2	page
2.1	Carte géologique du massif de l'édough	49
2.2	Schéma du dispositif expérimental	52
2.3	Structure chimique de l'hymexazole	53
2.4	Structure chimique de la prométryne	54
2.5	Structure chimique de la deltaméthrine	55

RESUME

L'objectif de cette thèse est l'estimation de l'impact de l'emploi répété de trois doses (dose au champ, 1/5ème de la dose au champ et 10 fois la dose au champ) de trois pesticides (hyméxazole, prométryne, deltaméthrine) sur la fertilité du sol. La qualité du sol a été évaluée grâce à trois approches méthodologiques, chimiques, biologiques et biochimiques. Nous avons choisi des indicateurs et des bioindicateurs simples et composites (éléments nutritifs majeurs et secondaires, matière organique, rapport C/N, biomasse microbienne, quotient respiratoire, enzymes de fertilité). L'approche biochimique a été étendue à la qualité de la plante (*Triticum durum*) afin de vérifier l'effet du sol traité sur la croissance au travers de quelques biomarqueurs biochimiques (pigments chlorophylliens, protéines solubles totales, glucides solubles, proline).

Les analyses du sol révèlent une augmentation des taux de la plupart des paramètres physico-chimiques du sol au cours de la 3ème année sauf pour l'azote où la situation est inversée. D'une manière générale, il n'y a pas de corrélation positive entre l'augmentation des doses-pesticides et les valeurs des éléments quantifiés. Les cinétiques montrent d'importantes fluctuations et notamment pour l'insecticide. Il y a une bonne concordance entre la biomasse microbienne totale, le quotient respiratoire et le rapport C/N avec une augmentation au cours de la 1ère année et une baisse à la fin de la 3ème année. L'activité déshydrogénasique est inhibée par la présence des pesticides à toutes les doses des trois pesticides testés tandis que les phosphatase acide et alcaline sont au contraire stimulées et parfaitement corrélées avec les autres bioindicateurs du sol.

Concernant la plante de *Triticum durum*, il y a une grande variabilité dans les valeurs de tous les biomarqueurs dosés. Les teneurs en pigments chlorophylliens augmentent pendant la 3ème année pour toutes les doses de chacun des trois pesticides avec des différences justes significatives entre les années d'une part, et entre les différentes doses et les témoins de la même année d'autre part. Pour ce qui est des glucides et des protéines solubles, il y a une grande hétérogénéité dans les résultats. Globalement, les teneurs diminuent légèrement au cours de la 3ème année avec quelquefois des différences très hautement significatives pour les glucides et hautement significatives pour les protéines des plantes ayant végété dans les sols traités par l'insecticide et l'herbicide. A l'égard de la proline, on dénote une diminution nette lors de la 3ème année avec des différences très hautement significatives et en particulier pour l'herbicide.

À partir de tous les résultats obtenus, il ressort qu'il y a un impact négatif très modeste aussi bien sur le sol que sur le blé. Ce maintien de la fertilité serait probablement dû aux pouvoirs de détoxification de la plante et de la biomasse microbienne du sol qui agissent en synergie dans l'élimination des substances toxiques.

Mots clés: Pesticides, fertilité, sol, *Triticum durum*, indicateurs physico-chimiques, biologiques, biomarqueurs biochimiques.

ABSTRACT

The objective of this thesis is to estimate the impact of the repeated use of three doses (field dose, 1 / 5th of the field dose and 10 times the field dose) of three pesticides (hymexazole, prometryne , Deltamethrin) on soil fertility. Soil quality was assessed using three methodological, chemical, biological and biochemical approaches. We chose simple and composite indicators and bioindicators (major and secondary nutrients, organic matter, C / N ratio, microbial biomass, respiratory quotient, fertility enzymes). The biochemical approach was extended to the quality of the plant (*Triticum durum*) in order to check the effect of the treated soil on growth through a few biochemical biomarkers (chlorophyll pigments, total soluble proteins, soluble carbohydrates, proline).

Soil analyzes show an increase in the rates of most soil physico-chemical parameters during the 3rd year except for nitrogen where the situation is reversed. In general, there is no positive correlation between the increase in pesticide doses and the values of the quantified elements. The kinetics show considerable fluctuations and in particular for the insecticide. There is concordance between the total microbial biomass, the respiratory quotient and the C / N ratio with an increase during the first year and a decrease at the end of the 3rd year. Deshydrogenase activity is inhibited by the presence of pesticides at all doses of the three pesticides tested, whereas acid and alkaline phosphatase are stimulated and perfectly correlated with other soil bioindicators.

For the plant of *Triticum durum*, there is great variability in the values of all biomarkers dosed. The levels of chlorophyll pigments increase during the 3rd year for all the doses of each of the three pesticides with just significant differences between the years on the one hand, and between the different doses and the controls of the same year. For carbohydrates and soluble proteins, there is great heterogeneity in the results. Overall, the rates decreased slightly during the 3rd year with sometimes very significant differences for the carbohydrates and highly significant for the proteins of the plants which have grown in the soils treated with the insecticide and the herbicide. With regard to proline, there is a net decrease in the 3rd year with very highly significant differences and in particular for the herbicide.

From all the results obtained, it appears that there is a very modest negative impact on both soil and wheat. This maintenance of fertility would probably be due to the detoxification powers of the plant and the microbial biomass of the soil which act synergistically in the elimination of toxic substances.

Key words: Pesticides, fertility, soil, *Triticum durum*, physico-chemical indicators, biological, biochemical biomarkers.

الملخص:

الهدف من هذه الرسالة هو تقدير تأثير الاستخدام المتكرر للثلاثة مبيدات (Hymexazole, Prometryne, Deltamethrine) لمدة ثلاث سنوات متتالية، على خصوبة التربة باستعمال ثلاث جرعات (جرعة الحقل/5؛ جرعة الحقل كاملة وجرعة الحقل 10X).

تم تقييم نوعية التربة باستخدام ثلاثة أساليب منهجية: كيميائية وبيولوجية وكيميائية حيوية. واستعملنا مؤشرات خاصة ومؤشرات حيوية بسيطة ومركبة (المواد الغذائية الرئيسية والثانوية، والمواد العضوية، والكتلة الحيوية الميكروبية، معاملات الجهاز التنفسي، وإنزيمات الخصوبة).

وقد تم تمديد المقاربة البيوكيميائية لنوعية النبات للتحقق من تأثير التربة المعالجة على إنتاج المحاصيل الزراعية من خلال بعض المؤشرات الكيميائية الحيوية (أصباغ الكلوروفيل، البروتين الكلي الذائب، والكربوهيدرات الذائبة والبرولين).

أظهرت النتائج بصفة عامة أن كل الجرعات لم تؤثر سلبا على معايير التربة وكذلك على معايير النبات. مستويات التراكيز مماثلة تماما للشاهد وقريبة من المعايير المعتمدة. لاحظنا خلال السنة الثالثة زيادة مستويات التراكيز باستثناء النيتروجين الذي انخفض.

ومع ذلك، لوحظت تغيرات طفيفة على مبيد الحشرات. ليس هناك ارتباطات إيجابية بين الجرعات وبين ردود الأفعال. هناك تطور جيد في الكتلة الحيوية الميكروبية خلال السنوات الثلاث على التوالي مع تثبيط طفيف في نهاية العام الثالث.

وفي الوقت نفسه هناك توافق جيد بين قيم N/C ومعاملات الجهاز التنفسي، حيث ظهرت زيادة في بداية التجربة ثم انخفضت خلال السنة الثالثة.

تم تثبيط النشاط الديدروجيني سبب وجود المبيدات في كل الجرعات التي تم اختبارها مع المبيدات الثلاثة بينما النشاط الفوسفاتازي الحمضي والقلوي بقي مماثل تماما للشاهد ومرتبطة ارتباطا تاما مع المعايير الأخرى مثل مجموع النباتات الدقيقة وعناصر المغذية الكبرى.

على مستوى النباتات، هناك تقلبات كبيرة في مستويات الأيض الكيميائية الحيوية وتركيزات الكلوروفيل منخفضة مقارنة مع الشاهد وخاصة عند النباتات الصغيرة. أما لدى النباتات البالغة يظهر أن الكربوهيدرات والبروتينات كانت محفزة مع وجود اختلافات هامة للغاية في وجود مبيد الحشرات ومبيدات الأعشاب في جرعات I2 و H3.

يبدو أن هناك تأثير ضئيل جدا من المبيدات على خصوبة التربة وهذا ربما يرجع إلى قدرة النباتات، الدقيقة منها وغير الدقيقة على إزالة السموم.

الكلمات المفتاحية : المبيدات الحشرية، الخصوبة، التربة، النباتات، مؤشرات فيزيو-كيميائية، بيولوجية، بيوكيميائية.

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'usage des pesticides s'est diversifié et répandu à travers le monde, notamment depuis la deuxième moitié du XX^{ème} siècle. Avec les progrès de la recherche, des centaines de nouvelles molécules ont été mises sur le marché. Néanmoins, les limites de cette lutte chimique, alors peu contrôlée, se sont rapidement manifestées par une contamination de l'environnement.

Il est utile ici de rappeler qu'à l'échelle internationale, la protection des sols à l'égard des pollutions par les substances dangereuses telles que les pesticides est la préoccupation principale des organismes qui veillent à la protection de l'environnement. Si ce souci n'est venu que tardivement, c'est bien parce que le sol a été trop longtemps considéré comme « une boîte noire », une sorte de réceptacle inconditionnel et illimité destiné à accueillir les déchets et les polluants générés par les activités agricoles, industrielles et urbaines (**Lecomte,1998**). Les particularités physiques complexes et hétérogènes du sol peuvent expliquer l'absence d'une gestion globale. Le sol n'a, en effet, pas connu le même développement des règles protectrices que l'air et l'eau qui constituent des milieux homogènes. Cette absence de règles conduit à l'impossibilité de définir la notion de sol pollué et à fortiori celle du sol non pollué. Face à cette situation, une législation de plus en plus stricte envers ces composés a donc vu le jour à différents niveaux (international, continental, africain). L'homologation des substances actives dépend à présent de l'évaluation de leurs effets sur la santé, les écosystèmes et l'environnement. Toutefois, certains aspects du comportement des pesticides dans l'environnement requièrent encore des investigations, et une meilleure compréhension est nécessaire pour appréhender les mécanismes de contamination de l'environnement par les pesticides, leurs effets et leur devenir dans les différents compartiments (eau, air, sol). Ceci est particulièrement vrai pour le sol qui est le milieu le moins documenté. Ainsi, aucun seuil réglementaire en teneur de pesticide dans le sol n'est disponible

Ainsi, au cours de ces dernières années, les organisations mondiales ont publié des rapports mettant en évidence la présence des concentrations de pesticides dans tous les milieux : dans les eaux des rivières et des nappes phréatiques, dans l'air, dans les eaux de pluie et dans les sols. Ces pesticides peuvent avoir des effets directs sur les écosystèmes des zones d'application et par conséquent, la fertilité des sols peut être ébranlée à travers la modification

de certains paramètres physico-chimiques, biologiques et biochimiques voire la disparition de certains organismes et microorganismes (**CPP, 2002**).

En Afrique, l'Algérie est classée parmi les pays qui utilisent des grandes quantités de pesticides. C'est le milieu agricole d'abord qui utilise le plus de pesticides en termes de variétés et de doses. Ainsi, environ plus de 1000 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie dont une quarantaine de variétés sont largement utilisées par les agriculteurs. Cette utilisation à l'échelle nationale des produits phytosanitaires dans les cultures, fait craindre une pollution massive des sols. Par ailleurs, les analyses des résidus de pesticides pour évaluer le degré de contamination des milieux naturels ne sont pas faites systématiquement, et par conséquent le suivi et la gestion des produits phytosanitaires échappent au contrôle de l'Etat. Seuls, quelques analyses effectuées sur des échantillons d'eau prélevés dans la région de Staouali (Alger) ont montré que dans plus de 30% des échantillons, la concentration de certaines molécules organochlorées et organophosphorées dépasse les valeurs préconisées par l'O.M.S (**Moussaoui et al., 2001**). De même, dans la région d'Annaba, les analyses ont fait apparaître des concentrations de certaines classes de pesticides qui dépassent les valeurs admissibles (**Bordjiba et al., 2003**).

Ainsi, l'Algérie est un grand consommateur de pesticides: 30.000 tonnes sont «épanchées» chaque année. Le rapport de l'Agence européenne de l'environnement, pointe la situation de l'Algérie qui stocke actuellement plus de 190 tonnes de pesticides interdits, principalement du DDT alors que le Maroc en stocke huit tonnes, la Tunisie moins de huit tonnes et la Turquie 10 tonnes (**PNUE, 2002; Courteau, 2011**).

Les conséquences sanitaires de l'exposition à ces milliers de composants chimiques, par le biais de l'eau et de l'alimentation, sont massives et inquiétantes», avance-t-on encore. Mais le risque est multiplié par quatre si le pesticide employé est périmé ou de mauvaise qualité. En effet, en 2011, les analyses physico-chimiques réalisées par le Centre algérien du contrôle de la qualité et de l'emballage (CACQE) ont touché 7 675 échantillons alimentaires dont 2 419 échantillons sont déclarés non conformes, soit 32% du total.

Cette situation est d'autant plus préoccupante que l'usage des pesticides doit être répété périodiquement. Cette répétition à long terme, entraîne nécessairement une accumulation en pesticides et de leurs résidus dans les milieux et en particulier dans les sols, en affectant entre

autres, leur qualité en matière de fertilité. Il est désormais indispensable de s'interroger sur les effets néfastes susceptibles d'être induits par l'emploi de ces molécules.

A travers ce travail de recherche, nous nous sommes interrogés sur les effets secondaires de ces produits agro- pharmaceutiques et leurs risques à moyen et à long terme à la suite d'une exposition régulière et répétée sur le sol.

-Est-il possible d'estimer le degré de contamination d'un milieu aussi complexe que le sol par certains paramètres physico-chimiques, biologiques et biochimiques (enzymatiques)?

-Est-ce que les différentes doses de pesticide employées pourraient-elles engendrer des conséquences négatives sur la fertilité chimique, biologique et biochimique des sols. Si oui, est ce qu'il y a une relation dose-réponse?

-Est-ce que les pesticides pulvérisés sur le sol vont persister au niveau de la couche supérieure de la lithosphère pour être absorbés par les racines et accumulés dans les différents tissus de la plante en entraînant des perturbations biologiques, physiologiques et biochimiques?

Pour pouvoir répondre à ces questions, nous avons entrepris ce travail qui consiste à déterminer les effets des pesticides sur le sol via deux approches :

-Estimation de la fertilité d'un sol soumis à l'emploi répété de pesticides à l'aide d'un certain nombre de paramètres du sol (physico-chimiques, biologiques et enzymatiques).

-Confirmation de la fertilité du sol en vérifiant l'incident des traitements pesticides du sol sur la qualité d'une espèce végétale de blé dur *Triticum durum* cultivée sur le sol en question au travers de quelques biomarqueurs physiologiques et biochimiques.

CHAPITRE 1

APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1. APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

1. LA FERTILITE DU SOL

1.1. Définition

La fertilité d'un sol est l'aptitude à produire régulièrement de bonnes récoltes, elle fait appel à la notion de rendement, mais aussi à celles de la qualité et de la résistance aux maladies. On la distingue de la fertilisation, qui est l'enrichissement du sol en éléments fertilisants assimilables (**Guét, 2003**).

Selon **Morel (1989 a)**, « la fertilité d'un sol répond de la facilité avec laquelle la racine peut, en quantités suffisantes, bénéficier dans ce sol différents facteurs de la croissance végétale ; chaleur, eau, ensemble des éléments chimiques nécessaires à la plante, substances organiques de la croissance ». Cette définition implique d'une part l'existence ou la production dans le sol d'éléments nutritifs, d'autre part le transfert à la plante de ces éléments (**Morel, 1989b**).

On dit qu'un sol est fertile lorsqu'il présente une faune et une flore variées et biologiquement actives, une structure typique, une capacité de dégradation intacte. Le sol est fertile lorsqu'il permet une croissance normale des végétaux sans nuire à leurs propriétés et il garantit une bonne qualité des produits (**Chitrit, 2008**).

Connaitre la fertilité d'un sol ou l'aptitude culturale d'une parcelle, c'est pouvoir diagnostiquer ses propriétés, qu'elles soient physiques chimiques ou biologiques. La connaissance de la fertilité des sols est une préoccupation particulièrement importante. En d'autres termes la fertilité d'un sol dépend de ses propriétés physiques, chimiques et biologiques, les interactions entre ces différentes propriétés donnant au sol sa capacité à nourrir les plantes (**Massenot, 2001**). Il est donc plus judicieux de mentionner de distinguer la fertilité physique, chimique et biologique.

1.2. TYPES DE FERTILITES

1.2.1. La fertilité biologique

La fertilité biologique est liée à l'activité biologique dont dépendent les transferts des nutriments du sol à la plante ainsi que la minéralisation des matières organiques apportées. (**Genot et al., 2007**).

Selon l'UNIFA, le sol est un milieu vivant dans lequel se développe une multitude d'organismes variés appartenant à tous les règnes du vivant (animal, végétal, champignons, bactéries....). La composante biologique de la fertilité influe sur l'état physique du sol, sur la

quantité de matière organique et sur la disponibilité des éléments nutritifs. Les racines des végétaux vivent et meurent dans le sol. Leur activité agit sur la structure, modifie localement les conditions physico-chimiques du sol dans la rhizosphère, « point chaud » de l'activité biologique.

La fertilité biologique des sols fait référence à l'abondance, la diversité et l'activité des organismes vivants qui participent au fonctionnement du sol. La gestion des ressources biologiques des sols doit être considérée comme un élément essentiel de la subsistance de ce système écologique (**Andrén et Balandreau, 1998; USDA, 1998**). Elle ne pourra être parfaitement maîtrisée que dans la mesure où l'on disposera à la fois d'indices biologiques pertinents et de référentiels d'interprétations garantissant une bonne sécurité de diagnostic. Par ailleurs, la conservation d'une certaine capacité évolutive est susceptible selon **Borneman et Triplett (1997)** de minimiser les conséquences négatives de nombreux stress anthropiques. Actuellement, la communauté scientifique s'interroge sur le rôle de la biodiversité dans la stabilité des écosystèmes.

1.2.1.1. Les indicateurs biologiques de la fertilité des sols

Les indicateurs biologiques peuvent être définis comme des organismes qui répondent à un stress par leur présence ou leur absence, par les modifications de certaines caractéristiques ou activités particulières, ou par une bioaccumulation de certains contaminants (**Eijsackers, 1982**).

Les communautés microbiennes d'un sol peuvent être un bon indicateur de la qualité de la perturbation et de la restauration. Dans des sols réhabilités, pendant les 3 premières années, la biomasse microbienne est très faible (de l'ordre de 20% d'un sol non perturbé), elle augmente au cours des années pour être, au bout de 8 ans, identique à celle d'un sol resté en place (**Vanpeene Bruhier et al., 2002**).

Visser et Parkinson(1992) suggèrent de tester le fonctionnement bactérien des sols à 3 niveaux d'organisations : au niveau de la population, de la communauté et de l'écosystème. Chaque niveau d'organisation permet d'obtenir des informations pertinentes et différentes en considérant la sensibilité de l'ensemble du fonctionnement bactérien aux changements des conditions environnementales.

Jusqu'à un passé relativement proche, les mesures utilisées pour évaluer le fonctionnement microbien des sols, visaient en priorité à définir les potentialités fertilisantes des sols et leur

principal intérêt était basé sur leur facilité d'utilisation et d'application. Ainsi, les deux paramètres microbiologiques les plus communément mesurés pour évaluer la réponse des microorganismes à des changements de leur milieu, sont des mesures globales tels que la taille des populations bactériennes (dénombrement) et la mesure de la biomasse des sols.). La biomasse bactérienne est un indicateur sensible d'une diminution à long terme des teneurs en matière organique résultante par exemple d'une intensification de certaines pratiques agricoles ou d'une perturbation d'un écosystème naturel (**Weigand et al., 1995**).

Chaussod et Houot (1993) ont montré que le potentiel de minéralisation d'un sol donné était proportionnel à la taille de sa biomasse microbienne. La mesure de l'activité respiratoire de cette biomasse complète utilement la mesure de la biomasse elle-même, très dépendante de la texture du sol, de sa teneur en carbone, de son pH et de la période de mesure (**Doré et al., 2006**).

1.2.1.2. Facteurs influants sur l'activité des microorganismes

Chaudri et al. (1998) montrent dans un autre contexte, que la contamination d'un sol par des métaux lourds provoque un impact persistant sur l'activité des microorganismes. Des mesures de respiration, de dénombrement et d'activités enzymatiques effectuées par **Pitchel et Hayes (1990)** ont montré une inhibition de l'activité des microorganismes à la suite de l'application au sol de cendre d'incinération de charbon.

Visser et Parkinson (1992) précisent que les mesures d'une ou de plusieurs activités composant le cycle de l'azote (dénitrification, nitrification ou fixation d'azote) permettent d'évaluer la fertilité et la qualité des sols agricoles.

1.2.2. La fertilité chimique

La fertilité chimique a trait à la nutrition minérale des végétaux via les concepts de biodisponibilité des éléments, de carences, de toxicités et d'équilibres (**Genot et al., 2007**).

Il est d'abord important de préciser que le sol fonctionne avant tout comme un système chimique ouvert. Cela signifie qu'une bonne partie des éléments chimiques du sol peuvent soit être exportés du fait des récoltes, soit éliminés des sols par les eaux. Les apports atmosphériques mais aussi les pratiques humaines peuvent contribuer à enrichir le sol au plan chimique (**Duchaufour, 1995 et Robert, 1996**).

Sur le plan chimique, le sol est avant tout la source d'ions indispensables pour les plantes. La présence d'ions en excès peut être à l'origine de phénomènes de toxicité. Au contraire, le déficit de ces ions entraîne une diminution de la fertilité du sol.

La fertilité chimique a trait à la nutrition minérale des végétaux via les concepts de biodisponibilité des éléments, de carences, de toxicités et d'équilibres. Une nutrition équilibrée suppose que la plante trouve (quantité suffisante) et puisse absorber (équilibres chimiques, pH favorable, disponibilité en eau pour favoriser l'absorption, minéralisation de la Matière organique) l'ensemble des éléments dont elle a besoin. Ces différents éléments nutritifs sont présents sous diverses formes, et seulement une partie est directement assimilable par les plantes. En effet, la matière organique et les minéraux du sol doivent être transformés (respectivement par minéralisation et dissolution) pour que leurs éléments constitutifs soient assimilables par les végétaux (**Bourgeois *et al.*, 2016**).

La fertilité chimique des terres agricoles dépend du statut acido-basique, du statut organique et du statut en éléments nutritifs.

- Le statut acido-basique est déterminé par le pH du sol. Il représente une expression synthétique des conditions physico-chimiques qui président en partie à la structuration du sol, à l'activité microbienne et à la disponibilité des éléments. Les grandes cultures présentent souvent un optimum de croissance dans une gamme de pH comprise entre 6 et 7
- le statut organique est généralement évalué par la mesure de la concentration totale en carbone organique (COT) et en azote (NT) dans les sols. Le rapport C/N, qui renseigne sur l'état qualitatif de la matière organique, est également calculé. Le cas de l'azote, dont les teneurs dans le sol sont beaucoup plus fluctuantes au cours du temps, n'est pas abordé ici,
- Le statut nutritif est évalué par la mesure des concentrations en éléments biodisponibles dans les sols : cations (Ca, Mg et K), phosphore et, selon les cas, oligo-éléments (Mn, Fe, Cu et Zn). L'état de fertilité des terres en oligo-éléments n'est pas abordé ici mais est discuté dans le dossier (**Genot *et al.*, 2009**).

1.2.2.1 Facteurs influant sur la fertilité chimique des sols

Les pollutions

La pollution des sols provenant de l'activité agricole, des épandages de boues de stations d'épurations et/ou du stockage des déchets industriels, devient aujourd'hui un problème préoccupant.

Elle se traduit par des impacts négatifs sur le fonctionnement des écosystèmes, ainsi que par des risques de contaminations accompagnés d'une détérioration de la santé publique.

Il est d'abord important de rappeler que le sol fonctionne comme un système chimique ouvert. Cela signifie qu'en dehors de l'héritage pédologique, les éléments chimiques présents dans un sol peuvent être apportés et exportés. Les apports atmosphériques mais aussi les pratiques humaines contribuent à enrichir le sol au plan chimique. Une grande partie des éléments chimiques peut, soit être exportée du fait des récoltes, soit éliminée des sols par les eaux. Les propriétés chimiques d'un sol conditionnent la qualité biologique de celui-ci.

Toutes perturbations de ces propriétés (naturelles ou anthropiques) peuvent engendrer une réduction de la qualité biologique d'un sol et par voie de conséquence induire un dysfonctionnement de l'écosystème terrestre. Les sols cultivés sont beaucoup plus sollicités qu'autrefois au plan chimique. Le maintien à long terme de la qualité chimique des sols exige de mieux gérer les pratiques de fertilisation et d'amendement en fonction de l'utilisation du sol (**Tessier et al., 1996**).

1.2.3. La fertilité physique

La fertilité physique détermine les conditions de germination des semences, de colonisation efficace des racines, d'aération et d'économie en eau et ce, à travers une structure meuble, perméable et aérée du sol, retenant l'eau et en évacuant les excès (**Genot et al., 2007**).

Elle se définit par la plus ou moins grande facilité à créer et à maintenir un état physique du sol favorable à un système de culture (**Monnier et al., 1981**). Les éléments constitutifs de la fraction « terre fine » soudés par l'humus, forment des agrégats, qui ménagent entre eux des espaces lacunaires remplis d'air et d'eau. C'est le complexe argilo-humique, qui flocculé par la présence de calcium confère au sol une structure stable

Les propriétés physiques des sols sont celles qui influencent les facteurs suivants :

- La circulation de l'air : sans air dans le sol, les racines ne respirent plus et la plante meurt d'asphyxie. Le manque d'air résulte le plus souvent d'un excès d'eau.
- La circulation et la rétention de l'eau : l'eau apporte les éléments nutritifs à la plante et la plante régule sa température par la transpiration. La rétention de l'eau dans le sol influence le lessivage, le taux d'infiltration, le taux de ruissellement...
- Le sol est plus ou moins résistant au détachement, cette propriété s'appelle « l'érodibilité ». Elle est étroitement liée à la stabilité structurale du sol

1.2.3.1. La relation entre la qualité physique du sol et sa structure

La qualité physique du sol est étroitement liée à sa structure : c'est à dire à la façon dont les constituants minéraux et organiques sont assemblés les uns par rapport aux autres. En effet, la structure du sol est étroitement liée aux termes "architecture" et "stabilité". Sa qualité dépend en grande partie de la taille, de la forme et de la disposition des pores (vides) et des particules solides (mottes de sable, de limon et d'argile). Dans le sol, la matière organique et certains ciments minéraux sont les principaux liants dans la formation de mottes ou d'agrégats par les particules de sable, de limon et d'argile (**Henin, 1958 ; Tisdall et Oades, 1982**).

Dans un sol bien structuré, l'air, l'eau et les éléments nutritifs peuvent traverser les vides contenus dans les agrégats et entre ceux-ci. En outre, l'assemblage des particules solides et des pores résiste bien aux diverses agressions (travail cultural, moisson, impact des gouttes de pluie, etc.). C'est en effet dans les différentes catégories de vides ménagés par cet assemblage que l'eau, les solutés et les gaz circulent ou sont stockés et que les êtres vivants peuvent se développer. La dégradation des propriétés physiques d'un sol peut entraîner une réduction importante de sa qualité. Une déstructuration affecte la pénétration des racines dans le sol (**Tramblay-Bœuf, 1995**).

1.2.3.2. La modification des propriétés structurales des sols

La modification des propriétés structurales des sols peut également diminuer la perméabilité et donc perturber la circulation des flux de gaz et d'eau, affecter la diffusion des solutés et modifier les mouvements des microorganismes (**Duchaufour, 1997 ; Papendick et Campbell, 1981**). La microflore microbienne du sol est également liée aux modifications du biotope et à la nature des agrégats.

1.2.3.3. Les perturbations de l'hétérogénéité physico-chimique et structurale

Les perturbations de l'hétérogénéité physico-chimique et structurale des sols peuvent influencer certaines propriétés biotiques et abiotiques directement impliquées dans la survie de ces organismes (**Ranjard *et al.*, 1999 ; Lavelle et Spain, 2001**).

Les organismes du sol sont responsables, directement ou indirectement, de nombreuses fonctions clés du fonctionnement du sol. Celles-ci incluent la décomposition des résidus animaux et végétaux, la transformation et le stockage des nutriments, les échanges gazeux et hydriques, la formation et la stabilisation de la structure du sol, la synthèse des composés humiques et la dégradation des molécules xénobiotiques (**Dick, 1997 ; Paul, 2000**).

1.3. DEGRADATION DES SOLS

L'érosion des sols ; tassement superficiel ; salinisation des sols irrigués ; appauvrissement en matière organique, les principales manifestations de la dégradation des sols, qui peuvent se produire à diverses profondeurs et pas seulement dans les premiers centimètres superficiels, sont de deux ordres :

- Celles qui concernent, actuellement, tous les sols directement utilisés par l'homme : il s'agit, d'une part, de l'appauvrissement biologique et de la diminution des taux de matière organique, d'autre part, du tassement des sols ;
- Celles plus localisées, qui ne concernent, pour l'instant, que des surfaces relativement limitées : hydromorphie (excès d'eau), salinisation et alcalinisation, acidification, appauvrissement en particules fines et en éléments nutritifs, érosion, pollution (avec ses conséquences sur la qualité des eaux et des produits agricoles), disparition des surfaces de sol pour des besoins urbains, industriels, miniers.

L'appauvrissement de la diversité et de l'activité biologiques, et la diminution des taux de matière organique. Ces deux phénomènes atteignent pratiquement tous les sols cultivés du monde.

1.3.1. L'appauvrissement de la diversité biologique

Le nombre d'espèces diminue, et l'activité biologique des sols diminue également, suite au défrichage du sol, et à la baisse des taux de matière organique dans les sols. On ne peut les empêcher, les systèmes cultivés étant biologiquement beaucoup moins diversifiés que les systèmes naturels. Mais on peut apprendre, ou réapprendre, à maintenir dans les sols (par des apports de fumiers et de composts, par des enfouissements d'engrais verts, c'est à dire de cultures que l'on ne récolte pas, par des rotations de cultures associant des plantes d'enracinement différent...), une agrégation fine et arrondie, une porosité abondante et bien répartie, des matières organiques et des éléments minéraux régulièrement renouvelés, qui traduisent cette fertilité.

La matière organique est également source d'une bonne agrégation, fine, poreuse, stable, et d'une bonne porosité indispensable à la circulation des eaux et des gaz, à la pénétration des racines, à l'activité biologique ; en outre, elle est source et réservoir de nombreux éléments nutritifs (azote, phosphore, potassium, calcium...).

L'appauvrissement en matière organique des sols, dû à la suppression de leur couverture végétale naturelle et à leur utilisation par l'homme, a déjà libéré dans l'atmosphère des volumes importants de CO₂, contribuant ainsi à l'effet de serre. En effet, la quantité de carbone stockée dans les sols, sous forme de matières organiques, est en moyenne au niveau mondial, deux à trois fois plus grande que celle stockée dans la végétation, naturelle et cultivée. En milieu équatorial, il y a autant de carbone dans le sol que dans la forêt qui le surmonte. Dans les milieux couverts de prairies et de cultures, il y a dix fois plus de carbone dans les sols que dans la végétation. Le maintien d'un minimum organique (du point de vue fertilité des sols, on estime ce minimum de 1 à 1,5 % de carbone dans les horizons superficiels) est donc un objectif important, trop souvent oublié, de l'agriculture moderne. Il est impensable, dans l'état actuel des connaissances techniques et des situations économiques, d'envisager de retrouver les taux de quelques % de carbone (jusqu'à 10 % et plus), répartis profondément, qui sont ceux de bien des sols sous végétation naturelle, forestière et steppique. De ce point de vue, la matière organique est, à l'échelle de l'homme, une ressource renouvelable. Sur ce double problème, de l'activité biologique et de la matière organique des sols cultivés, l'effort scientifique nécessaire doit être amplifié, en particulier, dans les pays en voie de développement.

1.3.2. Porosité des sols

Le tassement des sols, principalement dans leurs premiers centimètres superficiels est l'une des expressions les plus graves de la dégradation des sols et est certainement la modification de leurs systèmes poreux, et de leur porosité. Tous les sols ont une porosité naturelle, conséquence de leurs constituants (argiles, limons, sables), de leurs agrégations (plus ou moins développées et stables), de leurs activités biologiques. Cette porosité gère tout le fonctionnement hydrologique des bassins versants ainsi que les fonctions nutritives et épuratrices des couvertures pédologiques. Or on constate, partout dans le monde, que les sols utilisés par les sociétés humaines se tassent, perdent une partie de leur porosité, et ceci sur des épaisseurs qui peuvent atteindre plusieurs dizaines de centimètres. On comprend facilement que le tassement des sols soit un phénomène normal de l'après-défrichement des terres que l'on met en culture : la suppression de la végétation provoque des baisses d'activités. De même les taux de matières organiques, qui facilitent la formation des agrégats, des mottes, diminuent fortement : les structures, donc les porosités s'effondrent. Quand les systèmes de cultures sont bien conçus, adaptés aux sols : alternances de cultures, outils agricoles utilisés aux bonnes humidités, rotation correcte peut rester acceptable sans conséquences trop graves ni sur les circuits hydrologiques ni sur la pénétrabilité des sols par les racines. Mais tel n'est pas le cas, n'est plus le cas aujourd'hui, dans la plupart des systèmes agraires, qu'ils soient intensifs ou non, où de nombreux facteurs contribuent à la compactisation des sols qui devient de plus en plus engrais ou amendements mal adaptés qui vont déstabiliser, faire éclater, les agrégats ;

- Non utilisation des fumiers, composts, et autres engrais organiques, irrigations mal conduites qui déstructurent et tassent les sols par excès alterné d'humidité et de sécheresse ;
- Abus de la monoculture ;
- Sols laissés nus trop longtemps, soumis ainsi à la déstructuration par la sécheresse et par impact des pluies. ; Comme les baisses des taux de matières organiques, le tassement des sols est un phénomène qui atteint ou menace tous les sols cultivés du monde.

Les mécanismes de tassement commencent à être scientifiquement assez bien connus, résultats de recherches entreprises depuis une trentaine d'années ; cependant, les résultats de ces recherches restent, pour l'instant, difficiles à prendre en compte par les agronomes et les agriculteurs qui ne font, généralement, pas beaucoup d'efforts pour regarder leurs sols de près.

Encore faut-il prendre conscience de l'importance de la porosité pour la fertilité des sols et de la gravité des dégradations actuelles : cette prise de conscience commence à se faire actuellement, tout doucement, principalement sous la pression des évidences économiques (baisse des rendements). La porosité d'un sol, la stabilité, la solidité de cette porosité sont l'expression de l'état de santé du sol.

1.3.3. L'érosion

Parmi les conséquences des appauvrissements biologiques, des baisses de taux de matière organique et des tassements, il y a le double développement de l'érosion des sols (entraînement latéral, par l'eau ou par le vent, de matériaux sol situés en surface : particules d'argiles, de limons, de sables) et de l'appauvrissement interne des sols en particules fines.

L'érosion a pour origine un double phénomène :

- La destruction des agrégats, par appauvrissement organique et biologique, libère les particules argileuses, limoneuses et sableuses, qui seront ainsi plus facilement entraînées latéralement, soit en surface par érosion hydrique ou éolienne, soit en profondeur (vers quelques centimètres ou dizaines de centimètres) par migration latérale des eaux (cette migration interne ne concerne que les particules les plus fines, argileuses). Ainsi naissent, à la surface des sols, des horizons appauvris, en argile et en éléments nutritifs, qui seront ensuite des horizons pédologiques facilitant également, bien sûr, l'érosion (conséquence d'un ruissellement, superficiel ou sub-superficiel, d'une eau de pluie qui ne pénètre plus dans le sol). Bien d'autres dégradations, d'origine anthropique, atteignent les sols. Certaines dégradations existent depuis longtemps. Il s'agit, en particulier des phénomènes d'hydromorphie (excès d'eau), de salinisation (excès de sels solubles, tel le chlorure de sodium), d'alcalinisation (excès de sodium),

D'autres dégradations sont plus nouvelles, voire très nouvelles : ce sont toutes les conséquences de la pollution. Pollutions d'origine industrielle via l'atmosphère et les pluies ; pollutions d'origines industrielle, urbaine, agricole, via les épandages de déchets et les abus d'utilisation des engrais et des pesticides. Ces pollutions ont toutes sortes de conséquences : - acidification des sols : fréquente dans les régions industrielles, elle a pour conséquence, rapidement perceptible (en quelques années ou dizaines d'années), un appauvrissement en

éléments essentiels pour les plantes (calcium, magnésium, potassium...) accompagné, éventuellement, de la mobilisation de métaux lourds (qui pourront migrer et polluer les eaux phréatiques) et de modifications structurales (pertes de stabilité structurale). En Scandinavie, par exemple, en 30 ans, une acidification importante s'est développée, affectant non seulement les horizons superficiels des sols, mais aussi les horizons profonds. Cette acidité a provoqué l'apparition dans les sols de produits toxiques, en particulier l'aluminium qui provoque une baisse de la fertilité agricole des sols ; à ceci s'ajoutent des phénomènes à plus long terme de transformations biologiques et géochimiques : quand une couverture pédologique perd progressivement, en quelques décennies, une à deux unités pH, on peut imaginer que les conséquences à moyen terme seront importantes :

- Modification des constituants, des structures, des dynamiques ;
- Accumulation dans les sols de métaux lourds, de pesticides, de matières organiques toxiques, d'hydrocarbures, d'éléments radioactifs... : les conséquences de ces accumulations sur le comportement des écosystèmes et sur la santé des plantes, des animaux, des hommes, restent encore mal connues. L'utilisation excessive, inadaptée, de certains engrais, de pesticides se fait au détriment de la fertilité des sols et des milieux; les sols produisent plus... mais sont de plus en plus malades; les milieux produisent plus, mais sont de plus en plus pollués.

Tout ceci est fragile : l'appauvrissement biologique et structural des sols est partiellement masqué par des apports artificiels, chimiques et mécaniques ; mais beaucoup des irrégularités de la production d'un champ sont en fait liées à cela. Les nécessités de la protection de l'environnement vont nous obliger à retrouver, progressivement, une agriculture moins artificielle, moins polluante. C'est dans la plupart des cas, encore possible cette agriculture sera moins « productive à l'hectare » ; mais il est déjà prouvé, dans certains cas, qu'elle sera économiquement plus rentable tout en étant plus respectueuse de l'environnement : qualité des produits, qualité des eaux, qualité de l'air... qualité de la vie.

2. GENERALITES SUR LES PESTICIDES

2.1. DEFINITIONS

Un pesticide est une substance qui est sensée prévenir, détruire, repousser ou contrôler tout ravageur animal et toute maladie causée par des microorganismes ou encore des mauvaises herbes indésirables (**Jeroen B *et al.*, 2004**).

La directive européenne 91/414/CE du 15 juillet 1991 abrogée par le règlement (CE) n° 1107/2009 concernant la mise sur le marché des produits phytosanitaires, les définissait comme : « Les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentées sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et qui sont destinées à :

- ❖ Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action.
- ❖ Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (il s'agit par exemple des régulateurs de croissance).
- ❖ Assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que ces substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents conservateurs,
- ❖ Détruire les végétaux indésirables.
- ❖ Détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux.

Par ailleurs, la directive européenne 98/8/CE du 16 février 1998 abrogée par le règlement (CE) n° 528/2012 concernant la mise sur le marché des produits biocides, les définissait comme: « Les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentées sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur, qui sont destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par une action chimique ou biologique. »

Selon cette directive, une liste exhaustive des vingt-trois types de produits biocides a été établie.

- ❖ Les désinfectants et les produits généraux : ils comprennent les produits biocides destinés à l'hygiène humaine, les désinfectants utilisés dans le domaine privé et dans le domaine de la santé publique et autres produits biocides, les produits utilisés pour désinfecter l'air, les surfaces, les matériaux, les équipements et le mobilier et qui ne sont pas utilisés en contact direct avec les denrées alimentaires ou les aliments pour animaux dans les lieux privés, publics et industriels, y compris les hôpitaux, ainsi que produits algicides, les produits biocides destinés à l'hygiène vétérinaire, les désinfectants pour les surfaces en contact avec les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, les désinfectants pour eau de boisson (destinée aux hommes et aux animaux).
- ❖ Les produits de protection : ils comprennent les produits de protection utilisés à l'intérieur des conteneurs, les produits de protection pour les pellicules, les produits de protection du bois, les produits de protection des fibres, du cuir, du caoutchouc et des matériaux polymérisés, les produits de protection des ouvrages de maçonnerie, les produits de protection des liquides utilisés dans les systèmes de refroidissement et de fabrication, les produits anti moisissures, les produits de protection des fluides utilisés dans la transformation des métaux.
- ❖ Les produits antiparasitaires : ils comprennent les rodenticides utilisés pour lutter contre les souris, les rats ou autres rongeurs, les avicides pour lutter contre les oiseaux, les molluscicides utilisés pour lutter contre les mollusques, les pesticides utilisés pour lutter contre les poissons; les insecticides, acaricides et produits utilisés pour lutter contre les autres arthropodes, les répulsifs et appâts.
- ❖ Les autres produits phytosanitaires : ils comprennent les produits de protection pour les denrées alimentaires ou les aliments pour animaux, les produits antisalissure, les fluides utilisés pour l'embaumement et la taxidermie, les produits utilisés pour désinfecter et préserver la totalité ou certaines parties de cadavres humains ou animaux et les produits pour lutter contre la vermine.

La directive européenne 2004/28/CE du 31 mars 2004 institue un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires, et définit ces produits comme toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies animales. Les produits antiparasitaires, utilisés par exemple pour lutter contre les puces et les

tiques chez les animaux domestiques, appartiennent à ce cadre et doivent répondre de ses obligations.

2.2. LA CONSOMMATION MONDIALE DES PESTICIDES

Le marché mondial (environ 40 milliards de dollars) est globalement stable depuis l'année 2000. Il faut noter que certains événements climatiques récents (chaleur et sécheresse en Europe, pluie en Océanie) influencent fortement ces chiffres:

- ❖ Les Etats-Unis sont le premier consommateur mondiale de pesticides, suivent l'Inde, la France, 1er consommateur en Europe, puis l'Allemagne. Malgré les recommandations du Grenelle de l'environnement, la France est toujours championne de l'utilisation des produits phytosanitaires en Europe. On trouve des insecticides, herbicides, fongicides partout, y compris dans notre environnement.
- ❖ Le Japon utilise 12 kg et est le 1er consommateur de pesticides à l'hectare, l'Europe, 3 kg, les Etats-Unis, 2,5 kg, l'Inde, gros producteur, 0,5 kg/ha.
- ❖ En Europe et en Amérique du Nord, les herbicides représentent 70 à 80% des produits utilisés (notamment à cause de la forte augmentation des cultures de maïs) tandis que sous les tropiques, 50% des produits appliqués sont des insecticides. La diversification des cultures, avec l'amélioration du niveau de vie dans certains pays, modifie également cet équilibre, ainsi la Chine a converti l'équivalent de la surface de l'Angleterre de rizières en cultures maraîchères, entraînant une diversification des produits mis en œuvre.
- ❖ La consommation mondiale de pesticide est en augmentation constante depuis les années 40, passant de 0,49 kg/ha en 1961 à 2 kg/ha en 2004. Il y'a 20% de la surface totale des Etats-Unis, 35% de celle de la France, qui sont soumis à des traitements.

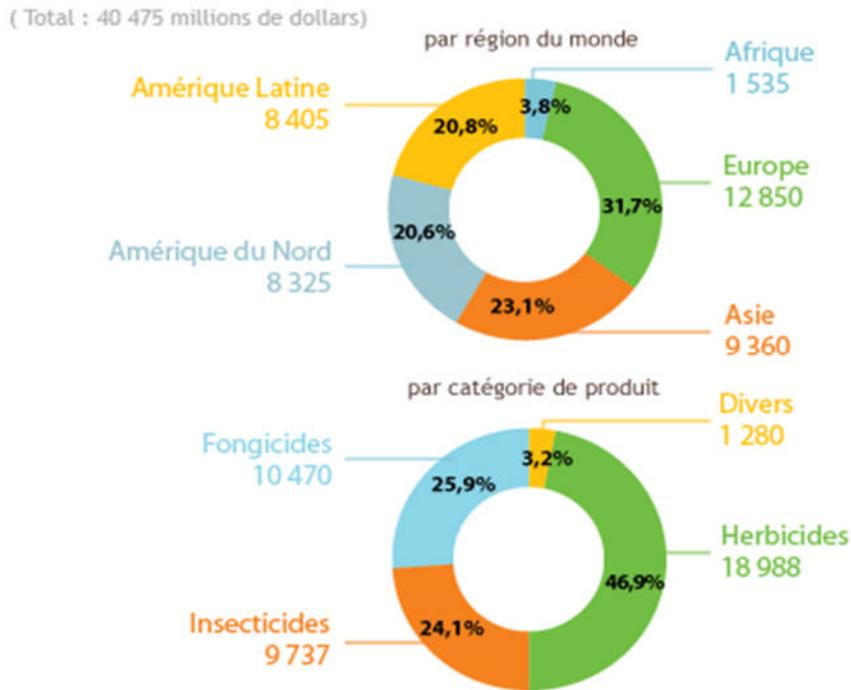


Figure 1-1. Marché mondiale des pesticides

(<http://www.observatoire-pesticides.fr/index.php?pageid=379>)

Les usages non-agricoles représentent environ 12% du marché global (dont plus d'un tiers des usages pour les Etats-Unis). En France, les usages non agricoles représentent entre 6 et 10% de la consommation totale.

Les pesticides et les engrais ont permis, depuis les années 60, de multiplier la productivité par 3, les pertes occasionnées aux cultures représentent pourtant encore près de 30% en Europe pour le maïs contre 50% en Afrique ; moins de 30% en Asie pour le riz contre plus de 50% en Afrique. Malgré les efforts considérables réalisés, il reste encore dans le Monde près d'un milliard de personnes mal nourries, et il faudra d'ici à 2050 nourrir une population qui aura progressée de près de 50%. Observatoire de résidus de pesticides (**OPECST, 2016**).

2.3. COMMERCIALISATION DES PESTICIDES EN ALGERIE

Près de 6 000 à 10 000 T / an de pesticides, ce qui représente 10 à 20% des besoins normatifs.

Tableau 1-1. Commercialisation des pesticides en Algérie d'après **Moussaoui et al. (2001)**

COMMERCIALISATION					
Années	75-79	80-84	85-89	90-93	94-97
Valeurs (T)	28270,2	22188,6	18064,6	8635,5	8328,48

D'après le même auteur **Moussaoui et al. (2001)**, une quantité comprise entre 392 et 432 tonnes de pesticides périmés est stockée en Algérie depuis 1997- 1998, face à 8 tonnes au Maroc et 10 tonnes en Turquie selon l'institut national de la protection des végétaux (**INPV**) en Algérie.

2.4. CLASSIFICATION DES PESTICIDES

2.4.1. Classement selon la cible visée

Ils peuvent être également regroupés selon leurs cibles principales qui sont pour la majorité d'entre elles des champignons, des bactéries, des mauvaises herbes ou des insectes considérés comme nuisibles à l'agriculture. Il est à noter que plusieurs familles chimiques peuvent être utilisées pour une même cible et qu'une même famille chimique peut regrouper des substances dont les cibles, les modes et les mécanismes d'action sont différents : par exemple les carbamates peuvent être des insecticides, des herbicides ou des fongicides alors que les dithiocarbamates sont des fongicides.

➤ Les insecticides

Un insecticide est une substance active ou une préparation ayant la propriété de tuer les insectes (**Cruz, J.F., Diop, A.1989**). Ils englobent trois classes principales: les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes de synthèse. Leurs modes d'actions est fondé sur la perturbation du système nerveux, de la respiration cellulaire, de la mise en place de la cuticule, ou de la perturbation de la mue.

➤ Les fongicides

Ce sont des produits destinés à lutter contre les maladies dues aux champignons parasites des cultures ou encore des bactéries. Ils peuvent agir différemment sur les plantes soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire, soit en perturbant la biosynthèse des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides.

Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent des dommages aux végétaux cultivés. Ces affections se traduisent par l'invasion des tissus de la plante (y compris ceux du bois, dans certains cas pour les arbres cultivés) par le mycélium de champignons microscopiques qui peuvent provoquer la mort de la plante tout entière comme à titre d'exemple, le mildiou de la pomme de terre ou de la vigne, les charbons et les rouilles des céréales constituaient autrefois de véritables fléaux (**Ramade, 2005**).

➤ **Les herbicides**

Les herbicides sont appelés parfois désherbants, ce sont des matières actives ou des produits formulés ayant la propriété de tuer les végétaux ou à limiter leur croissance qu'ils soient ligneux ou herbacés.

Les herbicides de synthèse ont aussi connu un extraordinaire essor de leur usage au cours du dernier demi-siècle. Ce sont en tonnage les plus utilisés des pesticides dans les pays développés devant les insecticides (**Ramade, 2005**).

2.4.2. Classification selon la nature chimique de la molécule

Les pesticides sont habituellement classés par famille en fonction de leur structure chimique, ou le groupe chimique : Il s'agit d'un classement technique à partir de la molécule principale utilisée. (**Christine, 2008**). Selon **Bouchon** et **Lemoine (2003)**, les pesticides sont habituellement classés selon leur composition chimique en plusieurs grandes familles dont les principales sont: les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthriinoïdes de synthèse chacun caractérisé par un mode d'action propre à sa famille chimique (bromoxynil), on distingue :

Les organochlorés, parmi les plus anciens et les plus persistants, dont le fameux DDT déjà évoqué. Ils sont surtout utilisés comme insecticides en agriculture et dans les métiers du bois. (Exemples : aldrine, dieldrine, etc.)

Les organophosphorés, eux aussi utilisés comme insecticides.

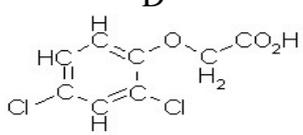
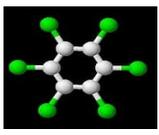
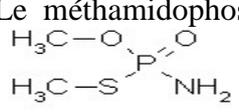
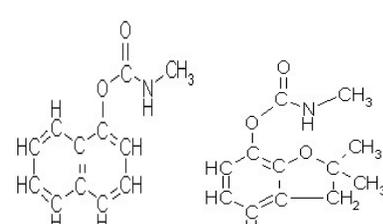
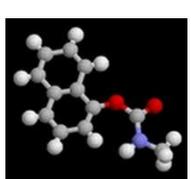
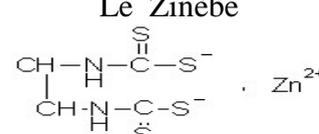
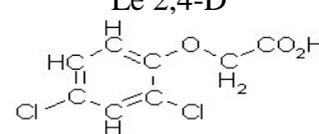
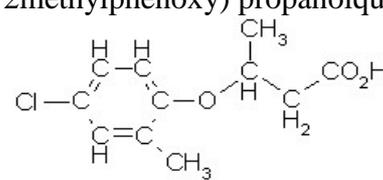
Les carbamates, fongicides et insecticides.

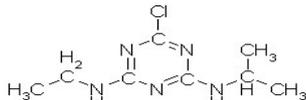
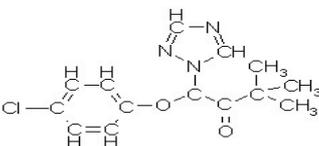
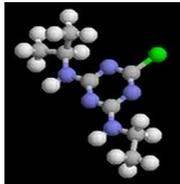
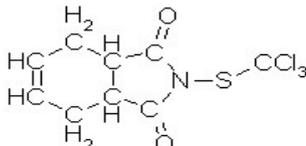
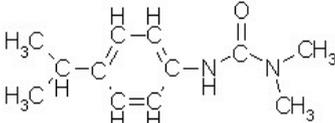
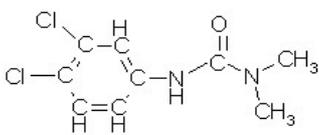
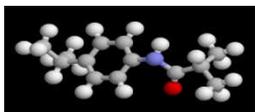
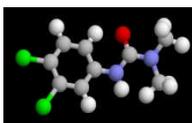
Les phénoxy, herbicides - (Exemple 2-4 D)

Les organo-azotés, repérables par le suffixe « zine », principalement utilisés comme herbicides. (Exemple : atrazine, simazine, etc.)

Les urées, repérables par le suffixe « uron », utilisés comme herbicides et fongicides. (Exemple : Diuron, Isoproturon, etc.).

Tableau 1-2. Les différentes familles des pesticides selon leurs natures chimiques
(Christine, 2008)

Famille de molécules	Exemples	Modèle moléculaire
Les Organochlorés « Insecticide »	Le lindane : Le DDT Le 2,4-D 	Le lindane) 
Les Organophosphorés « Insecticide »	Le méthamidophos 	
Les Carbamates « Insecticide »	Le Carbaryl Le Carbofuran 	Le Carbaryl 
Les Dithiocarbamates métalliques « Fongicide »	Le Zinèbe 	
Les Acides phénoxyalcanoïques « Herbicide »	Le 2,4-D  Le MCPP acide 2-(4-chloro-2méthylphénoxy) propanoïque 	

<p>Les Organo-Azotés « Herbicide »</p>	<p>L' Atrazine</p>  <p>Le Triadiméfon</p> 	<p>L' Atrazine</p> 
<p>Les Phtalimides« Fongicide »</p>	<p>Le Captane</p> 	
<p>Les Phénylurées « Herbicide »</p>	<p>L' Isoproturon</p>  <p>Le Diuron</p> 	<p>L' Isoproturon</p>  <p>Le Diuron</p> 

2.5. PRESENTATION COMMERCIALE DES PESTICIDES

Les produits commerciaux contenant des pesticides sont présentés à l'utilisateur sous différentes formes : liquides, poudres, granulés, gels de contact, fumigènes... et selon différents conditionnements : bidons, sacs, sprays, pièges, plaquettes pour diffuseur... Outre la ou les substances actives ayant une action pesticide, les produits commerciaux contiennent des adjuvants (solvants, tensioactifs, conservateurs), et parfois des impuretés de fabrication. Les métabolites de la substance active, les adjuvants et les impuretés peuvent posséder leur propre toxicité ou interférer avec la substance active. Des informations légales les concernant sont disponibles dans les fiches de données de sécurité, en fonction du degré de toxicité et de la quantité présente dans produit final. La composition exacte du produit final peut donc ne pas être mentionnée dans son intégralité.

2.6. REGLEMENTATION EN VIGUEUR POUR L'UTILISATION DES PRODUITS PHYTOSANITAIRES : HOMOLOGATION

Pour être mis sur le marché, chaque produit phytosanitaire doit être homologué sur la base de l'analyse d'un dossier complet fourni par le demandeur et expertisé par les instances compétentes. L'homologation nationale a été harmonisée avec l'homologation internationale. Le texte d'homologation est complété par les directives des états (tel que la **directive européenne 199/45/CE**) spécifiant les lois et la régulation de la classification, de la formulation et de la dénomination des préparations chimiques dangereuse.

L'évaluation du risque d'un produit phytosanitaire pour l'homme est constituée d'une batterie de tests imposés par la **directive 91/414/CE** ; des tests de toxicité (aiguë, à court et à moyen terme), de mutagénèse, de cancérogénèse, et de tests de toxicité pour la reproduction.

2.7. DEVENIR DES PESTICIDES DANS LE SOL

2.7.1. Dispersion

Dès qu'ils atteignent le sol ou la plante, les pesticides commencent à disparaître : ils sont dégradés ou sont dispersés. Les matières actives peuvent se volatiliser, ruisseler ou être lessivées et atteindre les eaux de surface ou souterraines, être absorbées par des plantes ou des organismes du sol ou rester dans le sol, rarement plus de 5 à 10 ans (**Leonard, 1990 ; Schiavon et al., 1995**).

Le terme dispersion est employé ici pour qualifier le passage des substances dans les différents compartiments de l'environnement (eau, sol, air, organismes vivants). Quelque soit le mode d'application, le sol est le lieu de transit obligatoire des produits phytosanitaires. La dispersion est alors logiquement déterminée par le devenir dans le système sol (**Calvet et Charnay, 2002**).

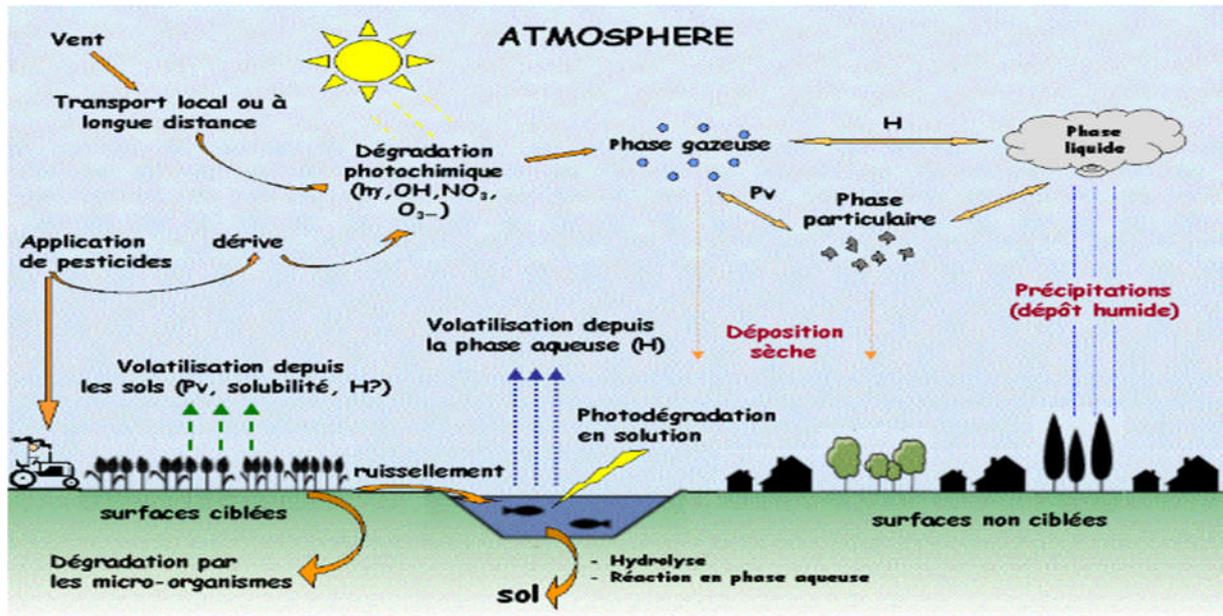


Figure 1.2 : Devenir des pesticides dans l'environnement (Berrah, 2011)

2.7.2. Ruissellement et lixiviation

Une importante quantité des pesticides utilisés contre des organismes vivants nuisibles se retrouve sur le sol. De là, les molécules de pesticides sont entraînées par le ruissellement dans les cours d'eau, et par lixiviation dans le sol et la nappe phréatique. Le comportement global des pesticides dans le sol est complexe car il dépend d'une multitude de processus interconnectés et de la diversité des molécules actives (Colleu et Mignard, 2000; Barussio *et al.*, 1996 et Calvet *et al.*, 2005).

2.7.3. Volatilisation

C'est l'une des causes principales de fuites de pesticides hors la zone cible, ces pertes dépassent souvent en importance celles dues à la dégradation chimique, ou au ruissellement et à la lixiviation (Taylor et spencer, 1990), les molécules pesticides peuvent être véhiculées fort loin par les courants aériens et compensés par la dilution très rapide dans l'atmosphère.

La constante de Henry, rapport de la pression de vapeur à la solubilité dans l'eau, rend mieux compte du taux de volatilisation d'une substance que sa seule pression de vapeur (Jury, 1984 ; Spencer et Cliath, 1990 ; Dabéne et Marié, 1993).

On a, d'autre part, rapporté que les vapeurs pouvaient être concentrées dans les gouttelettes de brouillard puis redéposées sur les végétaux (Glottelty *et al.*, 1987)

2.7.4. Rétention

Certains processus tendent à fixer le pesticide ou ses métabolites sur la phase organo-minérale du sol: c'est la rétention du pesticide. Une forte rétention du pesticide par les matières organo-minérales réduit les risques de pollution par les transferts hydriques. La rétention conditionne la disponibilité des produits pour leur dégradation. En pratique, c'est le couple rétention-dégradation qui détermine la mobilité des substances. (**Aubertot, 2005**)

2.7.4.1. Rétention par des composants organiques et minéraux

La rétention se réfère à la capacité du sol à retenir le pesticide et à limiter son déplacement à l'intérieur ou à l'extérieur de la matrice du sol. La rétention peut être également définie comme le passage des molécules sur la phase solide du sol à partir, soit de la phase gazeuse, soit de la phase liquide (**Calvet et Charnay, 2002**).

Ce terme englobe donc les processus d'adsorption, mais aussi l'absorption dans la matrice et les organismes du sol, les plantes ou les microorganismes. La rétention contrôle et, par la suite, est contrôlée, par les processus de transformation chimique et biologique. Elle influence également fortement le transport chimique vers l'atmosphère, l'eau souterraine et les eaux de surface (**Calvet et al., 1980**).

Le terme « adsorption » fait souvent référence au processus réversible impliquant l'attraction d'un composé chimique sur la surface d'une particule de sol et la rétention d'un composé sur la surface pour un temps qui dépend de l'affinité du composé pour la surface. En pratique, l'adsorption est toujours déterminée par la perte chimique à partir d'une solution, ainsi le terme est souvent remplacé par la notion plus générale de sorption. La sorption se réfère au processus de rétention générale sans distinction entre les processus spécifiques d'adsorption, absorption et précipitation. L'ensemble des processus individuels constituant la rétention sont hautement complexes, résultant notamment de l'hétérogénéité du sol et des interactions de celui-ci avec les systèmes biologiques, atmosphériques et hydriques. La réactivité absorbante des surfaces organiques ou inorganiques du sol vis-à-vis des molécules organiques est particulièrement dépendante du nombre et du type des groupes fonctionnels sur les surfaces accessibles (**Koskinen et Harper, 1990**).

Une variété de mécanismes ou forces peut lier les composés organiques à la surface du sol. Ils peuvent ainsi être retenus par des liaisons physico-chimiques telles que des forces van der

Waals, des liens hydrogènes, des interactions dipôle-dipôle, des échanges d'ions, des liens covalents, des protonations, des échanges de ligand, des ponts cationiques et d'eau avec des degrés variables de forces d'interactions. Pour un composé donné, une augmentation de polarité, du nombre de groupes fonctionnels et de la nature ionique du composé renforcera le nombre de mécanismes d'adsorption potentiel pour le composé. A une température donnée, l'adsorption est déterminée par :

- Les propriétés moléculaires de la substance active, tels que son caractère ionisable (caractère acide ou base faibles) et son affinité pour l'eau (caractère hydrophobe/hydrophile)
- Les propriétés adsorbantes du sol : teneur, nature et propriétés des constituants minéraux et organiques
- les propriétés de la phase liquide du sol : composition ionique (pH en particulier), la quantité et la répartition de la solution dans l'espace poral du sol (**Calvet et Charnay, 2002**).

Les processus de rétention des pesticides dans le sol réduisent leur mobilité et diminuent ainsi, au moins temporairement, leur transfert vers l'air ou l'eau.

Pour les molécules non ionisées, la rétention augmente avec la teneur en matière organique du sol. Pour les autres molécules, polaires ou « ionisables », la prédiction de la rétention est plus délicate.

La rétention évolue néanmoins dans le temps et peut devenir à peu près irréversible jusqu'à créer des résidus liés, non extractibles, dont on ne connaît ni la nature chimique, ni la capacité de libération ultérieure (**Aubertot, 2005**).

2.7.5. Persistance ou rémanence

La rémanence est la persistance des pesticides dans le milieu. Les pesticides se dispersent dans l'air, l'eau et les sols où ils persistent plus ou moins longtemps selon la nature du produit et les conditions du milieu. Tout surdosage doit être évité car il conduit à une augmentation de la rémanence. La rémanence d'un produit est également influencée par les conditions

environnementales (t°, humidité, pH du milieu) et la présence d'autres pesticides ou substances chimiques dans le sol.

Les processus de dissipation déterminant la persistance des pesticides dans le sol ne conduisent pas toujours à la minéralisation des molécules. Ils peuvent engendrer des produits de dégradation (métabolites) pouvant contaminer durablement les ressources en eau. On peut alors parler de rémanence des pesticides dans l'eau. Il ressort de la littérature de nombreuses études portant sur la dissipation des pesticides dans l'environnement, mais peu appréhendent le très long terme. Innovations Agronomiques (**Schrack *et al.*, 2009**).

Tableau 1-3.Rémanence de quelques pesticides dans le sol (**Boseret, 2000**).

Pesticide	Rémanence
DDT (organochloré)	4-30 ans
Lindane (organochloré)	3-10ans
Endosulfan (organochloré)	2 mois à 2ans
Carbofuran (carbamate)	6 mois
Parathion (organophosphoré)	3-6 mois
2,4 5-T	3-5 mois
2,4-D	4-6 mois

Les organochlorés (DDT, lindane et endosulfan) sont les pesticides les plus rémanents. Leur rémanence dans le sol peut atteindre 30 ans alors que ceux des organophosphorés (parathion) et des carbamates (carbofuran) ne sont que de six (6) mois (Tableau 1-3).

2.7.6. Dégradation chimique

Le processus de dégradation est un facteur de dépollution majeur des compartiments environnementaux contaminés par les pesticides, s'il aboutit toutefois à une minéralisation totale (lorsque ce n'est pas le cas, une pollution peut être causée par les métabolites issus de la dégradation). Il dépend de la stabilité chimique de la molécule et de facteurs abiotiques (température, humidité) Rétenion et dégradation ne sont pas des phénomènes indépendants ;

Dans le sol le rôle de l'acide humique dans la transformation abiotique des pesticides est moins étudié que celui des argiles (**Metinnen, 1993**). Hormis son influence sur l'état d'ionisation de la matière active, le pH agit sur les processus de dégradation dont le mécanisme peut être différent selon que le milieu est acide ou basique (**Hequet, 1995**).

Le pH et la température semblent également avoir un impact sur le processus d'hydrolyse qui est favorisé lorsque cette dernière augmente (**Taylor, 1995 ; Dominique, 2000 ; El bakouri, 2002**).

2.7.7. Biodégradation par les micro-organismes

Les traitements répétés d'un sol avec un même pesticide peuvent conduire à sélectionner une microflore adaptée qui accélère la dégradation du pesticide. Il existe une variabilité importante des vitesses de dégradation d'une molécule donnée, qui sont donc difficiles à prévoir avec précision. (**Hayo et Vander Werf, 1997**)

La biodégradation comme la destruction partielle ou totale d'une substance sous l'effet du métabolisme de ces micro-organismes. Cette substance est une source de carbone fournissant l'énergie nécessaire aux réactions chimiques (**Burgher, 1998**).

La résistance aux pesticides est l'expression de la capacité des organismes à s'adapter à des nouvelles conditions. L'acquisition de la résistance à un pesticide est principalement liée à deux mécanismes : la modification du site d'action, la détoxification accrue (**Le Clech, 1998**).

2.7.8. La bioaccumulation

Toute substance qui contamine le milieu naturel peut être concentrée par les êtres vivants grâce aux échanges permanents avec le milieu extérieur et aux divers processus métaboliques. Cette concentration se fait selon un niveau variable suivant le maillon de la chaîne trophique considéré et qui subit les effets à long terme.

Pour ce qui est des substances liposolubles, la bioaccumulation dépend du coefficient de partage Octanol-eau K_{ow} ; si celui-ci est élevé et la vitesse de dégradation faible, la substance s'accumulera à des concentrations croissantes dans les organismes se succédant le long de la chaîne trophique. C'est ce qu'on appelle la bioaccumulation (**Cooper, 1991**). Il est évident qu'un pesticide qui suit ce processus est, à exposition et toxicité égales, plus dangereux pour l'environnement qu'un autre produit qui ne s'accumule pas.

Les végétaux absorbent les pesticides par le système racinaire. Cette accumulation dans la biomasse des producteurs primaires à un taux bien supérieur à celui du sol, constitue le premier maillon de la concentration des chaînes trophiques alimentaires. Il y a également une concentration verticale des toxiques, le long des chaînes trophiques; et le plus haut coefficient de concentration se trouve au niveau du dernier maillon.

Ces concentrations en résidus totaux chez les prédateurs peuvent être suffisantes pour compromettre leur reproduction et même dans certains cas plus rares, faire périr les adultes. Une faible contamination initiale peut conduire à des cas de stérilité ou de mortalité en bout de chaîne (**Di Geronimo, 1987**).

Une étude a montré que le DDT présent à un taux d'environ 0,000002 ppm dans l'eau, passe à 0,04 ppm dans le plancton, 1,5 ppm chez les poissons de taille moyenne et enfin à 20 ppm pour les oiseaux de proie des ces poissons. La concentration est passée donc de 0,000002 ppm à 20 ppm ; soit multipliée par un facteur de 10 millions (**Lafont, 1975**).

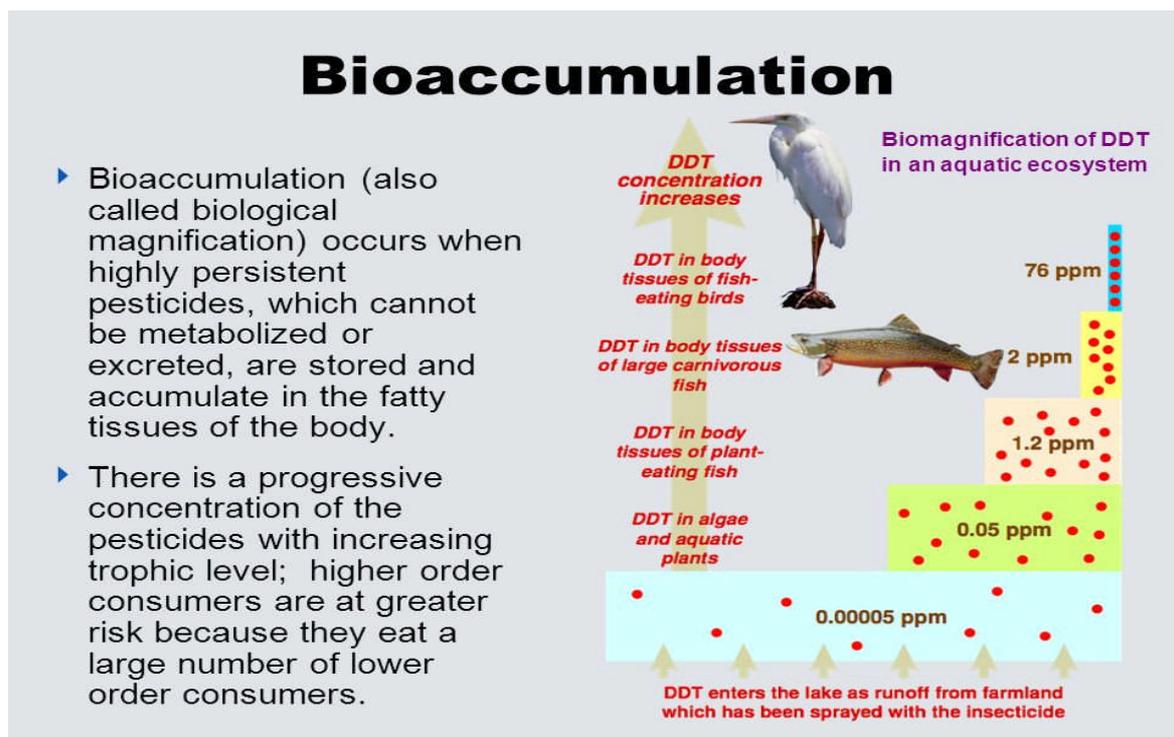


Figure 1-3. Bioaccumulation des DDT en écosystème aquatique.

(**Brooks/Cole, Thomson Learning, 2002**).

2.7.9. Stabilisation des pesticides sous forme de résidus non extractibles

Une proportion importante (20 à 70%) d'un pesticide (ou de ses métabolites) peut persister dans le sol liée aux colloïdes (**Calderbank, 1989**). Dans cet état, les molécules actives sont difficiles à extraire et à caractériser et elles ont tendance à perdre leur activité biologique. Beaucoup de pesticides qu'on croyait dégradés rapidement ont été retrouvés dans cet état lié. Dès leurs arrivées au sol, les pesticides sont soumis à différents processus impliqués dans leur dissipation apparente. La formation de résidus non extractibles ou « résidus liés » constitue une composante majeure de cette dissipation (**khan, 1982 ; Lichtenstein et al., 1977 ; Schiavon et al., 1977**).

Une première définition a été proposée par l'Agence américaine de protection de l'environnement (US Environmental Protection Agency – USEPA) en 1975, les résidus liés sont des résidus de pesticides non extractibles par des solvants organiques, non identifiables chimiquement et qui restent, après extraction exhaustive, au sein des fractions acides humiques, acides fulviques et humines. »

Classiquement, les résidus liés sont mis en évidence lors d'expériences d'incubation de sol traités avec des pesticides marqués au carbone 14 (**Betrin et Schiavon, 1989**). Après incubation, les sols sont soumis à l'extraction exhaustive des résidus, souvent à l'aide de solvants organiques. La radioactivité restant dans le culot d'extraction, quantifiée par la mesure du $^{14}\text{C-CO}_2$ obtenue par combustion du culot, correspond aux résidus liés. La formation des résidus liés peut être interprétée comme un processus de dissipation, car le pesticide initial n'est plus extractible. Mais les résidus liés peuvent aussi être considérés comme le résultat d'un processus de stabilisation, car une partie du pesticide appliqué est toujours présente dans le sol. La non-extractibilité des résidus des pesticides est expliquée par différentes hypothèses (**Betrin et Schiavon, 1989 ; Calderbank, 1989 ; Dec et Bollag, 1997**); toutes font intervenir des mécanismes d'interaction entre les pesticides et leurs métabolites et les constituants des sols, en particulier les matières organiques. Ces interactions peuvent être regroupées en deux grandes catégories : celles qui font appel à l'établissement de liaisons chimiques et celles qui correspondent au piégeage physique dans la microporosité colloïdale des matières organiques et dans l'espace interlamellaire des argiles. Par ailleurs, la biomasse microbienne constitue un compartiment supplémentaire à considérer, car elle est un lieu de stockage de résidus liés, incorporant plus au moins intimement du carbone 14 provenant des pesticides marqués.

Elle intervient en partie dans la régulation des flux entre les autres compartiments du sol impliquée dans la rétention des pesticides, ainsi dans la remobilisation des résidus liés.

Ce phénomène est confirmé par de nombreux travaux (**Benoit, 1994**) : il y a une relation entre l'activité microbienne du sol et le taux de formation des résidus liés pour un pesticide donnée.

En faisant l'hypothèse que les résidus liés sont les résultats d'un processus de stabilisation des pesticides (ou de leurs métabolites), (**Barriuso et Houot, 1996**) ont évalués les risques d'accumulation de ce type de résidus, ainsi que les risques de leur libération plus au moins différée. Ils ont pour cela mis en place une série de dispositifs expérimentaux couplés : microsomes et mini-lysimètres, avec différents sols et conditions climatiques. Le choix des sols a été fait en fonction de leurs comportement vis –à-vis de la dégradation de l'atrazine (**Barriuso et Houot, 1996**).

2.8. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES PESTICIDES

La prise en compte des caractéristiques des pesticides est nécessaire pour l'identification des molécules qui peuvent constituer un risque potentiel de contamination des ressources en eau.

La plupart des approches d'estimation du risque de transfert des produits phytosanitaires vers les différents compartiments de l'environnement utilisent des paramètres qui caractérisent les propriétés physico-chimiques des molécules, leur adsorption et leur persistance dans le sol (**El Arfaoui, 2010**).

Les pesticides regroupent une grande diversité de structures chimiques et chaque molécule constitue une entité qui se caractérise par un ensemble de propriétés bien spécifiques.

2.8.1. Pression de vapeur ou tension de vapeur

La pression de vapeur caractérise l'aptitude d'une substance active à se volatiliser. Elle est exprimée en Pascal (Pa), autrefois en millimètres de mercure ($101325 \text{ Pa} = 1 \text{ atmosphère} = 760 \text{ mm Hg}$).

2.8.2. Constante de Henry

La constante de Henry caractérise l'aptitude d'une substance active en solution à se volatiliser. Elle s'exprime en Pascal / m^3 / mol. La température accompagne cette donnée.

2.8.3. Solubilité dans l'eau ou dans les solvants organiques

La solubilité est exprimée :

- par une valeur numérique (en g/L ou mg/L) dans l'unité la plus adéquate.
- par une appréciation qualitative choisie dans une gamme hiérarchisée (de insoluble à miscible).

2.8.4. Coefficient de partage octanol/eau (P)

P : est le coefficient de partage octanol/eau. C'est une grandeur sans dimension, définie à une température et à un pH donnés. On peut aussi l'appeler K_{ow} . Il est souvent exprimé en logarithme décimal.

Log P est un indicateur de liposolubilité d'une substance. Si $\log P \geq 3$, la substance active est susceptible de bioaccumulation.

2.8.5. Vitesse d'hydrolyse

Elle est évaluée par le temps de dégradation de 50 % de la substance active (**DT50**) dans l'eau, exprimée en jours ou en heures à un pH donné et déterminée par un test de laboratoire.

2.8.6. Vitesse de photolyse

Elle est évaluée par le temps de dégradation de 50 % de la substance active (**DT50**) dans l'eau sous l'influence de la lumière, exprimée en jours ou en heures à un pH donné et déterminée par un test de laboratoire.

La nature de la source de lumière est précisée (naturelle ou lampe au xénon) ainsi que la durée et l'intensité de l'éclairage. S'il s'agit d'une lumière naturelle, le lieu et la saison sont mentionnés.

2.8.7. Dissociation dans l'eau (pKa)

Le pKa est la constante de dissociation, il définit la force d'un acide. Il précise à quel pH, il y a changement dans l'état d'ionisation de la molécule. C'est une grandeur sans unité, en général déterminée à 20° C sinon la température est précisée.

Le pK_b est défini par la relation $pK_a + pK_b = 14$. Certaines molécules ne sont pas dissociées dans l'eau, il sera alors indiqué " absence de dissociation ".

2.8.8. Dose létale 50 (DT50)

C'est le paramètre de demi-vie, il est couramment employé pour représenter le temps nécessaire pour réduire de moitié une quantité initiale donnée de pesticide dans des conditions données (laboratoire, plein-champ). Ce paramètre caractérise donc la persistance du pesticide, facteur impliqué dans la détermination du caractère polluant potentiel d'un pesticide. En effet, plus le pesticide est persistant dans les sols, plus il a de chances de subir des transferts vers les eaux souterraines ou superficielles.

2.8.9. Koc et Kd

Le Koc permet d'évaluer la mobilité de la substance dans le sol et le risque de transfert de la substance active vers les eaux superficielles ; c'est le coefficient de partage carbone-eau. La rétention des pesticides par les sols peut être caractérisée également à l'aide du coefficient Kd ou coefficient de distribution du pesticide entre les phases liquide et solide. Ce coefficient déterminé à l'équilibre traduit l'affinité du sol pour le pesticide. Comme la matière organique est considérée comme le constituant du sol majoritairement responsable de l'adsorption des pesticides, le coefficient Kd est fréquemment normalisé par rapport à la teneur en carbone organique du sol, pour donner ainsi le coefficient Koc.

Les paramètres DT50 et Koc sont souvent pris en compte pour estimer le risque de transfert des pesticides vers les eaux souterraines. Par exemple, l'indice de mobilité GUS (Groundwater Ubiquity Score) proposé par (**Gustafson, 1989**) se base sur ces deux paramètres pour classer les pesticides selon le risque de lixiviation qu'ils présentent.

Un autre exemple d'indice de mobilité utilisé est le Leaching Index (LEACH) utilisant en plus de ces paramètres la solubilité et la pression de vapeur des molécules (**Chen et al., 2002 ; Papa et al., 2004**).

Par exemple, le paramètre de demi-vie DT50 est couramment employé pour représenter le temps nécessaire pour réduire de moitié une quantité initiale donnée de pesticide dans des conditions données (laboratoire, plein-champ). Ce paramètre caractérise donc la persistance

du pesticide, facteur impliqué dans la détermination du caractère polluant potentiel d'un pesticide. En effet, plus le pesticide est persistant dans les sols, plus il a de chances de subir des transferts vers les eaux souterraines ou superficielles.

Les paramètres DT₅₀ et Koc sont souvent pris en compte pour estimer le risque de transfert des pesticides vers les eaux souterraines. Par exemple, l'indice de mobilité GUS (Groundwater Ubiquity Score) proposé par (**Gustafson, 1989**) se base sur ces deux paramètres pour classer les pesticides selon le risque de lixiviation qu'ils présentent.

2.9. TOXICITE DES PESTICIDES

Les pesticides représentent de loin les composés xénobiotiques les plus systématiquement introduits dans l'environnement et les plus largement utilisés sur les cultures les plus variées. Malgré l'importance des quantités mises en jeu, on connaît encore très mal les effets secondaires des pesticides sur les microorganismes du sol. Seuls les produits les plus anciens ou les plus massivement employés ont donné lieu à des études d'impact et par suite de la grande diversité des molécules commercialisées il est très difficile d'en tirer des conclusions générales (**Davet P, 1996**)

2.9.1. Effets des pesticides sur le sol

Les sols sont par excellence, le milieu de contamination et d'entreposage des pesticides dans lesquels ces derniers s'accumulent par absorption et adsorption avant d'entrer en contact avec la faune et la flore endogées. Les plantes contribuent au déplacement des pesticides puisqu'elles absorbent ces derniers par leurs racines, leurs tubercules, bulbes ou rhizomes, dont certains seront par la suite consommés (**Regnault R et al., 2005**).

Lors de l'application, les pesticides peuvent être introduits directement dans l'environnement en phase liquide (aérosol ou solution) ou en phase solide (poudre, poussières « dust » en anglais, microcapsule ou granule). Les jets peuvent être dirigés sur le feuillage ou le sol, le pesticide peut être également incorporé directement dans le sol (à quelques millimètres de la surface).

Les sources de produits phytosanitaires dans le système sol incluent donc les événements d'application, les dépôts secs et humides atmosphériques, le lessivage foliaire et les déversements accidentels sur ou dans le profil de sol. L'application marque généralement

l'origine temporelle de l'entrée du pesticide dans le système sol, mais d'autres processus peuvent donc avoir lieu lors des événements pluvieux successifs (lessivage foliaire, dépôt humide) ou entre ceux-ci (dérive atmosphérique d'autres applications, dépôt sec).

Les produits pulvérisés spécifiquement sur végétation restent généralement en surface du végétal sauf dans le cas des produits systémiques dont une très faible partie pénètre à l'intérieur du végétal (**Severin, 2002**). La partie restée en surface sera soumise à trois grands groupes de phénomènes qui expliqueront la vitesse d'élimination du produit. Il est donc clair que les pesticides appliqués sur la surface des végétaux possèdent une « entrée retardée » dans le système sol par rapport à une application directe sur celui-ci. De plus, il apparaît qu'il peut exister une variabilité spatiale lors de l'application au niveau d'une parcelle culturale (jusqu'à 24% de variabilité pour une application mécanisée de l'atrazine selon **Baer (1996)**).

Particulièrement au niveau de la viticulture, compte tenu de son organisation culturale spécifique, l'entrée du pesticide dans le système sol ne peut pas être considérée comme homogène sur une parcelle (**Louchart, 1999 ; Lennartz et al., 1997**). Celle-ci est influencée par la formulation du produit, l'appareil utilisé, son réglage et la météorologie au moment de son application (**Himel et al., 1990 ; Brown et al., 1995**).

Finalement, dans l'optique d'une comparaison des pertes en substances actives pour des pratiques phytosanitaires différentes (méthodes d'apport différents, produits différents avec des formulations distinctes...), il n'apparaît pas forcément judicieux de se baser sur la quantité appliquée déclarée par l'applicateur pour calculer les pourcentages de pertes, car il existe une différence indéniable entre la quantité déclarée par l'applicateur et la quantité réellement appliquée : par exemple d'un facteur 0,5 pour une parcelle désherbée totalement (**Lennartz et al., 1997**), ou d'un facteur 0,8 (**Van Wesenbeeck et al., 2001**).

La difficulté est de pouvoir connaître l'influence des différents facteurs sur la quantité arrivant réellement au niveau du sol. Ne pouvant répondre à cette question actuellement, les pourcentages de perte sont calculés à partir des quantités déclarées par l'applicateur et sont donc généralement majorées.

2.9.2. Effets des pesticides sur L'eau

Les pesticides utilisés en agriculture, en sylviculture et ceux rejetés l'industrie et les communautés urbaines peuvent, dans certaines conditions, atteindre et polluer les milieux aquatiques (**Fournier, 1989**).

Cette pollution demeure un problème préoccupant à la fois par suite de son impact potentiel sur les populations piscicoles des eaux continentales mais aussi ce qui concerne l'approvisionnement des réseaux d'adduction (**Ramade, 2000**).

Contrairement à d'autres polluants agricoles dont la présence et les effets sont facilement visibles dans les cours d'eau, la présence de pesticide est rarement apparente.

Les pesticides peuvent nuire aux organismes aquatiques qui vivent dans les cours d'eau par exemple, la concentration des pesticides dans les cours d'eau pourrait être à l'origine de l'apparition de certains effets tels que (**Belhani, 2006**).

- ❖ la réduction de la croissance des algues du contenu en chlorophylle et de la photosynthèse du phytoplancton.
- ❖ la diminution de l'abondance du zooplancton herbivore.
- ❖ la diminution de l'abondance de certaines plantes aquatiques.

2.9.3. Effets des pesticides sur L'atmosphère

La contamination de l'atmosphère par les pesticides s'effectue par dérive au moment des applications : fraction de la pulvérisation qui n'atteint pas le sol ou la culture et qui est mise en suspension par le vent et les courants d'air. A ce niveau, les traitements aériens contribuent de façon significative à la contamination de l'atmosphère par érosion éolienne sous forme adsorbé sur les poussières des sols traités. Une fois dans l'atmosphère, ces composés peuvent être précipités vers le sol, soit sous forme humide (pluie et neige) soit sous forme sèche (particules) ou être dégradés. Par conséquent. Ces substances peuvent être transportées, transformées dans le compartiment aérien avant de se déposer quelques fois sur des zones très éloignées des sources d'émissions (**anonyme1**).

2.9.4. Effets des pesticides sur la plante

L'absorption des pesticides du sol par les plantes est probablement une des voies majeures qui conduisent à leur accumulation le long des chaînes trophiques et, partant, à leur mise en contact avec l'homme et les animaux (**Paterson et al., 1990**).

L'absorption foliaire des substances volatilisées à partir du sol pourrait contribuer plus à l'accumulation de résidus dans les plantes que l'absorption par les racines (**Topp et al., 1986**).

Bien que la plupart des traitements soit appliquée sur les parties aériennes des plantes, une bonne partie du produit atteint toujours le sol. Durant les épisodes pluvieux, les pesticides présents sur les plantes ou adsorbés sur les particules du sol, peuvent rejoindre les écosystèmes aquatiques par l'intermédiaire des phénomènes de ruissellement et par conséquent impliquer une pollution des eaux des nappes phréatiques.

Les pesticides, insecticides, herbicides et fongicides exerce une action sur les différents processus biologiques de la plante en perturbant les différentes réactions chimiques et la qualité biochimiques des espèces végétales en agissant sur les sites non cibles des différents organes et cellules.

2.9.4.1. Action sur la photosynthèse

L'énergie lumineuse absorbée par la chlorophylle est utilisée par une chaîne de transfert d'électrons qui part de la photolyse de l'eau et aboutit à la réduction du NADP⁺.

Entre Les deux, les électrons sont transférés entre des ensembles protéiques dont les principaux sont les photosystèmes I et II, entre les deux se trouve le complexe des cytochromes b₆.

Parmi les familles les plus utilisées des pesticides, il y a les molécules qui agissent sur le PS II. Celui-ci transfère les électrons au complexe des cytochromes b₆ par le biais d'un transporteur mobile, la plastoquinone (pq). A l'état oxydé, celle-ci se fixe sur une protéine du PS II, qui la réduit en plastohydroquinone. L'affinité de la pqH₂ pour les protéines étant faible, elle s'en dissocie et diffuse vers le complexe des cytochromes b₆, qu'elle réduit.

D'autres par contre, entrent en compétition avec la plastoquinone en se fixant au niveau de son site de réduction, cependant, la mort de la cellule ne résulte pas de l'interruption de la production de sucres, mais de réactions de photo oxydation provoquées par un état excité de la chlorophylle ainsi que par la production d'une forme réactive de l'oxygène (**Hess, 2000**).

Le site d'action de quelques pesticides est situé dans les chloroplastes au niveau du PS I. Ce dernier réduit le NADP⁺ par l'intermédiaire de sa ferredoxine, la ferredoxine est réduite par une protéine du PS I. La ferredoxine transfère l'électron ainsi acquis à une molécule de dioxygène et retourne à son état initial (**Berkalof, 1997**)

Le système d'inactivation est alors saturé, l'ion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène s'accumulent et conduisent à la formation de radicaux hydroxyles qui sont de puissants oxydants. Ces produits chimiques hautement réactifs détruisent rapidement les cellules.

2.9.4.2 Action sur les membranes cellulaires

Le site d'action de plusieurs autres produits pesticides s'avère les membranes biologiques et les parois végétales; ils perméabilisent les membranes végétales aux ions H⁺ en les transportant à travers ces dernières (**Frear., 1976**).

Il se produit une entrée massive d'ions H⁺ dans le cytosol. Les ATPases plasmiques et tonoplasmique ont pour fonction d'expulser les ions H⁺ en excès dans le cytosol, respectivement vers la paroi et la vacuole.

Les membranes mitochondriales sont perméabilisées en bloquant ainsi la synthèse de l'ATP. La régulation du pH cytosolique ne peut donc s'effectuer et il en résulte une mort rapide de la cellule.

2.9.4.3. Action sur la synthèse de la cellulose

Certains pesticides inhibent la synthèse de la cellulose. Vu l'importance de ce polymère dans la constitution et la fonctionnalité des tissus végétaux, on comprend aisément l'effet de ces produits chimiques. (**Hogetsu et al., 1974 ;Hein et al., 1990**).

2.9.4.4. Action sur la synthèse des acides aminés

Quelques pesticides agissent sur les synthèses des acides aminés et les métabolites secondaires tels que les composés aromatiques. Ces produits chimiques de synthèse inhibent l'enzyme énoypyruvylshikimate 3-phosphate synthétase qui catalyse la condensation de shikimate 3 – phosphate et du phospho-énoypyruvate en 5- énoypyruvylshikimate- 3 – phosphate (**Amrhein et al., 1980**). Le blocage de l'acide shikimique se traduit évidemment par un arrêt de la synthèse protéique et provoque un épuisement des ressources carbonées de végétal par la dérégulation de l'entrée de carbone dans la voie de shikimate.

En plus il existe des pesticides qui inhibent aussi l'acetolactate synthétase qui est située au début des chaînes métaboliques conduisant à la synthèse des acides aminés (Leucine – isoleucine – valine).

Ces pesticides sont inhibiteurs de l'enzyme allostérique (**Schloss *et al.*, 1988**). Il a été constaté que l'action de ces pesticides résulte de l'accumulation d'alpha –cétobutyrate et alpha aminobutyrate, toxiques, plutôt que du tarissement de la source d'acides aminés branchés mais il existe un seul pesticide qui inhibe la glutamine synthétase.

La glutamine synthétase présente des formes cytosolique, et chloroplastique, et condense l'ammonium sur le glutamate. Le glufosinate-ammonium se fixe sur l'enzyme en compétition avec le glutamate et une fois lié, il est phosphorylé par l'ATP, ce qui rend sa liaison avec l'enzyme irréversible. Cette réaction permet de fixer l'ion ammonium, toxique pour le chloroplaste. En effet, l'ammonium est un perméabilisant de la membrane des thylakoides et en présence de trop fortes concentrations, le chloroplaste ne peut plus synthétiser l'ATP (**Hess, 2000**).

2.9.4.5. Action sur la synthèse des pigments

Les pesticides bloquent la synthèse des caroténoïdes et la chlorophylle à travers plusieurs sites. La première cible est la phloème désaturase, la deuxième cible est la 4- hydroxyphényl pyruvate dioxygènes et la troisième cible rassemble les produits bloquant la synthèse des caroténoïdes. De nombreux pesticides inhibent la protoporphyrinogène oxydase qui est une enzyme de la voie de synthèse des chlorophylles. L'action toxique résulte de l'accumulation de la protoporphyrine, sous de forte luminosité ces pesticides exercent une action rapide ; la mort de la plante fait suite à des dommages oxydatifs (**Hess, 2000**).

2.9.4.6. Action sur la division cellulaire

Des pesticides agissent via le sol où ils bloquent la croissance des racines, où les divisions cellulaires sont bloquées au stade de la prophase. Cette action résulte d'une fixation de pesticide sur l'alpha – tubuline (**Merejohn *et al.*, 1987**).

2.9.4.7. Action sur l'auxine

A faible dose, les pesticides agissent d'une manière similaire à l'auxine naturelle. A forte dose les plantes ne sont pas capables de régler leur concentration dans les différents tissus et ils occasionnent des perturbations de croissance. Il se produit aussi des fasciations ou

épaississement des tiges, qui résultent des proliférations cellulaires dans les cambiums. On considère que cette action est responsable de la mort de la plante traitée. Le développement anarchique du cambium comprime les vaisseaux et déprime les mouvements de sève. Encore des déchirures apparaissant sur la tige par lesquels s'engouffrent les micro-organismes (**Troyer, 2001**).

Quelques pesticides sont des inhibiteurs de transport de l'auxine ; ils inversent aussi le géotropisme (**Schmidt, 1997**).

2.9.4.8. Action sur la synthèse de l'acide folique

Il existe des pesticides qui inhibent la 7,8 – dihydropteroate synthétase responsable de la production de l'acide folique. Celui-ci est impliqué dans la synthèse des bases puriques et pyrimidiques de certains acides aminés (**Regnault- Roger, 2005**).

2.9.5. Effets des pesticides sur la faune

Pendant l'épandage de pesticides, divers organismes sont directement affectés, soit par des doses létales, soit par des concentrations sub-létales qui produisent des effets chroniques. Ils vont de la simple réaction neurophysiologique aux effets tératogènes, mutagènes ou cancérigènes par ailleurs, la rémanence des pesticides les maintient dans les différentes composantes de l'environnement (air, eau, sol) à des concentrations diverses, ce qui conduit à désintoxications à proximité ou à des distances considérables des territoires traités par ces composés. Que l'organisme soit atteint directement pendant l'épandage ou qu'il soit contaminé via l'air, l'eau, le sol ou la nourriture ingérée, son développement et sa survie seront fonction de la place qu'il occupe dans la chaîne trophique. Les systèmes reproducteurs des organismes sont également sensibles puisqu'un nombre élevé de pesticides agit comme des œstrogènes. La modification de potentiel reproducteur de l'espèce affectée peut conduire à des réductions sensibles de la biodiversité dans les zones contaminées. Le développement de l'irrigation a été couplé à l'emploi excessif de pesticides et d'engrais, ce qui a pollué les eaux de surface et eaux souterraines, empoisonnant l'eau potable et les toxiques dans les aliments et l'eau potables à des conséquences néfastes sur la santé des hommes et des animaux (**Regnault R, 2005**).

2.9.6. Effets des pesticides sur la microflore microbienne

Les pesticides ont des effets nocifs sur la microflore du sol, laquelle est essentielle au maintien de la fertilité. L'action du pesticide peut provoquer un ralentissement de l'activité de la biomasse microbienne et la sélection des populations les mieux dotés pour résister au pesticide ou pour l'utiliser comme source de carbone cela se traduit par des réajustements microbiens pouvant être associés à des modifications des caractéristiques physiologiques des sols et, peut-être aussi, à une diminution de la diversité des microorganismes (**Rouard et al., 1996 ; Soulas, 1996-c**) De très nombreux travaux ont montré que les traitements faits correctement ont un effet limité sur le métabolisme microbien du sol, car les espèces les plus sensibles peuvent être remplacées par de plus résistantes (**Gerber et al., 1989**). Un changement qui peut n'être pas dépourvu de conséquences néfastes à long terme, à cause des espèces phytopathogènes qui se trouvent parmi cette microflore (**Elmholt et al., 1991**).

L'application répétée de pesticides sur les parcelles agricoles peut conduire à l'adaptation de la microflore du sol qui acquiert les gènes codant les enzymes cataboliques responsables de la dégradation des pesticides. Du point de vue agronomique, la biodégradation accélérée peut, dans certains cas, être dommageable en diminuant l'efficacité du traitement phytosanitaire. Du point de vue environnemental, elle est en général intéressante parce qu'elle réduit la persistance du produit phytosanitaire dans le sol, limitant ainsi son transfert, vers les autres compartiments de l'environnement, notamment les eaux de surface et souterraines.

L'adaptation de la microflore du sol conduit à la mise en place du phénomène de biodégradation accélérée (BDA) qui se caractérise par la diminution de la demi-vie des molécules actives (**Topp et al., 2003**). Ainsi dans un sol adapté à la biodégradation accélérée de l'atrazine, la demi-vie de cet herbicide est de seulement quelques jours alors que dans un sol non adapté, sa demi-vie varie de quelques semaines à quelques mois. Du point de vue agronomique, la BDA peut, dans certains cas, être dommageable en diminuant l'efficacité du traitement phytosanitaire. La BDA représente donc à la fois un enjeu agronomique et environnemental.

2.10. EFFET DES PESTICIDES SUR L'HOMME

Lorsqu'un pesticide atteint des zones non cibles, ce qui peut arrivé de pire est que des gens s'empoisonnent. On estime à un million par an le nombre d'intoxications accidentelles par pesticides dans le monde et à 20 000 celui de cas mortels (**Who-unep, 1989**). Si l'on ajoute les cas intentionnels (il s'agit surtout de suicides) on arrive à 3 millions d'empoisonnements, dont 220 000 morts (**Levine, 1991**). Le plus souvent, le toxique est ingéré sous forme de résidus présents dans la nourriture ; mais l'absorption peut se faire dans l'eau de boisson, par l'air inhalé ou par contact de la peau avec le produit (**Spea, 1991**). Les agriculteurs et les ouvriers qui préparent les mélanges et réalisent les traitements risquent plus que le reste de la population d'être atteints par contact de la peau ou par inhalation.

C'est le manque de sélectivité des pesticides vis-à-vis de leur cible qui provoque la plupart des effets nocifs. Les animaux, l'homme absorbent les pesticides via la nourriture ou l'eau d'alimentation, via l'air respiré ou au travers de leur peau ou de leur cuticule. Ayant franchi diverses barrières, le toxique atteint les sites du métabolisme ou est stocké.

2.11. COMMENT TESTER LA TOXICITE D'UN PESTICIDE

On utilise habituellement pour estimer la toxicité d'une substance chimique :

- La DE50 ou CE50 : la dose (ou la concentration) qui provoque un effet particulier chez la moitié de la population soumise au toxique. Si cet effet est la mort, on parle de dose (ou de concentration) létale 50 (DL50 ou CL50).
- La DMSE : La dose (ou la concentration) maximale sans effet est la dose immédiatement inférieure à celle qui provoque le moindre effet dans la même épreuve expérimentale (**Severn et Ballard, 1990**). Dans les cas où les vitesses d'excrétion ou de métabolisation de la molécule sont faibles, où elle est liposoluble, où elle est fortement liée à d'autres constituants de l'organisme, sa concentration finale dans l'organisme sera plus élevée que dans le milieu de cet organisme (**Madhun et Freed, 1990**).

La toxicité, et notamment la toxicité chronique, se manifeste par des effets très divers. Pour ce qui est de l'impact sur l'homme, on doit prendre en compte, outre la toxicité proprement dite, les effets carcinogènes, immunodépresseurs, mutagènes, neurotoxiques et tératogènes (**Hayes, 1991**). On a montré récemment que les pesticides étaient capables d'endommager le système

immunitaire (**Culliney et al., 1992**) ou de perturber les régulations hormonales, tant chez l'homme que chez l'animal, provoquant des symptômes variés (**Leblanc, 1995**). Parmi les problèmes de santé humaine, on a soupçonné un lien entre la présence de produits chimiques « perturbateurs endocriniens » et un taux accru de cancers du sein, de la prostate, du testicule, d'endométriose, de malformations congénitales de l'appareil reproducteur masculin et de réductions du nombre de spermatozoïdes. (**Hileman, 1994 ; Davis et Bradlow, 1995 ; Kelce et al., 1995**).

Actuellement, on dispose de peu de données sur la toxicité aiguë pour l'homme (à partir de tests sur des mammifères) pour presque toutes les matières actives pesticides. Nos connaissances sur leur toxicité chronique sont insuffisantes pour beaucoup de substances. Soulignons qu'il aura fallu plusieurs décennies pour mettre en évidence les effets de perturbation des régulations hormonales que possèdent quelques-uns des pesticides les plus employés (ou leurs métabolites).

2.12. LES FACTEURS INFLUANCANT LA TOXICITE DES PESTICIDES

La toxicité des pesticides est testée par le fabricant mais parfois aussi par le Gouvernement. On utilise à cet effet, des animaux de laboratoire comme les rats, les lapins et la souris. L'évaluation de la toxicité aiguë de la matière active ou encore substance active a pour but d'évaluer les risques liés à la manipulation du produit. Car c'est lors de cette phase de manipulation (préparation de la bouillie, pulvérisation) que les risques d'intoxication sont plus élevés, notamment tant que le produit n'est pas dilué dans le pulvérisateur. (**Arsène, 2010**)

Plusieurs facteurs sont responsables de la toxicité de la substance active sur l'animal ou l'être humain :

- La dose.
- Les modalités de l'exposition.
- Le temps pendant lequel la personne est exposée.
- Le degré d'absorption.
- La nature des effets de la matière active et de ses métabolites.
- L'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme.
- La "sensibilité" personnelle (antécédents, patrimoine génétique, etc.)

CHAPITRE 2

**EFFETS DES PESTICIDES SUR LA
FERTILITE DU SOL. EVALUATION
DES INDICATEURS PHYSIQUES,
CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES.**

CHAPITRE 2. EFFETS DES PESTICIDES SUR LA FERTILITE DU SOL. EVALUATION DES INDICATEURS PHYSIQUES, CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES.

1. INTRODUCTION

L'épandage des pesticides dans un milieu est défini comme étant une contamination, une présence anormale de substances dans un compartiment de l'environnement. Pour tous les pesticides de synthèse, on peut donc parler formellement de contamination y compris pour les sols agricoles, même si la présence de pesticides y est attendue. Cette contamination désigne en outre la présence de substances au-delà d'un seuil pour lequel des effets négatifs sont susceptibles de se produire.

Pour la Contamination des sols, il n'existe pas de dispositif équivalent à ceux relatifs à l'eau et à l'air pour la caractérisation de la contamination des sols par les pesticides. La pollution chronique par certaines substances minérales (cuivre) et l'existence éventuelle de "résidus liés" (c'est-à-dire non extractibles par les méthodes classiques d'analyse) pose la question du risque environnemental à long terme. **(Cemagref, 2005)**

Au moment de la pulvérisation des pesticides, plus de 90 % des quantités utilisées de pesticides n'atteignent pas le ravageur visé. Bien au contraire, la part primitive de ce traitement aboutit dans les sols où elle subit plusieurs altérations. D'ailleurs, le devenir de ces produits phytosanitaires dans le sol est variable en fonction de leur nature et de leur composition chimique et les risques pour l'environnement sont d'autant plus grands que ces produits sont toxiques utilisés sur des surfaces et à des doses/fréquences élevées et qu'ils sont persistants et mobiles dans les sols; ainsi, ils sont soit, dégradés par les microorganismes ; ou par hydrolyse, ou adsorbés par les sédiments ou bien absorbés par les racines des plantes. Cependant, le sol est formé d'éléments minéraux et organiques ainsi que des organismes vivants essentiels à la qualité des sols à titre d'exemple, la microflore est essentielle au maintien de sa fertilité mais les effets nocifs de ces produits la mettent en danger. **(Davet, 1997).**

Cependant, des effets indirects sur le sol et ses composantes résultent de cette contamination :

- ❖ Des effets sur la physico-chimie du sol provoquant la perturbation ou la modification de ses paramètres indicateurs (texture, conductivité, pH, éléments minéraux majeurs et oligoéléments).

- ❖ Des effets sur la biologie du sol correspondant aux manifestations de la toxicité d'une substance pour les organismes et les microorganismes autochtones du sol qui représentent un facteur prépondérant dans le maintien de la fertilité du sol.
- ❖ Des effets sur la biochimie du sol. La plupart des transformations d'intérêt agronomique dans le sol sont d'origine biochimique. Leur déroulement est conditionné par la présence d'êtres vivants et par leurs enzymes. La connaissance de l'activité biologique d'un sol permet donc d'approcher la dynamique d'évolution du sol et les capacités d'échanges entre le sol et la plante telles que les activités enzymatiques du sol. La présence et l'activité d'êtres vivants dans le sol se traduit par la synthèse de toutes sortes d'enzymes localisées à l'intérieur des cellules (intracellulaires) ou à l'extérieur (extracellulaires), adsorbées sur des matières organiques ou minérales (argiles, etc.), formant des co-polymères avec des substances humiques.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation du site de prélèvement des échantillons de sol :

Le sol sur lequel nous avons mené nos expérimentations provient du site de l'Edough qui s'étend sur 90.000 hectares. C'est une zone écologiquement riche comprenant une frange littorale de 80 km, des montagnes forestières culminant à plus de 1.000 mètres (Bouzizi, 1.008 mètres), Le site est inscrit au sein des sites RAMSAR lors de la convention internationale sur les zones humides, aussi connue sous le nom de convention RAMSAR

La péninsule de l'Edough est située au Nord-Est algérien : latitude 36°55' Nord, longitude : 07°40' Est elle est bordée au Nord et au Nord-Est par le lac Fetzara et les plaines d'Annaba, par la plaine de Senhadja et les massifs de Chétaibi au Nord-Ouest .sa masse principale, allongée en direction N°55^E correspond au djbel Edough proprement dit. La ligne de crêtes, longue de 26km, atteint 1008m au Kef Sebaa. (**Hani et al.,1997**) les données climatiques sont recueillies auprès de la météo de Séraïdi.



Figure 2-1. Carte géologique du massif de l'Edough. Google earth (2017)

2.1.1. Les facteurs géologiques :

Le massif de l'Edough est constitué d'un socle métamorphique, d'une couverture sédimentaire et de roches éruptives. Située au nord-est de l'Algérie, la partie centrale du massif est constituée essentiellement de gneiss et migmatites à intercalation de marbres et d'amphibolites. L'altération superficielle de la roche mère (gneiss) a permis le développement d'un sol épais de près de 10 m, qui constitue un aquifère exploité par endroit.

2.1.2. Les facteurs climatiques :

La région étudiée est caractérisée par un climat méditerranéen. La température moyenne annuelle est de 15°C.

Par sa situation en altitude, la région reçoit des précipitations abondantes dont le total annuel est de 1043 mm à la station de Séraili pendant la période 1978-1995.

Les chutes de neige sont également fréquentes, elles accompagnent les pluies et les grêles et couvrent les sommets dont l'altitude dépasse les 700 m. Le couvert neigeux peut atteindre 20 cm.

2.1.3. La végétation :

La flore du massif forestier de l'Edough est caractérisée par deux essences principales: le chêne-liège, qui occupe 3419 ha et le chêne zen, qui couvre en massif compacts toutes les parties humides ou fraîches des versants Nord et Est. La Forêt domaniale de l'Edough s'étend sur une superficie de 527402.45 ha répartis administrativement sur le territoire de la Wilaya d'Annaba.

2.2. Prélèvement du sol

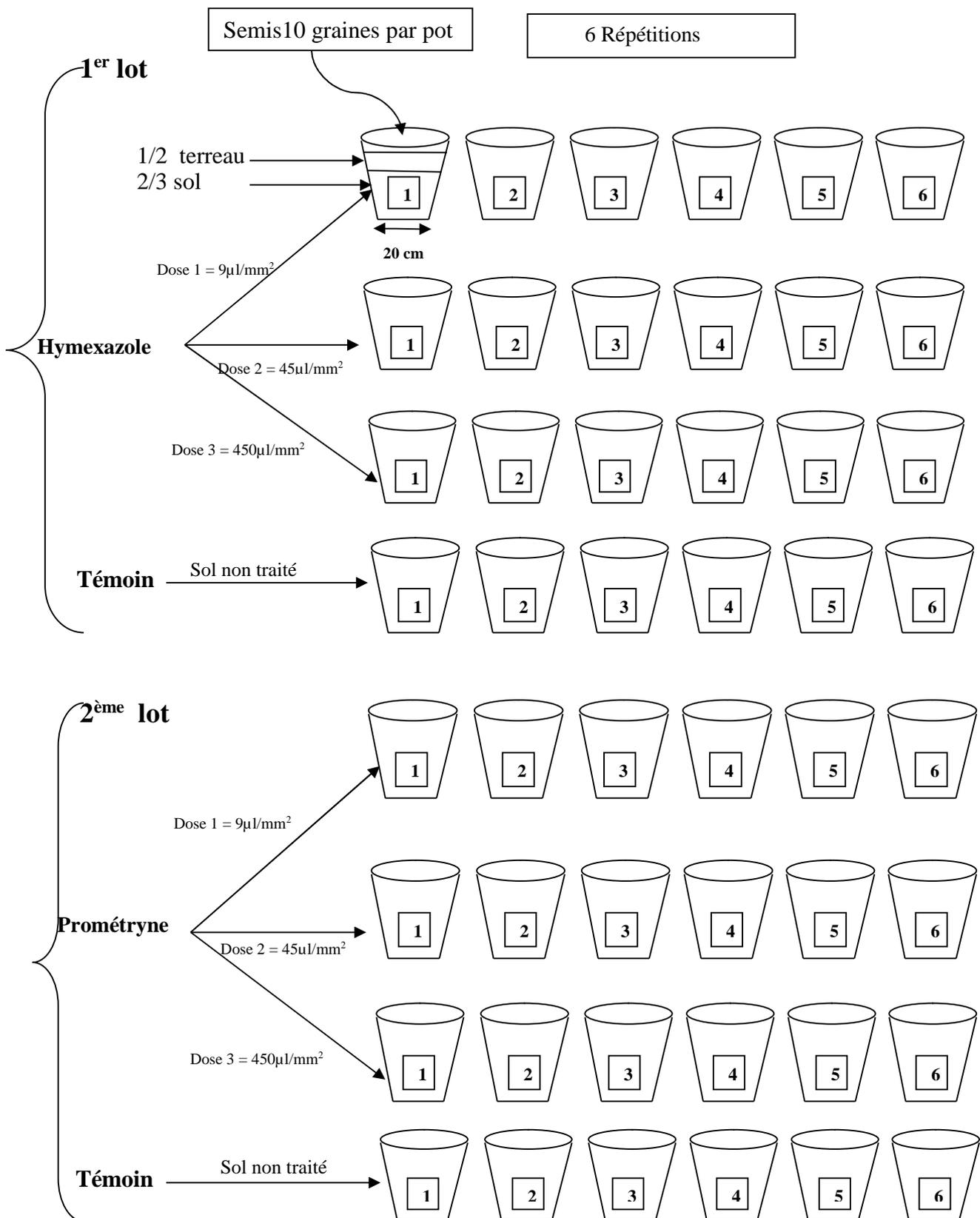
L'approche choisie pour l'échantillonnage est celle de l'échantillonnage aléatoire simple, le prélèvement a été fait à des endroits choisis au hasard sur le terrain. Les prélèvements ont été effectués en automne, hors température froide et hors des périodes de stress hydrique. Les échantillons ont été prélevés à une profondeur comprise entre 0 cm et 10 cm sur toute la superficie. Les prélèvements ont ensuite été mélangés pour constituer un échantillon composite représentatif du terrain. Nous avons effectué des prélèvements de sol en des points distincts (collecte du sol tous les 5m sur une distance d'environ 30 m) en bassin versant de chaque dépôt. Plusieurs échantillons de sols ont été collectés et ensuite mélangés pour obtenir un échantillon composite. L'objectif est de constituer un échantillon intégré représentatif de la zone étudiée. Arrivé au laboratoire, le sol a été préalablement 3 fois homogénéisé, séché à l'air libre pendant 72 h puis tamisé à travers un tamis de 2mm.

2.3. Dispositif expérimental

L'essai a été conduit au laboratoire en bloc complètement randomisé contrôlé, à la température ambiante comprise entre 24°C et 27°C, et une lumière discontinue de 12h /12h. Le dispositif expérimental est constitué de 3 lots de 24 pots chacun, à raison de 6 répétitions pour chaque concentration de pesticide. Les pots en terre de diamètre 20cm contenant 1kg de mélange de sol et de terreau aux proportions respectives de 2/3 / 1/3 ont été arrosés avec 250ml d'eau distillée. Le sol ainsi préparé a subi trois traitements par pulvérisation à base de pesticide. Les pulvérisations sont espacées de 15 jours.

- D1= dose de champ/5 (**9 µl/mm**)
- D2= dose de champ (**45 µl/mm**)
- D3= dose de champ x 10 (**450 µl/mm**)

Le sol servant de témoin a été pulvérisé à l'eau distillée. Les traitements ont été effectués selon le protocole résumé dans la figure. 2-2



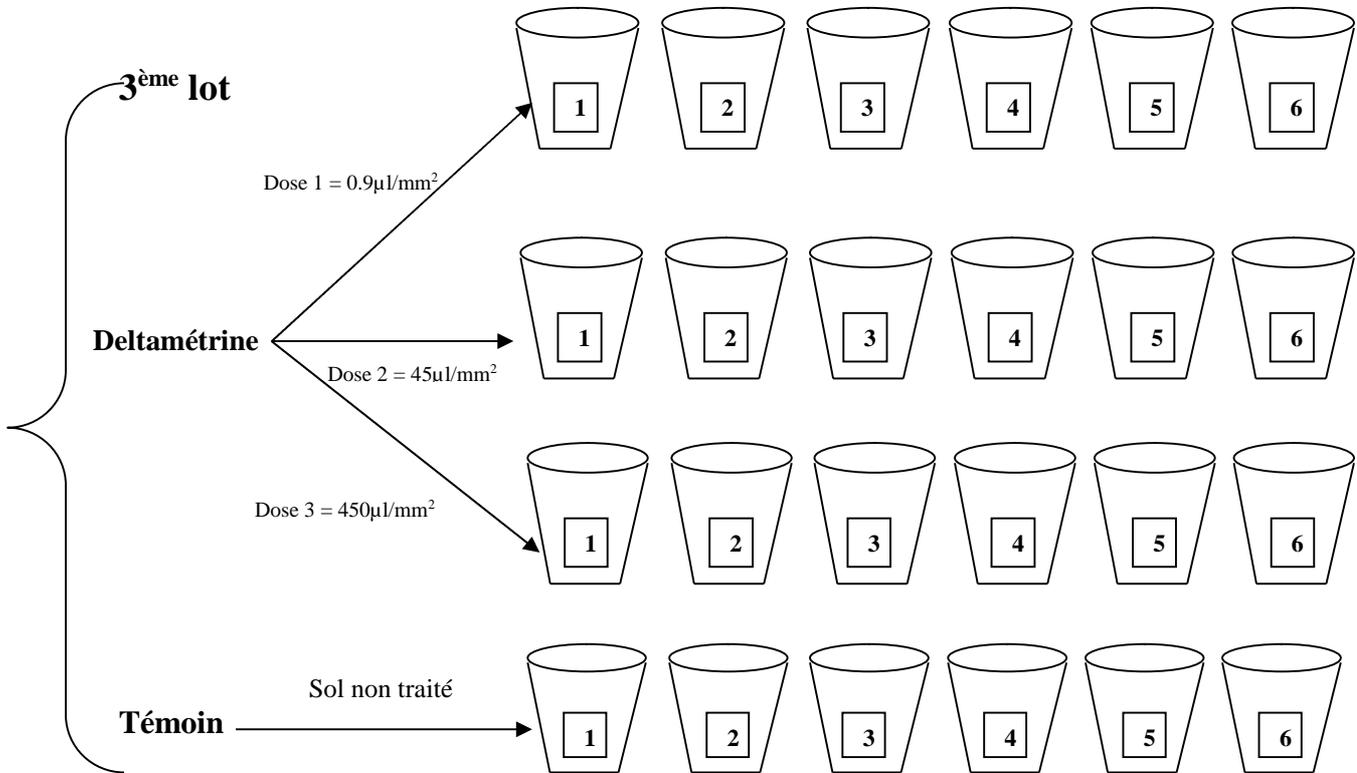


Figure 2-2. Schéma du dispositif expérimental

2.4. Les pesticides

Les molécules de pesticides utilisés nous ont été fournies sous forme liquide par la station de l'institut de la protection des végétaux de la wilaya de Annaba. Ce sont des composés utilisés massivement pour les cultures maraichères et céréalières au niveau de toutes les régions du nord-est algérien (Annaba, Skikda, Constantine, Guelma, Souk-Ahras). Il s'agit de l'Hyméxazole, la Prométryne et la Deltaméthrine.

2.4.1. Hymexazole

2.4.1.1. Identification:

L'hymexazole est la substance active d'un fongicide systémique des semences provenant de Golden Union Agrochemical, commercialisé en Algérie sous le nom de tachigazol. Il appartient au groupe des Triazoles.

- Formule chimique brute : $C_4H_5NO_2$.
- Formule développée: 5-méthyl-3(2H)-isoxazolone.
- Structure chimique est présentée dans la figure suivante:

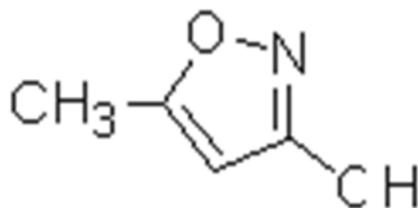


Fig.2-3. Structure chimique de l'hymexazole

2.4.1.2. Propriété physiques et chimiques:

- Poids moléculaire : 990.15
- Pression de vapeur ou tension de vapeur : 134 mPa à 25 °C
- Constante de Henry: 2.10E-09atm-m³/mole
- Solubilité dans l'eau : 85 g/L à 25 °C
- Vitesse d'hydrolyse (stabilité): stable au pH de 7 à 14, peu stable
- Dissociation dans l'eau ou pKa : 50.92

2.4.2. Prométryne

2.4.2.1. Identification

Substance active d'un herbicide appartenant à la famille des triazines nommée Gesagard provenant de la firme suisse Syngenta spécialisée dans la production des produits phytosanitaires. C'est un herbicide de pré-levée de certaines graminées et dicotylédones.

- Formule chimique brute : $C_{10}H_{19}N_5S$
- Formule développée : bis (isopropylamino)-2,4 méthylthio-6 triazine-1, 3,5.
- Sa structure chimique se présente comme suit (Figure2-4):

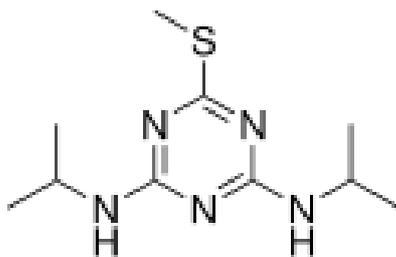


Figure 2-4. Structure chimique de la prométryne

2.4.2.2. Propriétés physiques et chimiques

- Poids moléculaire : 241.357 g/mol
- Pression de vapeur ou tension de vapeur: 1.24×10^{-6} mm Hg at 25 deg C
- Constante de Henry: **6.4E-09 atm-m³/mole**
- Solubilité dans l'eau : Dans l'eau soluble, 33 mg/L at 25 deg C
- Vitesse d'hydrolyse (stabilité): très stable avec seulement une sensibilité à la lumière et un temps extrême.
- Dissociation dans l'eau ou pKa : 4.05

2.4.3. Deltaméthrine

2.4.3.1. Identification

La deltaméthrine est la matière active d'un insecticide commercialisé en Algérie sous le nom de Décis. C'est un pyréthrianoïde de deuxième génération, photostable et faiblement volatile. Elle est soluble dans les solvants organiques et sa photostabilité est de trois à quatre semaines. Elle agit par contact et ingestion sur un grand nombre d'insectes à des doses très faibles, puis continue à protéger les cultures sur une période de 2 semaines. Elle a une action très rapide (remarquable action de choc) et un effet répulsif (rémanence) sur les insectes volants. Par températures élevées, la durée d'efficacité peut être moins longue.

- Formule brute : $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$
- Formule développée : (1R, 3R)-3-(2,2-Dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate de (S)-cyano-3-phénoxybenzyle- La structure chimique de la molécule est présentée dans la figure suivante (figure 2-5).

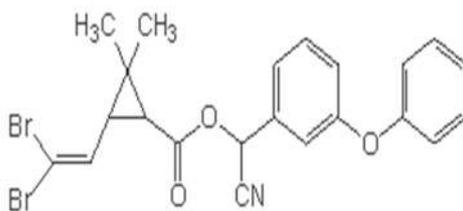


Figure 2-5. Structure chimique de la deltaméthrine

2.4.3.2. Propriétés physiques et chimiques

- Poids moléculaire : 5050,20
- Constante de Henry: 0.031 Pa*m³/mole à 25°C
- Solubilité dans l'eau: 0.0002 mg/L à 25 °C et au pH de 70.5 à 70.9
- Pression de vapeur : 12.4 nPa à 25 °C
- Vitesse d'hydrolyse (stabilité): temps de demi-vie : 2.5 jour(s) à 25 °C et au pH de 9
- Dissociation dans l'eau: absence de dissociation

2.5. Détermination des paramètres physiques et chimiques du sol

Des prélèvements homogènes d'environ 10g de sol ont été effectués à la surface des pots (surface comprise entre 0 et 10 cm). Ils ont ensuite été mélangés pour constituer un échantillon composite représentatif. Toutes les analyses ont été réalisées sans trop tarder et en particulier, les analyses microbiologiques.

La qualité physique et chimique du sol traité par les pesticides a été appréciée à l'aide des paramètres énumérés dans le tableau suivant. Les détails des méthodes employées sont présentés dans les annexes.

Tableau 2-1. Paramètres, techniques et appareillages utilisés en expérimentation.

Paramètres	Techniques	Appareillages	unités
Carbone organique	Anne	Burette	%
Azote	Keldjahl	/	%
Matière organique	C *1,72	/	%
Rapport C/N	C/N	/	
Phosphore	Dosage colorimétrique	Auto analyseur	ml g/kg
Potassium Sodium Calcium Magnésium	Extrait à l'acétate	Auto-analyseur Colorimétrique	g/100g
Conductivité électrique	Suspension sol-eau (1/5)	Conductimètre	ms/m
pH	Suspension sol-eau (1/5)	pH mètre	/

2.6. Détermination des paramètres biologiques du sol

Les analyses ont porté sur la biomasse microbienne totale ou la microflore totale (évaluation quantitative et qualitative) et du quotient respiratoire qui nous renseigne sur l'activité respiratoire des microorganismes du sol.

2.6.1. Dénombrement de la microflore du sol

2.6.1.1. Préparation de la suspension, ensemencement, incubation

La suspension est préparée selon la méthode par dilution décrite dans la norme Din 54379 pour la numération totale de colonies. 1 g de sol de chaque échantillon est agité dans 100 ml de la solution stérile de Ringer. La suspension obtenue est diluée au 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000 à partir desquelles on prélève 1 ml qu'on étale dans une boîte de Pétri contenant 10 ml de milieu de culture (PDA, MEA, Muller- Hinton ou EL) stérile à pH acide pour les micromycètes et à pH basique pour les bactéries. Les boîtes sont incubées à 27 °C et 37 °C pendant 5 jours

2.6.1.2. Purification et conservation des isolats

Les microorganismes isolés sont d'abord purifiés par plusieurs repiquages successifs monospore ou mono-colonie sur des milieux de culture spécifiques. Une fois purifié, chaque isolat est désigné par un numéro de code. La conservation des microorganismes ainsi désignés se fait soit à une température de 4°C soit au congélateur. Dans les deux cas, aussi bien pour les bactéries que pour les champignons, des disques de gélose prélevés sur le pourtour de la

culture purifiée, sont transférés dans des tubes d'Eppendorf stériles de 1,5 ml, contenant du glycérol à 50% (Kebe *et al.*, 2009).

2.6.1.3. Expression des résultats

La détermination de la charge microbienne est faite par comptage des colonies et les résultats sont exprimés en UFC (nombre d'unités Formant Colonies) / g de sol selon la formule ci-dessous. Seules les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies au niveau de deux dilutions successives sont retenues pour le dénombrement (Dutruc-Rosset, 2003).

Où:

$$N = \sum \text{colonies} / V_{\text{ml}} \times (n_1 \times 0,1n_2) \times d_1$$

N: Nombre d'UFC par gramme de sol ; \sum colonies: somme des colonies des boîtes interprétables; V: Volume de solution déposée (1ml); n_1 : Nombre de boîtes considéré à la première dilution retenue; n_2 : Nombre de boîtes considéré à la seconde dilution retenue; d_1 :Facteur de la première dilution retenue.

2.6.2. Quotient respiratoire

C'est un paramètre qui indique l'état du sol en matière d'activité respiratoire des microorganismes via la quantité de carbone minéralisé par un taux déterminé de la population microbienne. En d'autres termes, le quotient respiratoire est la détermination de la quantité quotidienne de carbone minéralisé par gramme de biomasse microbienne.

Les sols de chaque traitement ont été mélangés, broyés et tamisés à 2 mm pour obtenir un échantillon composite.. Les échantillons de sol ont été mis en incubation à 30°C pendant deux semaines et le CO₂ a été dosé selon la méthode de Dommergues (1960) et décrite par Girard et Rougieux (1967).

Elle consiste à piéger le CO₂ dégagé par de la soude (NaOH 0,1N), puis à le doser par titration avec l'acide chlorhydrique (HCl 0,1N) en présence de la phénophtaléine. La quantité de CO₂ dégagé (C-CO₂) est donnée par la formule suivante : C-CO₂ (mg/g de sol) = (VHCl blanc – VHCl échantillon) x 2,2 ; où : VHCl blanc = volume en ml de HCl 0,1 N, utilisé pour le témoin; VHCl échantillon = volume en ml de HCl 0,1 N, utilisé pour l'échantillon de sol; 2,2 = un coefficient qui signifie que 2,2 g de CO₂, correspondent à 1ml de HCl 0,1N (in Ouattara *et al.*, 2010).

2.7. Analyse des paramètres biochimiques

2.7.1. Dosage de la phosphatase acide et de la phosphatase alcaline

La mesure de l'activité des phosphatases (phosphomonoestérases) est déterminée selon la méthode de **Tabatabai et Bremmer (1969)**, en mesurant la libération de p-nitrophénol, consécutive à l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate (p-NPP) par les phosphatases. Pour ce faire, 100 μL d'extrait enzymatique, 900 μL de tampon NaOH-glycine 0,1 mol.l⁻¹ pH 9,0 (pour les phosphatases alcalines) ou 900 μL de tampon acétate de sodium 0,1 mol.l⁻¹ pH 5,0 (pour les phosphatases acides) et 10 μL de p-NPP 15.10⁻³ mol.l⁻¹ sont incubés pendant 1 h à 37 °C. La réaction est stoppée par l'ajout de 1 ml de NaOH à 1 ml du milieu réactionnel. Le p-nitrophénol (p-NP) libéré est quantifié en mesurant la densité optique à 412 nm, et en réalisant une gamme étalon de p-NP dans les mêmes conditions de dosage (**Eivazi et Tabatabai, 1977**). Les résultats sont exprimés en μmole de p-NP libéré par minute (U) et par gramme de matière sèche (U g⁻¹ MS).

2.7.2. Dosage de la déshydrogénase

L'activité enzymatique de la déshydrogénase acide a été déterminée par la méthode au TTC (*Triphenyl Tetrazolium Chloride*) selon **Alef (1995)**. La méthode est basée sur l'estimation du taux de réduction du TTC en TPF (*Triphenyl Formazan*) dans le sol après incubation à 30 °C pendant 24 h. L'activité de la monophosphoestérase acide (tampon-pH: 6,5) a été estimée selon la méthode développée par **Alef et al. (1995)**. Elle est basée sur la lyse du p-nitrophenylphosphate (pNP) par la phosphomonoestérase pour produire du p-nitrophénol après incubation du sol à 37 °C pendant une heure. Le dénombrement de microorganismes a été réalisé sur un milieu PCA (**Muhinda et al., 2009**)

2.8. Analyses statistiques

Tous les résultats obtenus des différentes expérimentations concernant les paramètres étudiés ont été validés par une analyse statistique en se basant sur les tests suivants: La description des différentes caractéristiques étudiées de la plante et du sol est faite en calculant la moyenne (m), l'écart type (s) et les valeurs minimales (X_{\min}) et maximales (X_{\max}) pour chaque dose de pesticide

2.8.1. Analyse de la variance à un critère de classification

L'analyse de la variance (ANOVA) du modèle linéaire général (GLM) du logiciel Minitab d'analyse statistique des données (**Minitab Inc, 2014**) est utilisée pour comparer les moyennes, entre elles, des quatre doses du fongicide et ceci pour chaque caractéristique étudiée (**Dagnelie, 2009**). On considère qu'il existe des différences significatives entre les moyennes des quatre doses quand la valeur de la probabilité (p) est inférieure ou égale au risque $\alpha = 0,05$ ($p \leq \alpha = 0,05$) ; des différences hautement significatives quand $p \leq \alpha = 0,01$ et des différences très hautement significatives quand $p \leq \alpha = 0,001$ (**Dagnelie, 2009**).

2.8.2. Test de TUCKEY

Le test de TUKEY (**Dagnelie, 2009**) a permis de déterminer les groupes de doses homogènes par caractéristique de la plante ou du sol (**Minitab Inc, 2014**).

2.8.3. Test de DUNNETT

Le test de DUNNETT (**Dagnelie, 2009**) a été utilisé pour comparer les moyennes de la dose témoin avec chacune des moyennes des autres doses, pour chaque paramètre de la plante et du sol (**Minitab Inc, 2014**).

3. RESULTATS ET DISCUSSION :

3.1. Paramètres physiques et chimiques du sol

Les teneurs en carbone, azote, matière organique ainsi que le rapport C/N sont représentées dans les figures 2-6 à 2-17. Une baisse lors de la 2^{ème} année, puis une augmentation pendant la 3^{ème} année pour la matière organique et le rapport C/N concernant toutes les doses appliquées. Les cinétiques des témoins sont assez semblables. Le carbone, quant à lui il affiche une baisse à toutes les doses au cours de la 2^{ème} année.

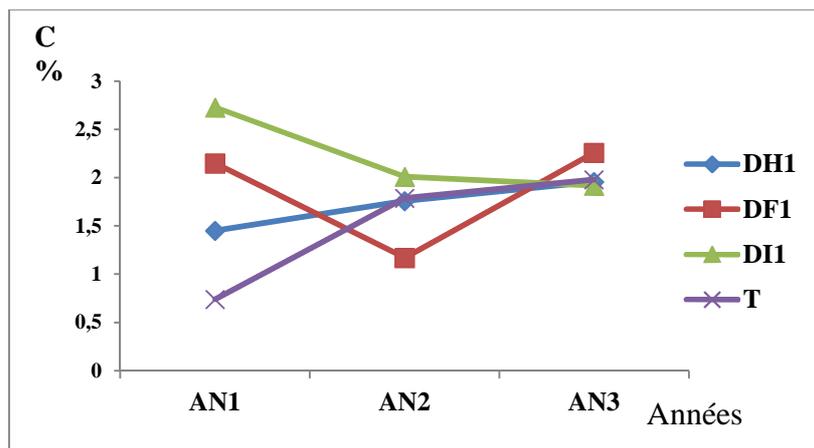


Figure 2-6. Cinétique du carbone au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides.

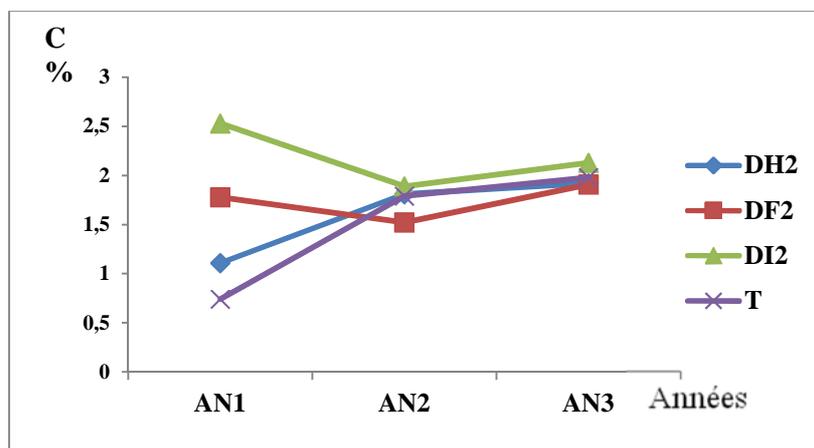


Figure 2-7. Cinétique du carbone au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides.

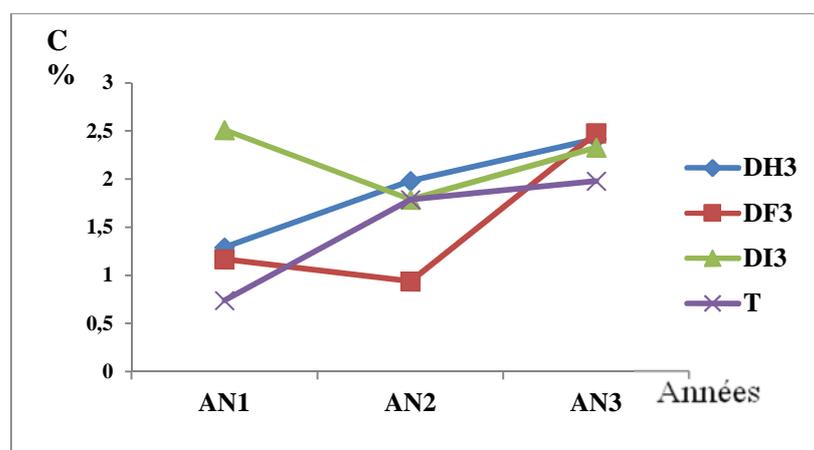


Figure 2-8. Cinétique du carbone au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides

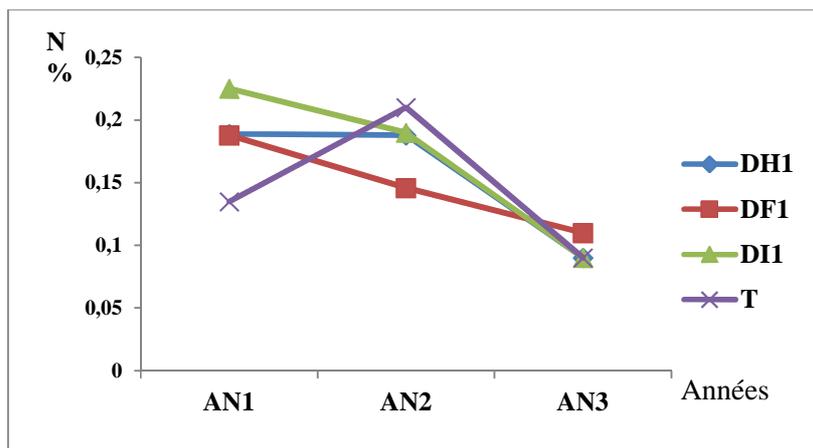


Figure 2-9. Cinétique de l'azote au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides

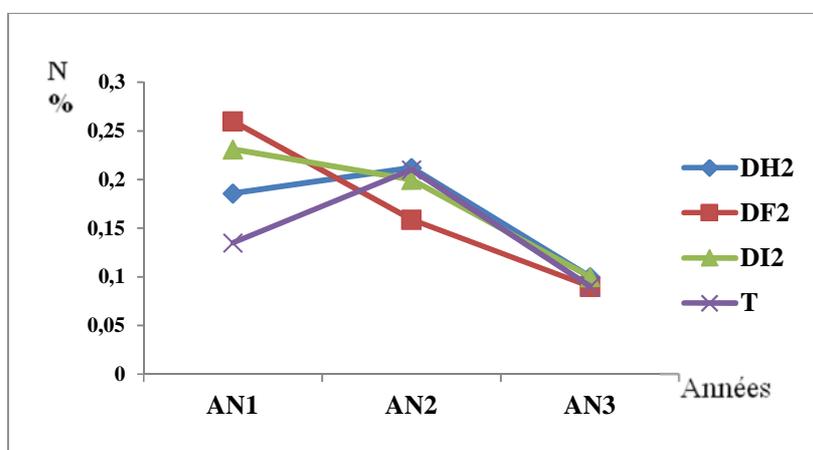


Figure 2-10. Cinétique du de l'azote au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides

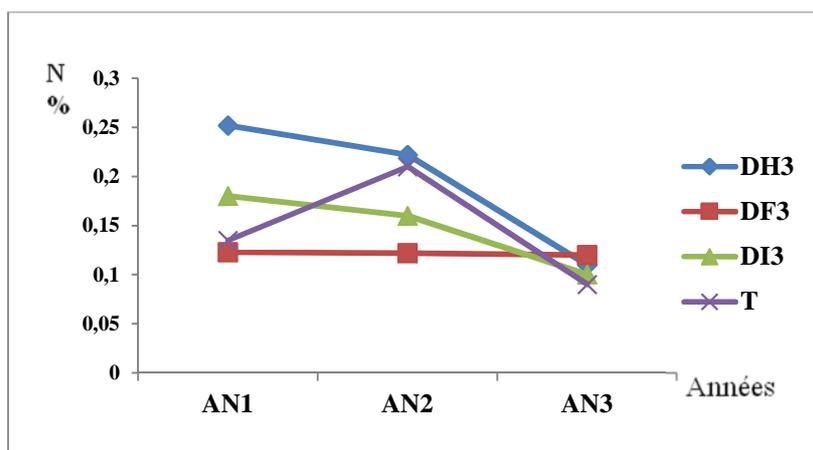


Figure 2-11. Cinétique de l'azote au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides

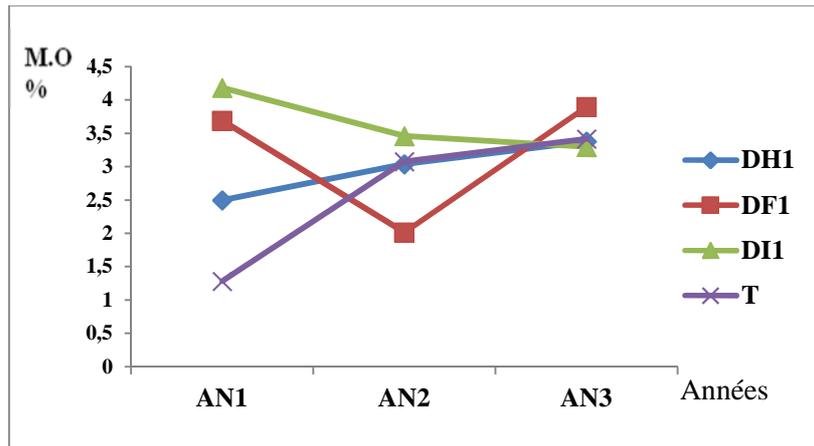


Figure 2-12. Cinétique de la matière organique au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides.

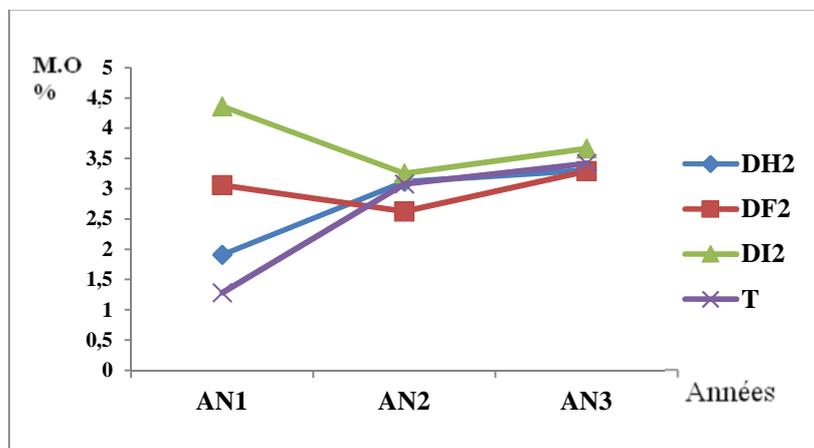


Figure 2-13. Cinétique de la matière organique au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides.

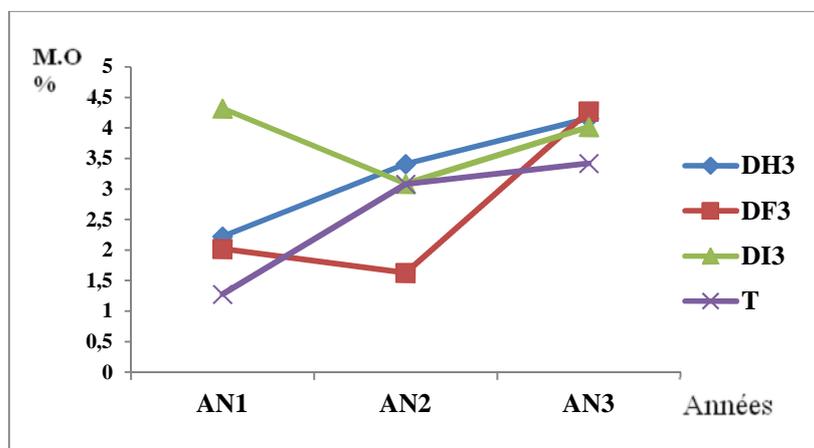


Figure 2-14. Cinétique de la matière organique au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides.

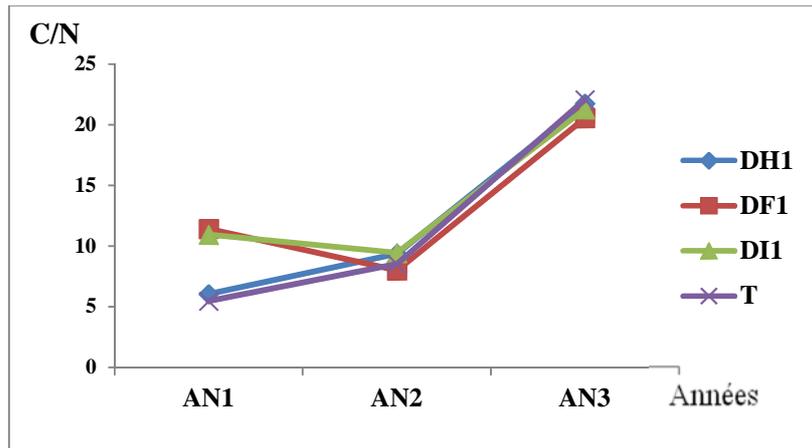


Figure2-15. Cinétique du rapport carbone/azote au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides

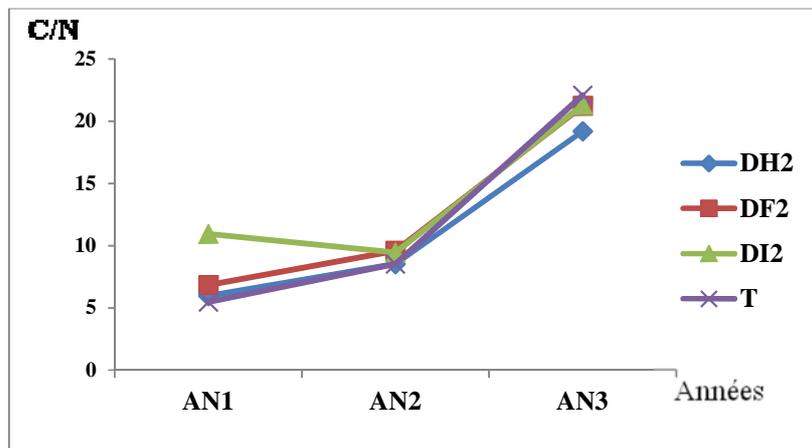


Figure 2-16. Cinétique du rapport carbone/azote au niveau du sol traité par la dose 2 des trois pesticides

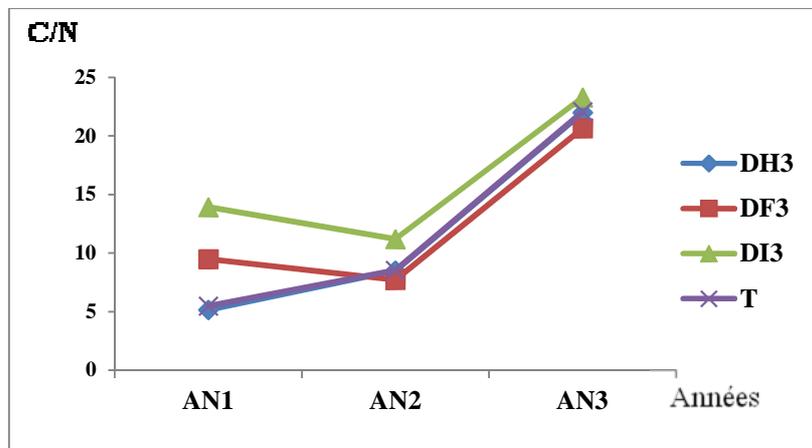


Figure 2-17. Cinétique du rapport C/N au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides

Pour le phosphore, le potassium et le calcium, leurs taux diminuent dès la 2^{ème} année, puis augmentent pendant la 3^{ème} année avec une similarité assez proche avec ceux des témoins. Quant au magnésium, les cinétiques des trois doses sont assez semblables à celle du sol témoin (figures 2-34, 2-35 et 2-36)

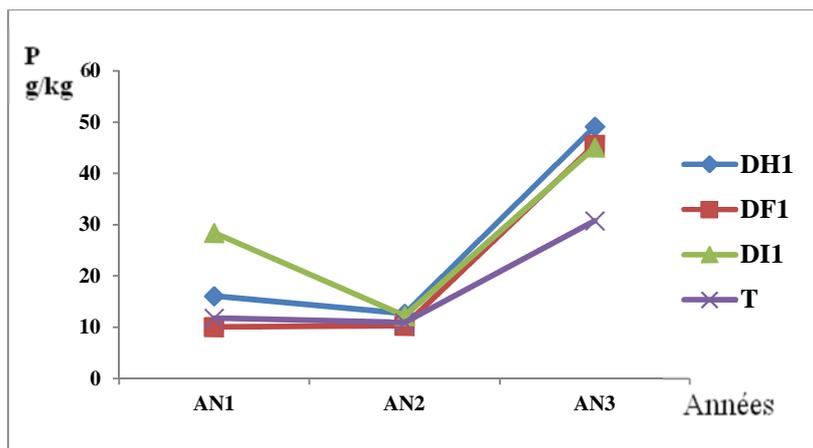


Figure 2-18. Cinétique du phosphore au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides.

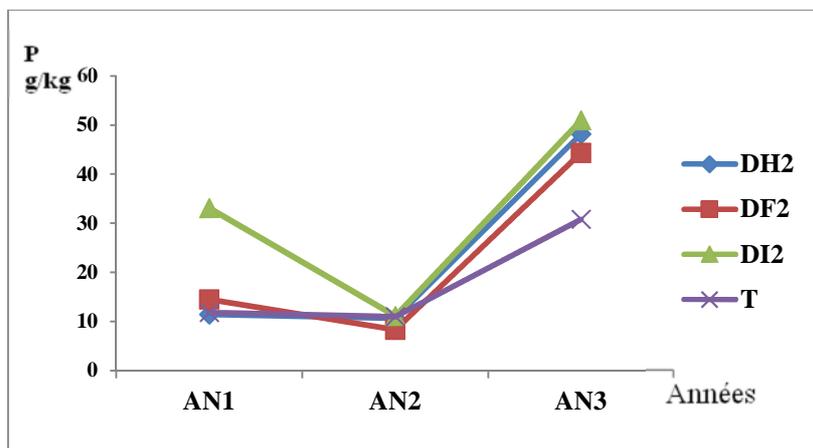


Figure 2-19. Cinétique du phosphore au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides

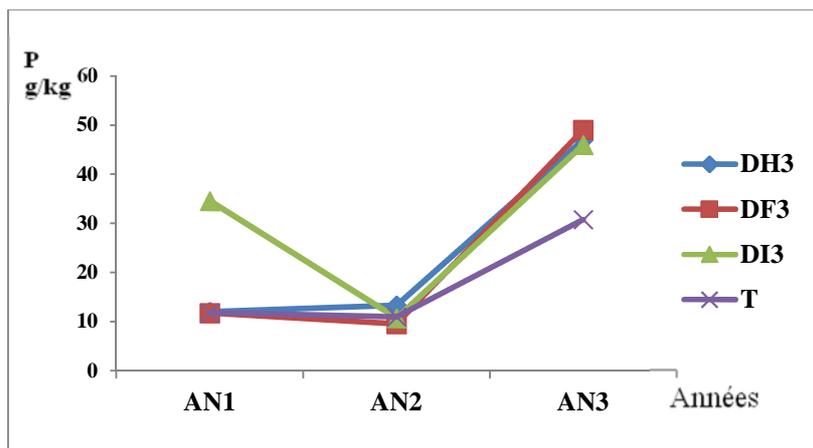


Figure 2-20. Cinétique du phosphore au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides

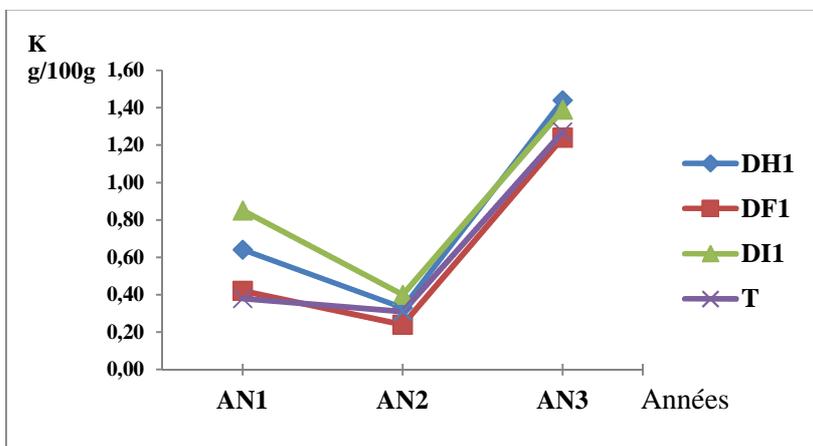


Figure 2-21. Cinétique du potassium au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides

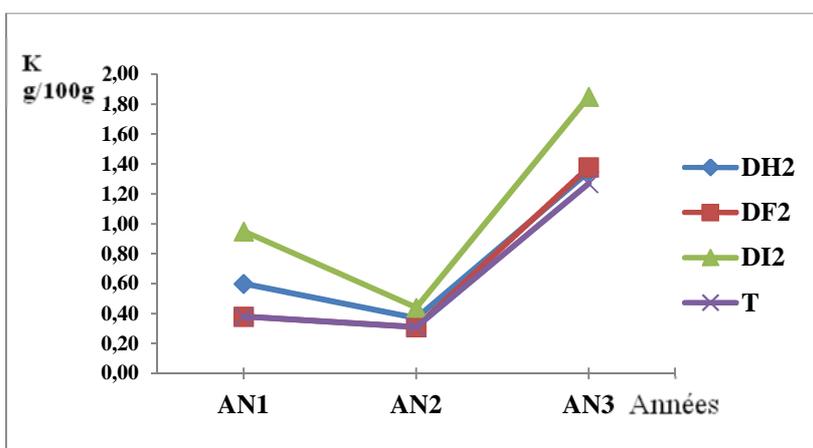


Figure 2-22. Cinétique du potassium au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides

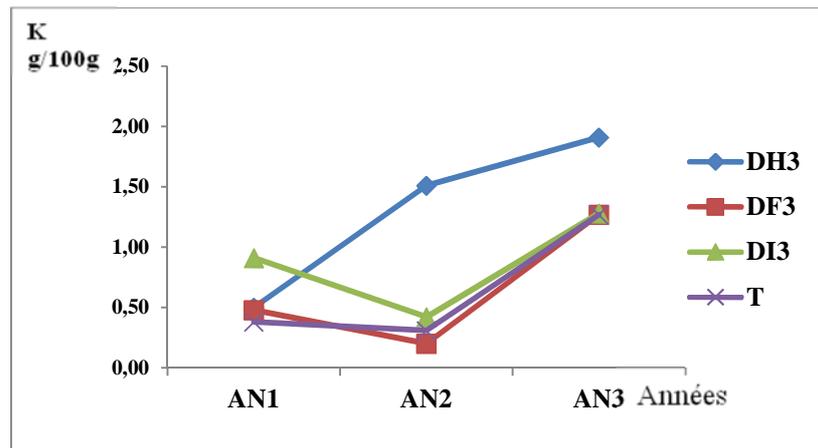


Figure 2-23. Cinétique du potassium au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides

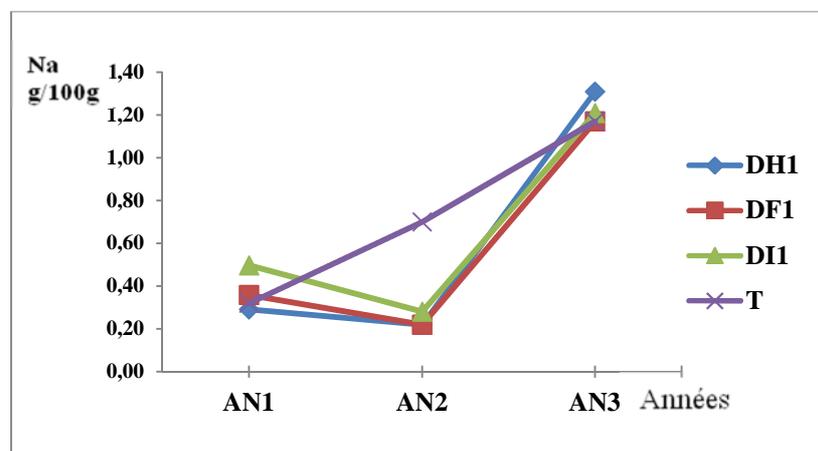


Figure 2-24. Cinétique du sodium au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides.

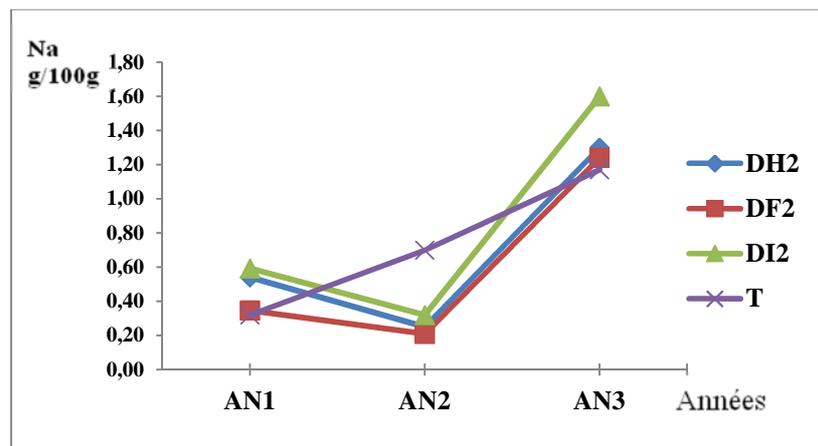


Figure 2-25. Cinétique du sodium au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides

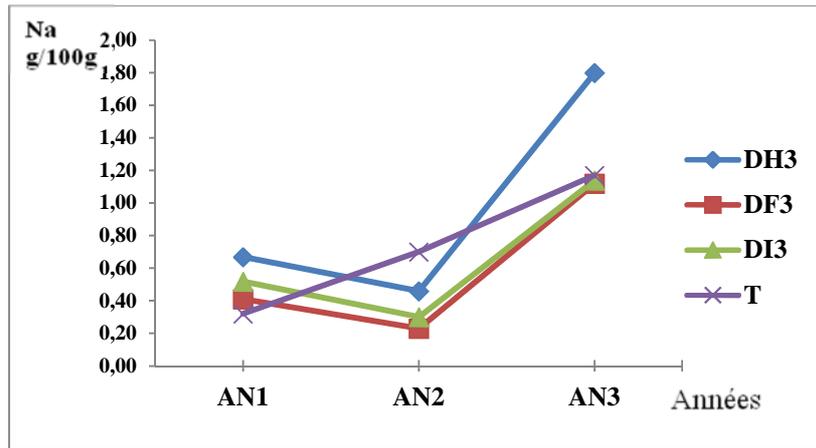


Figure2-26. Cinétique du sodium au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides.

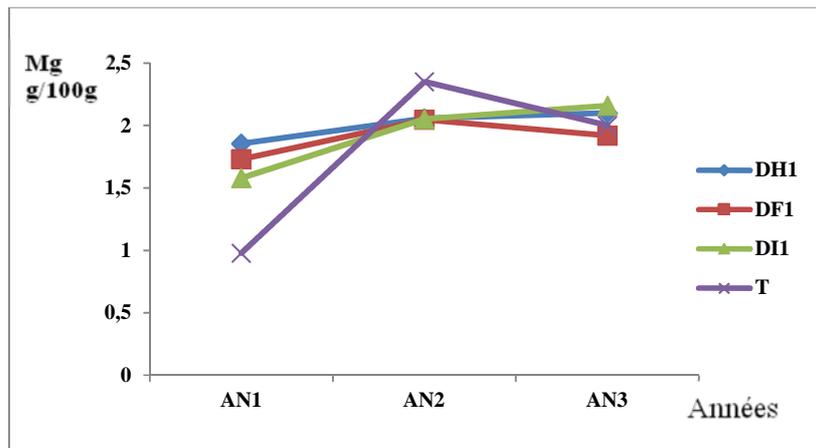


Figure2-27. Cinétique du magnésium au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides

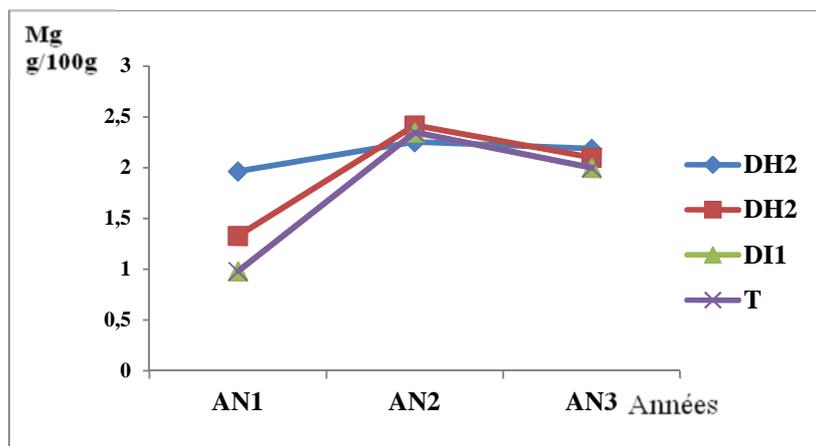


Figure 2-28. Cinétique du magnésium au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides

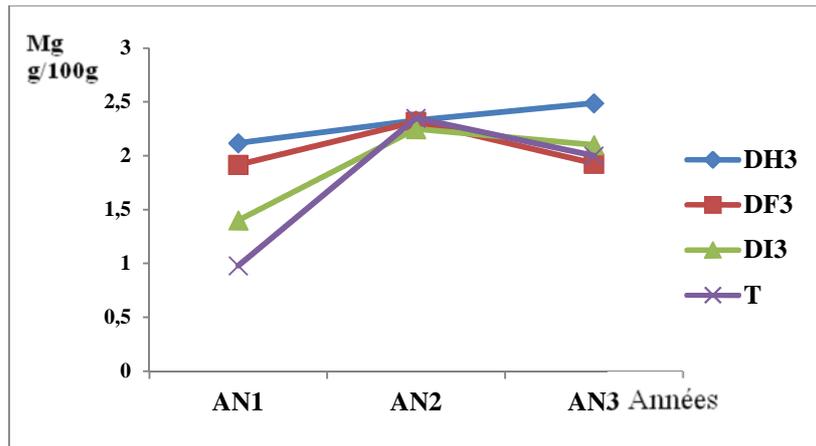


Figure2-29. Cinétique du magnésium au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides

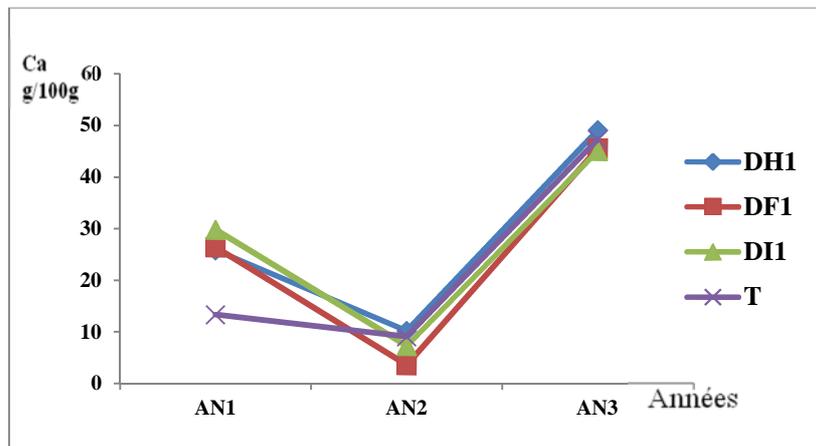


Figure2-30. Cinétique du calcium au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides

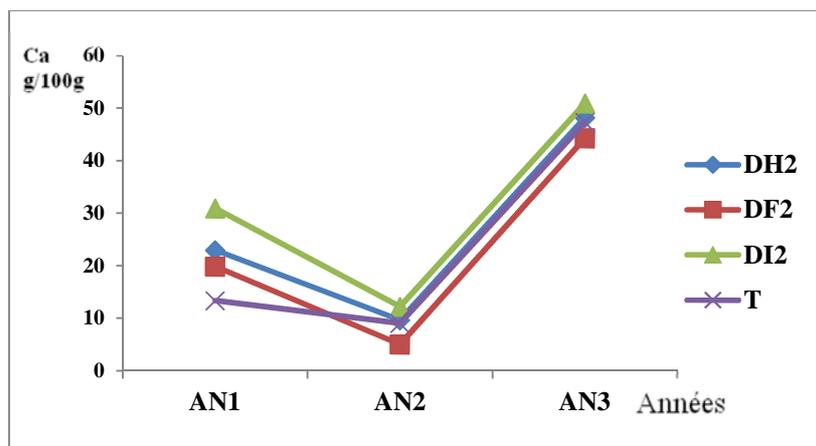


Figure2-31. Cinétique du calcium au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides

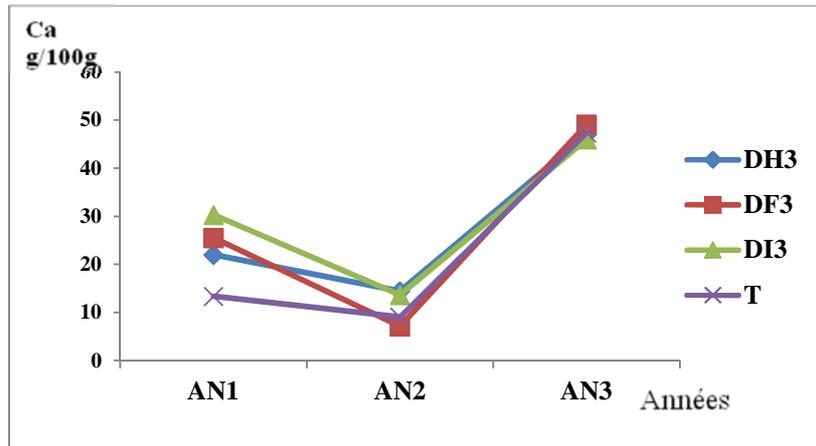


Figure2-32. Cinétique du calcium au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides.

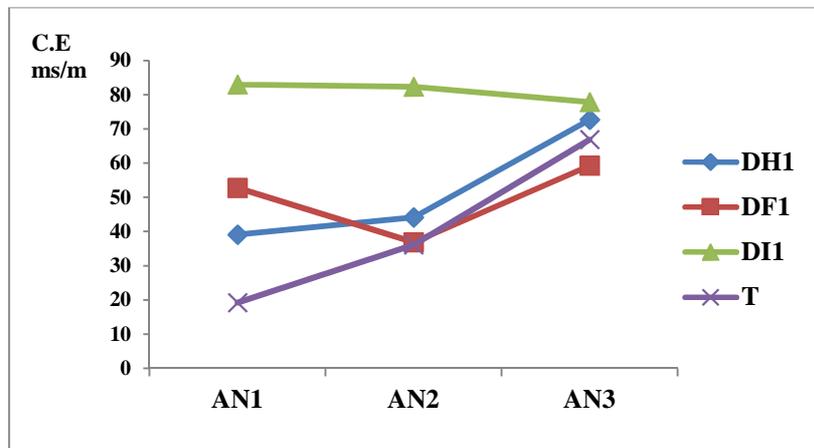


Figure2-33. Cinétique de la conductivité électrique au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides.

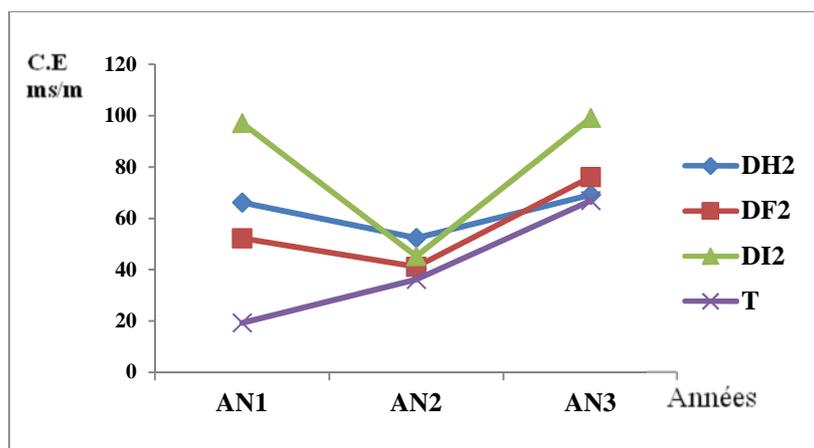


Figure2-34. Cinétique de la conductivité électrique au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides.

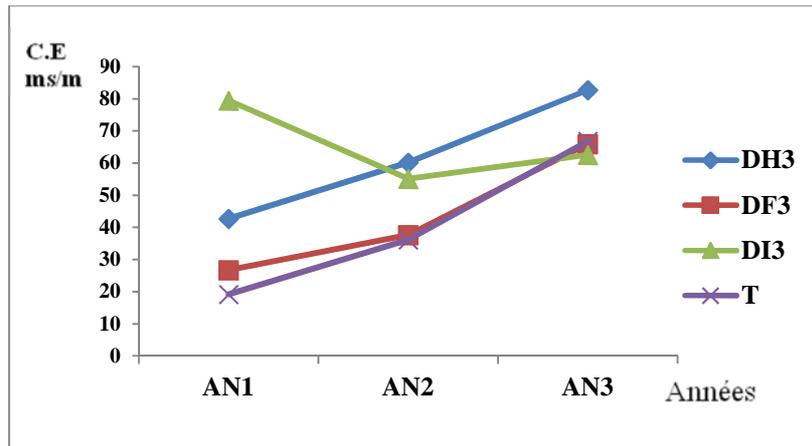


Figure 2-35. Cinétique de la conductivité électrique au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides.

Les pH sont alcalins variant entre 6,2 et 7,8 avec une certaine similarité par comparaison avec ceux des témoins. Par ailleurs, les chiffres dénotent une augmentation dans le temps et notamment au cours de la 3èmes années (Fig. 2-36 ; 2-37 ; 2-38)

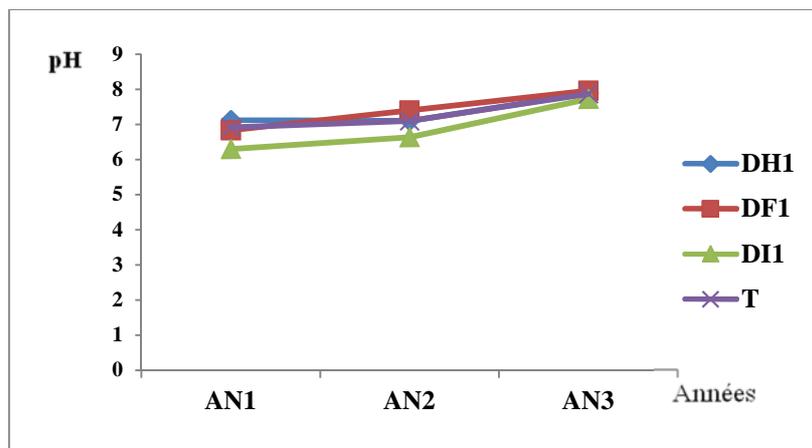


Figure 2-36. Cinétique du pH au niveau du sol traité par la dose D1 des trois pesticides

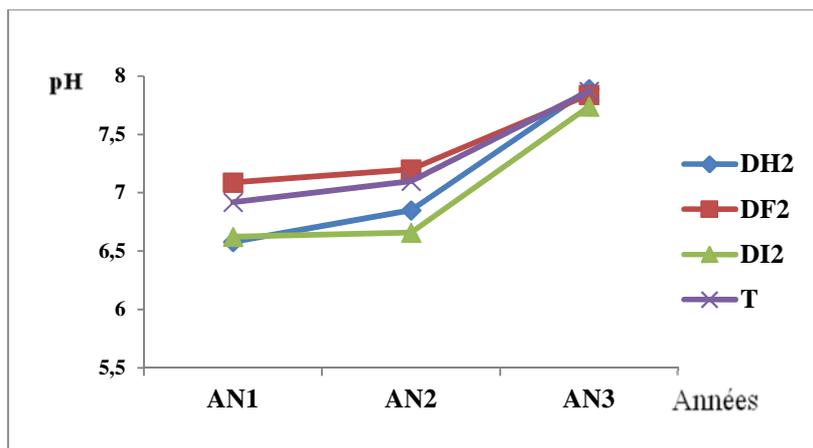


Figure 2-37. Cinétique du pH au niveau du sol traité par la dose D2 des trois pesticides

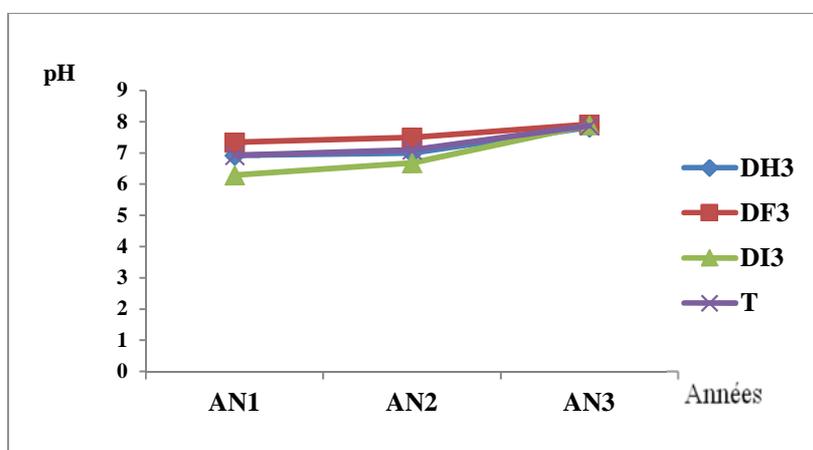


Figure 2-38. Cinétique du pH au niveau du sol traité par la dose D3 des trois pesticides

3.2. Evaluation quantitative de la Biomasse microbienne totale

La microflore totale enregistrée à partir des échantillons de sol pulvérisés par les pesticides montre une diminution assez importante par comparaison avec celle des témoins et des autres doses au début de la 3^{ème} année à la dose D1 du fongicide (fig. 2-39). En ce qui concerne l'insecticide, on constate d'après la figure 2-40 une légère baisse au deux doses I1 et I2 lors de la fin de l'expérimentation (2^{ème} prélèvement de la 3^{ème} année). Pour ce qui est de l'herbicide (fig. 2-41), les cinétiques des populations microbiennes sont très similaires pour toutes les doses testées. De plus, elles se rapprochent de celles des témoins.

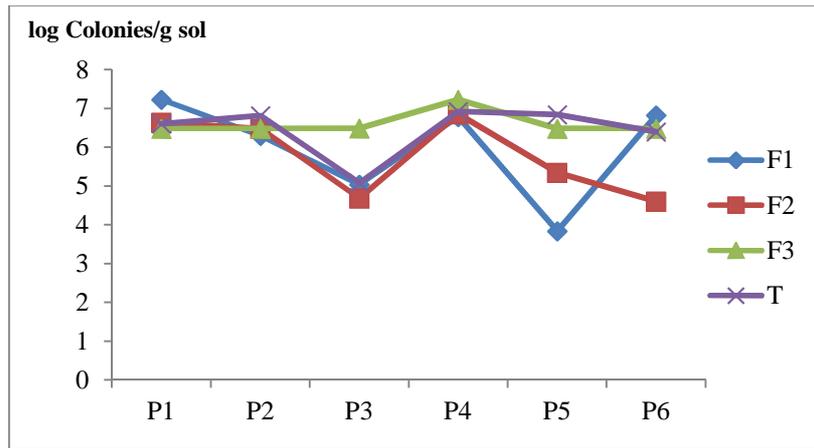


Figure 2-39. Cinétique de la biomasse microbienne totale au niveau du sol traité par le fongicide

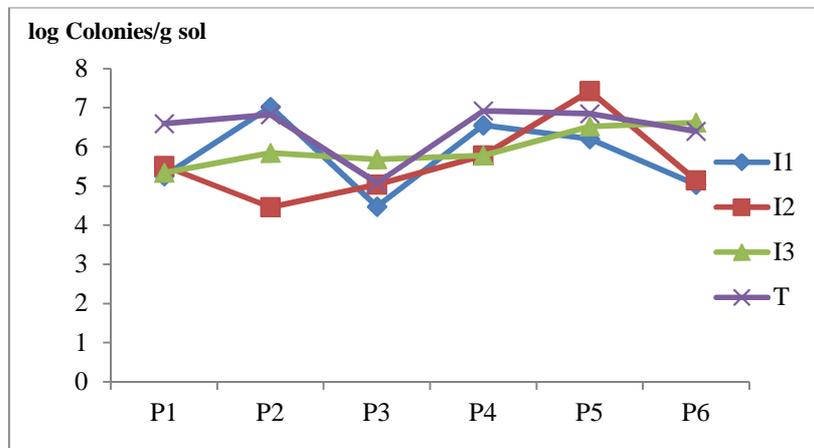


Figure 2-40. Cinétique de la biomasse microbienne totale au niveau du sol traité par l'insecticide

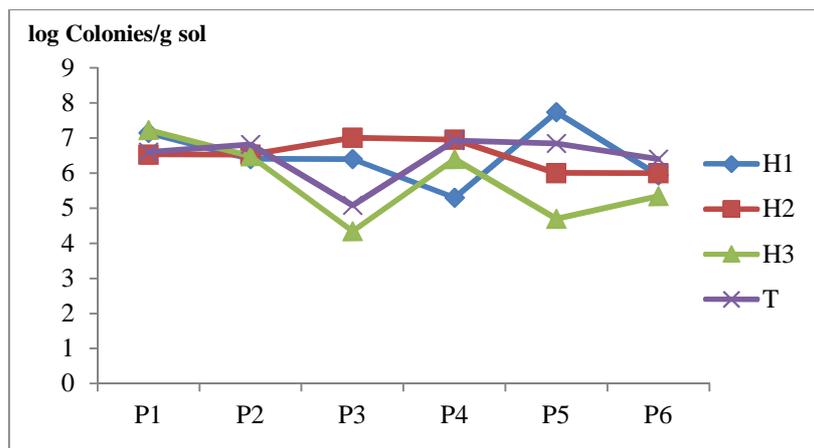


Figure 2-41. Cinétique de la biomasse microbienne totale au niveau du sol traité par l'herbicide.

3.3. Evaluation qualitative de la biomasse microbienne :

Les populations bactériennes et fongiques dénombrées à partir des sols traités à base des trois doses des 3 molécules de produits phytosanitaires montrent une grande variabilité dans les résultats. Les chiffres sont élevés pour les 2 types de microorganismes et ils sont compris entre 10^7 et 10^4 avec toutefois une inhibition de la population des bactéries et des champignons pour certaines doses telles que : la I2 (champignons et bactéries), I3 (Bactéries), F2 (bactéries) et H3 (bactéries et champignons)

Tableau 2-2. Evaluation qualitative de la microflore de l'insecticide

Insecticide	Doses	1 ^{ère} année		2 ^{ème} année		3 ^{ème} année	
		P1	P2	P3	P4	P5	P6
Champignons	I1	79×10^3	46×10^4	10^4	35×10^5	7×10^5	10^5
	I2	30×10^4	9×10^3	50×10^3	2×10^5	37×10^5	4×10^4
	I3	19×10^3	2×10^5	46×10^4	4×10^5	2×10^6	14×10^5
	T	3×10^6	54×10^5	10^5	8×10^6	10^5	24×10^5
Bactéries	I1	10^5	10^7	2×10^4	10^4	9×10^5	10^4
	I2	19×10^3	2×10^4	6×10^4	4×10^5	229×10^5	10^5
	I3	19×10^4	5×10^5	9×10^3	2×10^5	10^6	28×10^5
	T	16×10^4	10^5	2×10^5	2×10^5	68×10^5	10^5

Tableau 2-3. Evaluation qualitative de la microflore du fongicide

Fongicide	Doses	1 ^{ère} année		2 ^{ème} année		3 ^{ème} année	
		P1	P2	P3	P4	P5	P6
Champignons	I1	5×10^6	10^6	10^5	6×10^6	5×10^3	6×10^6
	I2	3×10^6	10^6	4×10^4	5×10^6	2×10^5	2×10^4
	I3	10^6	35×10^3	27×10^5	16×10^6	6×10^5	6×10^5
	T	3×10^6	54×10^5	10^5	8×10^6	10^5	24×10^5
Bactéries	I1	10^7	10^6	10^4	15×10^4	2×10^3	5×10^5
	I2	10^6	2×10^6	9×10^3	24×10^5	2×10^4	2×10^4
	I3	19×10^5	3×10^6	4×10^5	35×10^4	23×10^5	2×10^6
	T	16×10^4	10^5	2×10^5	2×10^5	68×10^5	10^5

Tableau 2-4. Evaluation qualitative de la microflore de l'herbicide

Herbicide	Doses	1 ^{ère} année		2 ^{ème} année		3 ^{ème} année	
		P1	P2	P3	P4	P5	P6
Champignons	I1	3x10 ⁶	5x10 ⁵	10 ³	10 ⁵	13x10 ⁵	14x10 ⁴
	I2	30x10 ⁴	3x10 ⁵	2x10 ⁵	6x10 ⁶	8x10 ⁵	8x10 ⁵
	I3	1,4x10 ⁷	10 ⁶	10 ³	48x10 ⁴	2x10 ⁴	2x10 ⁴
	T	3x10 ⁶	54x10 ⁵	10 ⁵	8x10 ⁶	10 ⁵	24x10 ⁵
Bactéries	I1	10 ⁷	2x10 ⁶	5x10 ⁵	10 ⁵	52x10 ⁶	7x10 ⁵
	I2	3x10 ⁶	3x10 ⁶	10 ⁷	3x10 ⁶	2x10 ⁵	2x10 ⁵
	I3	19x10 ⁵	2x10 ⁶	2x10 ⁴	2x10 ⁶	3x10 ⁴	2x10 ⁵
	T	16x10 ⁴	10 ⁵	2x10 ⁵	2x10 ⁵	68x10 ⁵	10 ⁵

3.4. Dosage du quotient respiratoire

A l'égard du quotient respiratoire, on enregistre une homogénéité dans les résultats de la 1^{ère} année aussi bien lors du 1^{er} prélèvement que pour le second prélèvement. Toutefois, au cours de la 3^{ème} année, les sols soumis à l'effet des trois doses de pesticides montrent une activité respiratoire faible par comparaison avec les témoins.

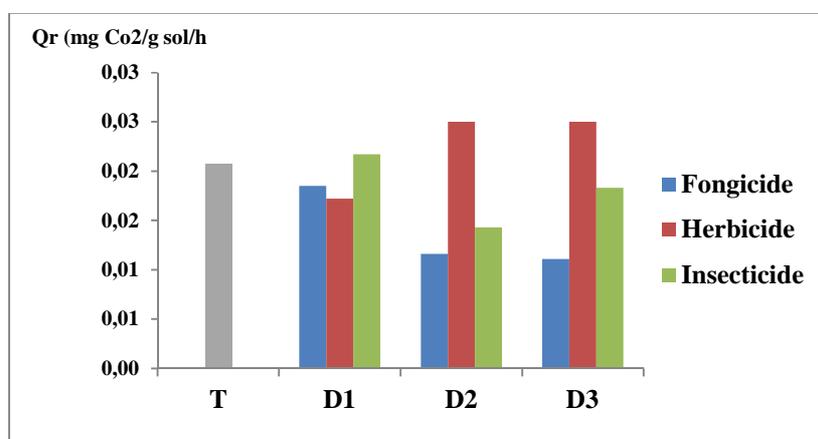


Figure 2-42. Quotient respiratoire du 1^{er} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

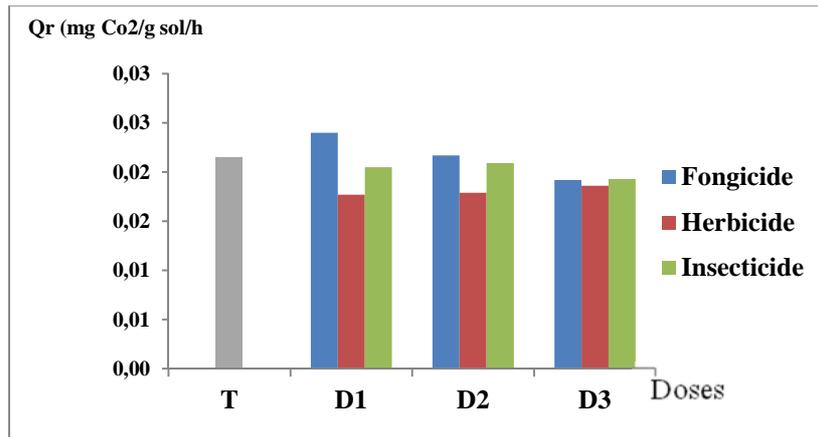


Figure 2-43. Quotient respiratoire du 2^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

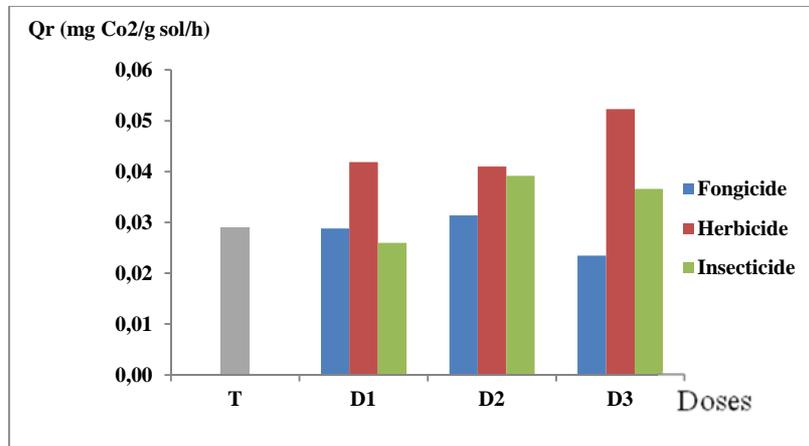


Figure 2-44. Quotient respiratoire du 3^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

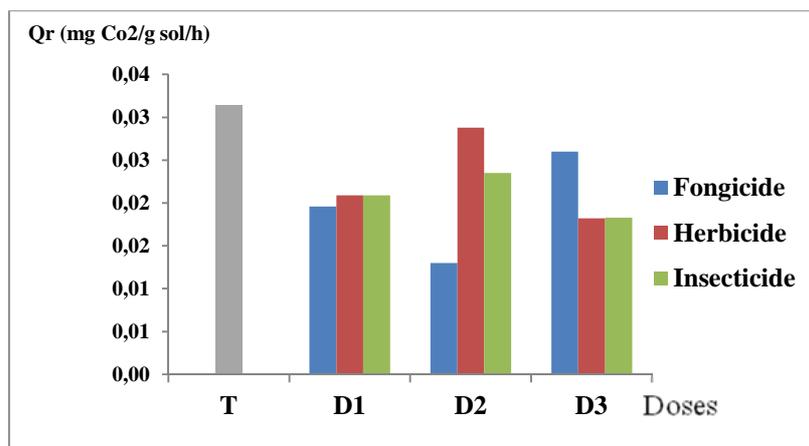


Figure 2-45. Quotient respiratoire du 4^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

3.5. Détermination des activités enzymatiques : phosphatases acide et alcaline et déshydrogénase

D'après les figures 2-46 à 2-49, toutes les doses de l'enzyme phosphatase acide des deux années de prélèvement sont plus élevées que celles des témoins à l'exception de celle quantifiée à partir des échantillons de sol traité par la dose D3 de l'insecticide. Concernant son homologue (la phosphatase alcaline), les doses détectées font allusion à une augmentation non négligeable pour toutes les doses testées des trois pesticides. Ceci est vrai aussi bien pour la 1^{ère} que pour la 3^{ème} année (Fig. 2-50 à 2-53)

L'activité déshydrogénasique a révélée d'importantes fluctuations au cours de la 1^{ère} année. Cette variabilité est observée entre les différentes doses des trois pesticides d'une part, et entre les sols traités et les sols témoins d'autre part. On remarque cependant, une stabilité dans les résultats de la 3^{ème} année et en particulier au cours du second prélèvement (Fig. 2-54 à 2-57)

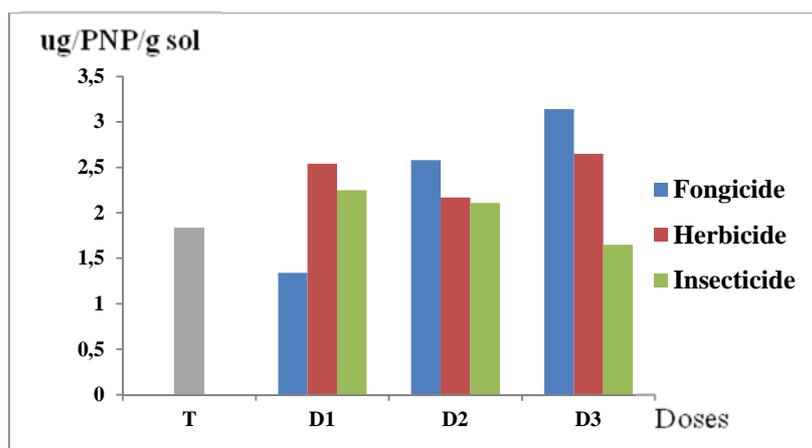


Figure 2-46. Teneur en phosphatase acide du 1^{er} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

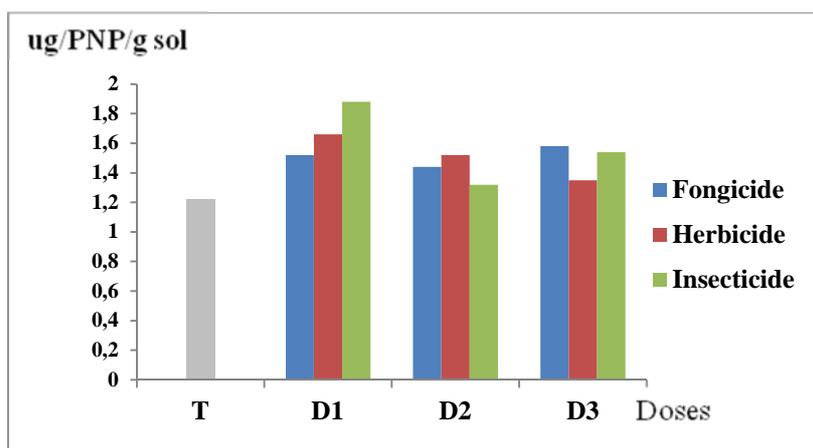


Figure 2-47. Teneur en phosphatase acide du 2^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

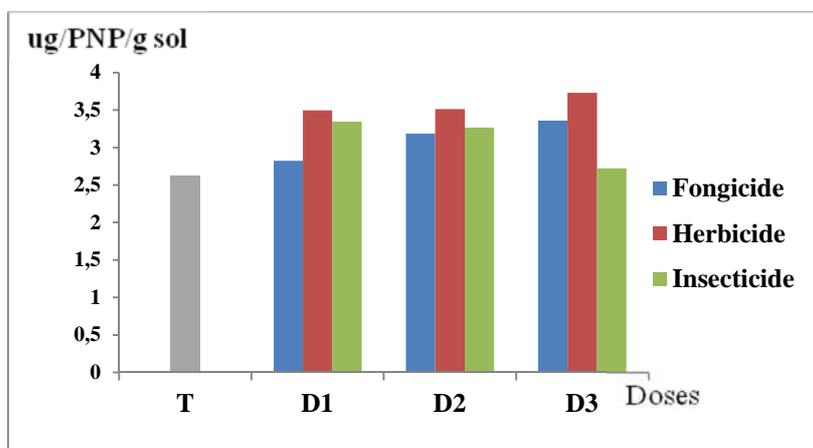


Figure 2-48. Teneur en phosphatase acide du 3^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

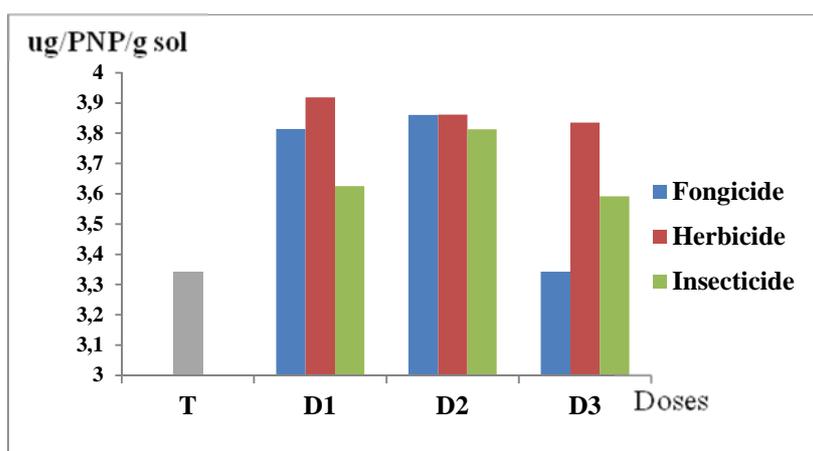


Figure 2-49. Teneur en phosphatase acide du 4^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

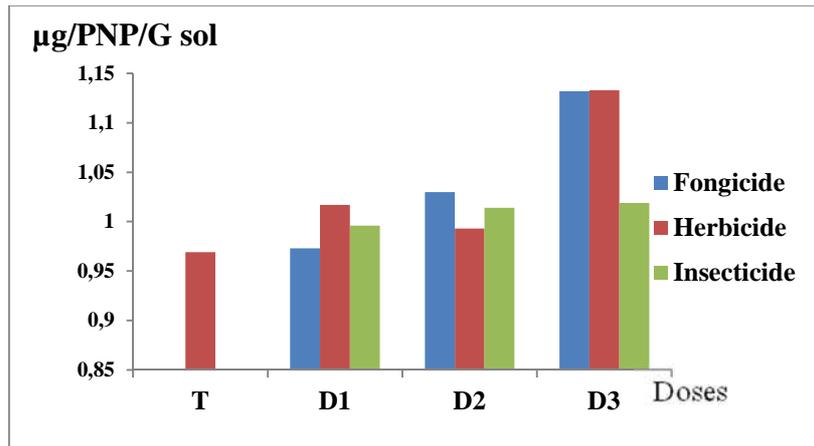


Figure 2-50. Teneur en phosphatase alcaline du 1^{er} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

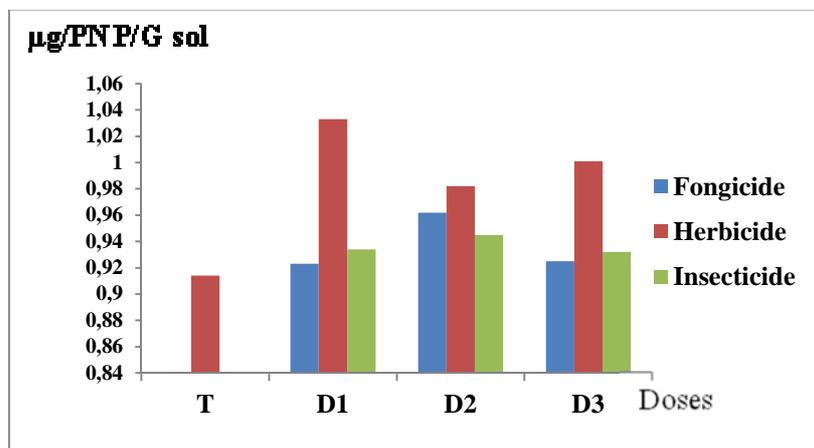


Figure 2-51. Teneur en phosphatase alcaline du 2^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

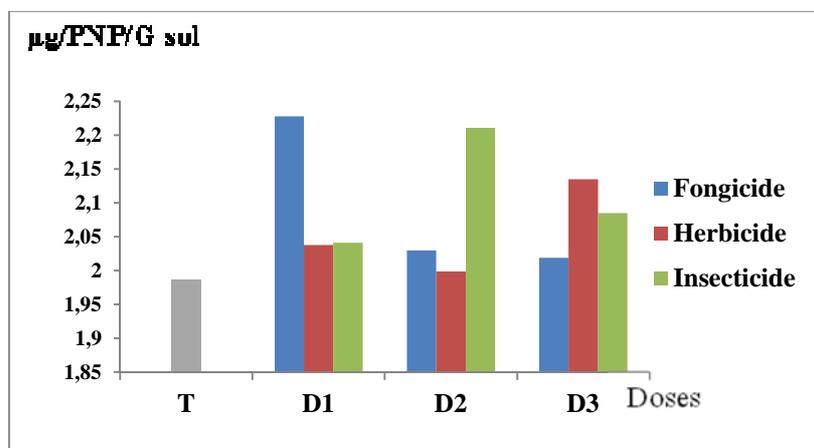


Figure 2-52. Teneur en phosphatase alcaline du 3^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

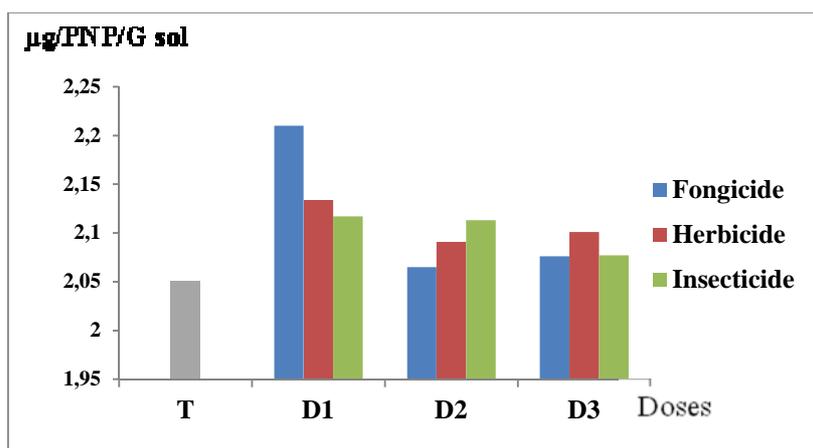


Figure 2-53. Teneur en phosphatase alcaline du 4^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

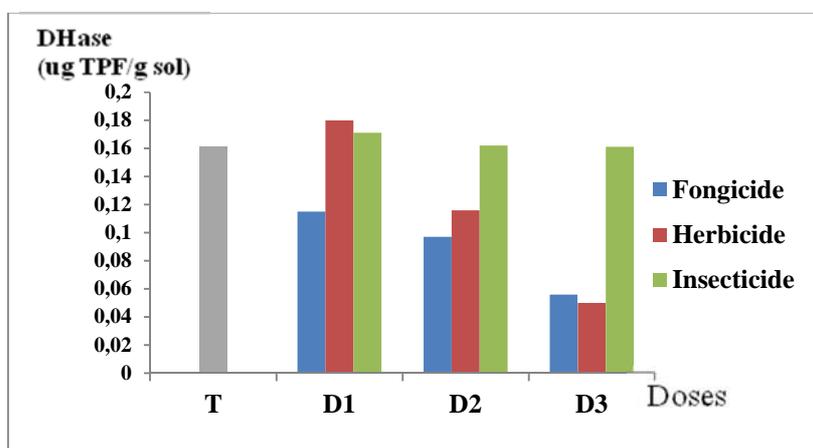


Figure 2-54. Teneur de la déshydrogénase du premier prélèvement des sols traités par les trois pesticides

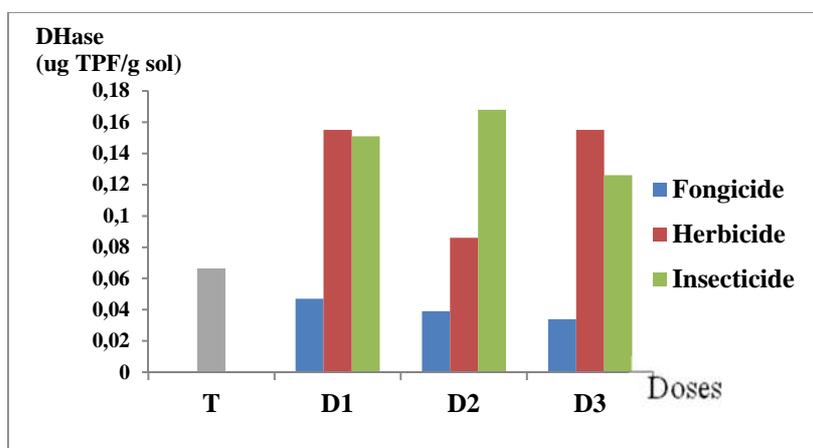


Figure 2-55. Teneur de la déshydrogénase du deuxième prélèvement des sols traités par les trois pesticides

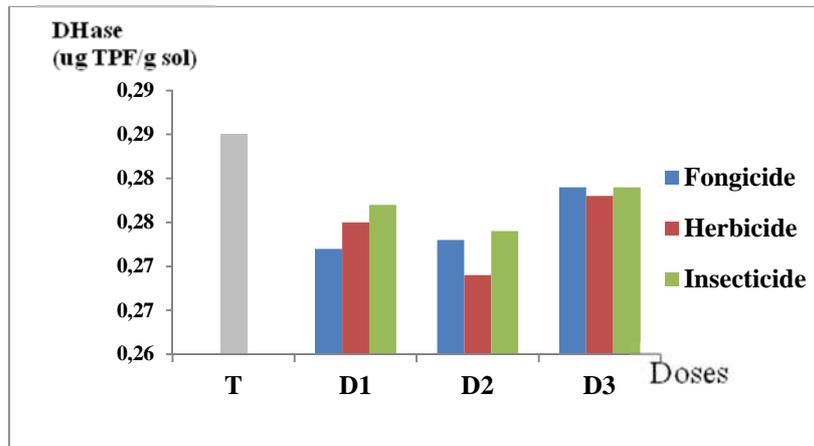


Figure 2-56. Teneur de la déshydrogénase du 3^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

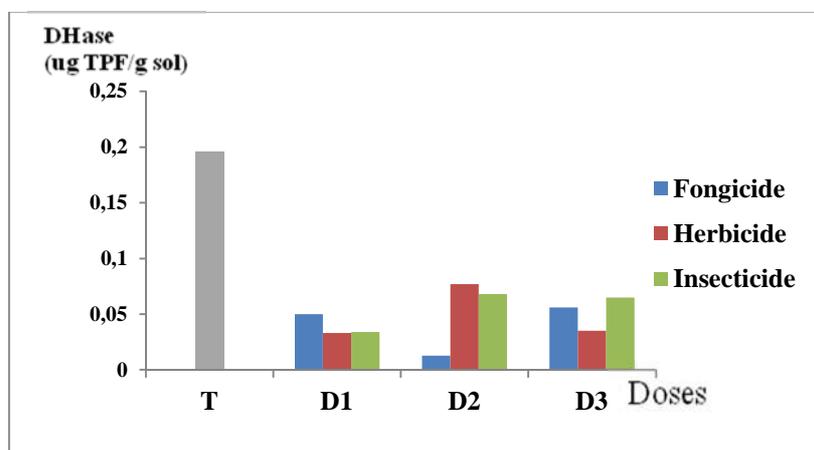


Figure 2-57. Teneur de la déshydrogénase du 4^{ème} prélèvement des sols traités par les trois pesticides

3.6. Discussion

Les potentialités d'un sol fertile peuvent être appréciées à l'aide des paramètres biologiques, biochimiques, physiques et chimiques et de leurs interactions.

Les analyses des sols traités par les différentes doses de pesticides montrent une grande variabilité dans les résultats. Il y a une correspondance plus ou moins bonne entre les différents traitements de pesticides et les réponses obtenues. L'impact des doses n'est pas toujours évident et les différences n'apparaissent pas clairement dans les valeurs enregistrées. L'analyse statistique des résultats obtenus, réalisée à l'aide des trois tests : ANOVA, TUKEY et DUNNETT révèlent qu'il n'existe pas des différences significatives entre les sols traités par les 3 doses et le sol témoin et constituent un groupe homogène aussi bien pour l'insecticide que l'herbicide. En ce qui concerne le fongicide, les trois tests aboutissent à des différences juste significatives avec deux groupes de doses homogènes.

Les caractéristiques physico-chimiques du sol ont un retentissement important sur les principales activités biologiques qui se déroulent au niveau du sol et par voie de conséquence elles influent sur les rendements biologiques et agricoles.

Le sol de nature acide a subi une alcalinisation à la suite de l'emploi répété de pesticides à différentes doses. En effet, les pesticides aboutissent à l'introduction dans le sol de molécules minérales telles que les molécules d' H_2O ou de NH_3 . L'ammoniac est un produit chimique à pH élevé et par conséquent, sa présence élève le pH du sol. Les sols traités aux pesticides ont révélé des pH situés dans la zone optimale d'activité biologique; ils sont compris entre 6,2 et 7,8. La grande majorité des espèces fongiques et bactériennes se développe dans une zone de pH de 4,5 – 8,0 et les optima se situent entre 5,5 et 7,5 (**Botton et al., 1990**). D'une manière générale, les champignons préfèrent les pH neutres et supportent bien les pH acides. Les bactéries se développent mieux sur des milieux dont le pH est proche de la neutralité. De plus certains microorganismes peuvent modifier le pH du milieu par absorption sélective et échanges d'ions avec une production de NH_3 ou production d'acides organiques. Les autres éléments majeurs chimiques du sol sont présents à des concentrations normales permettant une bonne constitution du sol et une bonne réserve pour la production agricole. Le magnésium par contre se trouve en excès et peut ainsi entraîner un effet antagoniste avec les autres éléments majeurs du sol, et leur absorption par la plante en provoquant des perturbations physiologiques (**Vedie, 2004**).

Parmi tous les paramètres chimiques analysés, trois sont prépondérants et jouent un rôle important dans le fonctionnement du sol, il s'agit de la matière organique, du carbone et de l'azote. Tous les trois sont impliqués fortement dans les différentes composantes de la fertilité des sols, tant physique, chimique que biologique. Ils permettent d'aborder les relations dynamiques qui existent entre la qualité des sols et sa fertilité, la quantité de la biomasse et les variations de leur activité (Salducci, 2007). A ceux là, s'ajoute le rapport C/N. Ce dernier, est un indicateur qui permet de juger du degré d'évolution de la matière organique, c'est-à-dire de son aptitude à se décomposer plus ou moins rapidement dans le sol: Plus il est bas, plus l'activité biologique est élevée. Or, les C/N des sols traités, sont très bas dans tous les cas et font allusion à des taux de matières carbonées intéressants et un bon développement des microorganismes. Ces 3 éléments nutritifs majeurs supplémentés de quelques éléments minéraux sont généralement considérés comme les principaux acteurs de la fertilité, tant pour l'agriculture que pour les fonctions environnementales (Salducci, 2007; Nicolardot *et al.*, 1987). Selon Badjissaga Maba (2007), l'azote constitue l'élément nutritif majeur qui limite le plus le rendement, suivi du phosphore puis du potassium. Tous ces composants associés, augmentent la qualité du sol, protègent aussi l'environnement par la fixation des polluants (les pesticides, les métaux, lourds) avec, en général, une diminution de leur toxicité. Ceci a été démontré également par Madrigal-Monarez(2004) dans son travail sur la rétention des pesticides dans le sol. Les constituants du sol qui présentent la plus forte capacité de sorption sont les composés minéraux et la matière organique, et il est souvent difficile de séparer clairement leurs rôles car ils sont souvent très associés. Pour les pesticides non ionisés, la sorption met en jeu des interactions avec les matières organiques du sol et les constituants minéraux. Le rôle prépondérant des matières organiques associés est généralement observé pour ce type de molécules (Hamaker et Thompson, 1972; Chiou *et al.*, 1979; Hassett *et al.*, 1983; Calvet, 1989).

En ce qui concerne la biomasse microbienne, les taux calculés révèlent que les sols contaminés par les différentes concentrations de pesticides hébergent une population importante à des taux assez hétérogènes. Le dénombrement a fait ressortir une microflore variée aussi bien du point de vue quantitative que qualitative avec un total de 3×10^6 isolats bactériens et 2×10^5 isolats fongiques. Si l'on se réfère aux paramètres chimiques analysés, on remarque qu'il y a une parfaite corrélation entre l'abondance de la microflore totale et les teneurs en carbone totale. En effet, il a été signalé que l'abondance de biomasse microbienne

est liée à des taux élevés de matière organique et de carbone nécessaires à la vie des microorganismes du sol et notamment pendant les premières étapes de décomposition (**Bordjiba et al., 2001**). Par faute de chlorophylle, les microorganismes et les champignons en particulier, sont tous incapables d'assimiler le CO₂ par voie chimiosynthétique (photosynthèse), ils utilisent donc les composés organiques comme source de carbone. Ils possèdent au niveau de leur paroi des enzymes (exemple: α amylase, pectinases) qui leur permettent de dégrader les substrats organiques complexes qui ne peuvent pas franchir la paroi (kératine, cellulose, lignine, acide humique) (**Davet, 1996 in Bordjiba et al., 2003**).

Le dénombrement des micro-organismes du sol est l'une des caractéristiques de la fertilité biologique du sol et donne une idée sur le nombre des groupes fonctionnels (**Pochon et Tardieux, 1962**). Les taux dénombrés au cours de notre expérimentation sont plus ou moins faibles que ceux des témoins, et ce, pour les prélèvements des trois années consécutives. Il s'avère par ailleurs qu'il n'y a pas de relation de l'effet dose - réponse si l'on compare la microflore obtenue à partir des sols traités à différentes concentrations. Juste après l'épandage, la flore microbienne des sols n'est pas influencée négativement dans le court terme par la présence de pesticides. Au contraire, les bactéries et les champignons bénéficient de la présence de ces produits phytosanitaires et les utilisent comme source de carbone et d'énergie durant les premières étapes de la croissance. En effet, il est connu que les traitements répétés d'un sol avec un même pesticide peuvent conduire à sélectionner une microflore adaptée qui accélère la dégradation du dit pesticide. Ces composés chimiques subissent ainsi une biodégradation par les microorganismes d'une part, et une dégradation chimiques d'autre part. Le reste des produits épandus sera absorbé et/ou adsorbé par les matières organiques au niveau des différents compartiments du sol. Pour ce fait, les populations microbiennes numérisées à partir des boîtes de pétri semblent résister à l'effet toxique du pesticide et se développent à des taux importants et dépassent quelquefois celles des sols témoins. Cette détoxification du pesticide se traduisant par une stimulation de la croissance et la sélection des souches résistantes a été signalée également par **Barriuso (1994)** et **Chaussod (1999)**. Cependant, dans une autre étude antérieure réalisée par **Chaussod en 1994**, l'auteur a signalé une action toxique du pesticide sur la biomasse microbienne se traduisant par un ralentissement de la croissance et la disparition des espèces sensibles.

Pour ce qui est du coefficient respiratoire (valeur qui nous renseigne sur la respiration exprimée en mgC-CO₂ par jour et par unité de C·biomasse), les valeurs notées décèlent une

Impact de la pollution par les pesticides sur la qualité des terres agricoles

certaine similarité avec celles du témoin avec toutefois une légère augmentation qui varie selon la dose du fongicide, de l'herbicide ou de l'insecticide. Après une augmentation au début de la 2^{ème} année, on enregistre de nouveau une diminution de l'intensité respiratoire pour toutes les doses de trois pesticides à partir de la seconde moitié de la 3^{ème} année. Ceci pourrait s'expliquer par la température d'incubation des microorganismes lors des dosages. Dans les conditions de notre expérimentation, le sol était maintenu à une température de 27°C ce qui constitue un optimum pour la croissance de la microflore *in situ* et notamment des champignons. Or, la méthode utilisée pour le calcul du coefficient respiratoire nécessite une température d'incubation de 30°C qui est probablement non favorable pour la croissance de la biomasse microbienne. Ces résultats sont assez similaires à ceux rapportés par **Tate et Jenkinson (1982)** qui ont suivi l'évolution de la biomasse à partir d'un dosage de l'ATP d'un échantillon conservé sept jours à 10 ou 25° C. Ces auteurs observent une augmentation de la teneur en ATP (qui peut être due au réchauffement de la terre prélevée à 5,5° C) et une augmentation apparente de la biomasse qui s'explique essentiellement par la diminution de la respiration dans le traitement non fumigé. Les faibles valeurs du quotient d'activation respiratoire (QR) indiquent que les micro-organismes ont utilisé une part du carbone du sol en tant que source de carbone et d'énergie (**Muhinda et al., 2009**).

La mesure du dégagement de CO₂ d'un sol *ex situ* correspond en fait à l'évaluation de son potentiel d'activité biologique ; celui-ci dépend du carbone minéralisable présent, qui n'est lui-même qu'en partie fonction de l'activité biologique globale du sol (**Bachelier, 1966 et 1968 a**). En effet, un fort dégagement de CO₂, correspondant à la réhumidification d'un échantillon de sol desséché peut indiquer : soit que cet échantillon de sol avait un métabolisme très actif et était traversé par un flux énergétique important et présentait de fortes teneurs en carbone minéralisable rapidement renouvelable, soit, au contraire, que cet échantillon de sol était le siège de biostases microbiennes que le dessèchement a plus ou moins cassées en libérant les substances énergétiques de type glucidique qui s'y trouvaient bloquées avec l'engorgement du flux énergétique(**Bachelier, 1968**).

Sur le plan biochimique, la fertilité des sols ayant subi l'effet de pesticides a été étudié à partir de quelques enzymes indicatrices permettant une estimation rapide de l'activité globale du sol. Il existe de nombreuses enzymes dans les sols, toutes représentatives d'un ou plusieurs processus biologiques. Pour notre part, nous avons choisi d'évaluer les activités de trois enzymes qui jouent un rôle primordial dans les processus biologiques qui se déroulent dans le sol. La déshydrogénase est l'une des nombreuses enzymes qui interviennent lors des

oxydations respiratoires cellulaires des êtres vivants du sol. La phosphatase quant à elle, a pour rôle principal, la déphosphorylation des esters organiques phosphorylés au niveau du réticulum endoplasmique ayant un pH d'activité inférieur à 7 (phosphatase acide) ou supérieur à 7 (phosphatase alcaline).

La quantification de ces enzymes pendant les trois années, a fait ressortir deux catégories de valeurs, celles dont les teneurs sont plus importantes que celles des témoins: la phosphatase acide et la phosphatase alcaline et celle détectée à des concentrations inférieures par rapport à celles des sols témoins et, il s'agit là de la déshydrogénase. Les activités des 3 enzymes étudiées au niveau du sol traité sont très hétérogènes et montre également une grande variabilité. Les réponses diffèrent en fonction de la dose, de la nature du pesticide et du temps de prélèvement des échantillons du sol. Globalement, les activités de la phosphatase acide et de la phosphatase alcaline sont assez intenses et dépassent quelquefois celles de leurs homologues témoins. Cependant, l'activité déshydrogénasique est moins intense que celle du sol témoin et notamment lors de la seconde moitié de la 3^{ème} année. Nous pensons que les conditions auxquelles est soumis le sol de notre essai expérimental (sol mis en repos pendant une année de jachère) ont provoqué la diminution de la quantité de la déshydrogénase. Cette diminution serait due à la baisse de l'activité biologique des espèces microbienne. Cependant, cette corrélation entre les teneurs enzymatiques et l'intensité respiratoire n'est pas toujours évidente. Cette hypothèse a été également signalée par de nombreux auteurs qui ont éprouvé des difficultés à relier la biomasse microbienne et les activités enzymatiques, même dans des conditions expérimentales favorables (**Ladd et Paul, 1973 ; Nannipieri et al., 1979**).

Les activités enzymatiques mesurées dans des conditions très artificielles ne donnent que des valeurs potentielles qui peuvent varier selon les conditions expérimentales (par ex. les phosphatases du sol sont sensibles à la présence de phosphore minéral d'après **Nannipieri et al., 1978**). Par ailleurs, selon **Fauvel et Rouquerol (1970) in Nicolardot et al., 2010**, l'activité enzymatique d'un sol n'est pas le fait exclusif des enzymes microbiennes, elle peut être due aussi à l'action d'enzymes libres d'origine et de durée de vie dans le sol indéterminées. L'activité biologique d'un sol ne peut donc s'apprécier à travers l'étude d'une seule enzyme (**Fauvel et Rouquerol, 1970**). Depuis 1965, des travaux mettaient en évidence l'intérêt mais aussi les limites de telles études. Malgré d'importants perfectionnements techniques de nombreuses limitations subsistent : si l'on peut s'affranchir partiellement des interférences avec les constituants organiques et minéraux du sol par des extractions adaptées (**Nannipieri et al., 1980 in Nicolardot et al., 2010**).

Conclusion

Dans cette partie de notre travail nous avons essayé de comparer des sols soumis à différents traitements par les pesticides et de suivre dans le temps l'évolution de certains paramètres. Il s'agit d'une étude diachronique permettant des comparaisons synchroniques fiables. Outre la caractérisation physico-chimique, les mesures biologiques et biochimiques sont utiles pour évaluer les effets de divers traitements des sols.

Nous pouvons affirmer que même les doses les plus élevées des pesticides n'induisent pas d'effet statistiquement significatif sur les caractéristiques du sol du moins à court et moyen terme. Les teneurs du sol traité en carbone, azote, biomasse microbienne n'ont pas présenté de variations significatives durant les 3 années. De plus, l'apport de pesticides n'a pas présenté de grande différence par rapport à celle du sol témoin, à l'exception de légères différences entre les concentrations, la nature du pesticide et la période de prélèvement.

Cela signifie que la fertilité des sols n'est pas fonction de la dose de pesticides employée mais aussi de l'interaction de plusieurs facteurs dont les propriétés physico-chimique des molécules de pesticides et leur comportement au niveau des sols et la dynamique des populations microbienne.

En guise de conclusion, nous tenons à signaler que l'interprétation de la qualité des terres agricoles est souvent entachée d'erreur et nécessite des référentiels de sols qui ne sont pas disponibles ou n'ayant pas les même caractéristiques. On voit ainsi que pour fournir une interprétation fiable il faut disposer d'un grand nombre de données de référence sur le type de sol (analyses physiques et chimiques), sur les paramètres biochimiques et biologiques et sur les conduites agronomiques (culture, fertilisation, travail du sol etc.).

CHAPITRE 3

**LES TRAITEMENTS DU SOL PAR LES
PESTICIDES ET LEURS INCIDENCES
SUR LA PLANTE (TRITICUM DURUM).**

**EVALUATION DE QUELQUES
BIOMARQUEURS BIOCHIMIQUES ET
PHYSIOLOGIQUES**

CHAPITRE 3. LES TRAITEMENTS DU SOL PAR LES PESTICIDES ET LEURS INCIDENCES SUR LA PLANTE (*TRITICUM DURUM*). EVALUATION DE QUELQUES BIOMARQUEURS BIOCHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

1. INTRODUCTION

Un sol fertile est un sol qui possède l'aptitude à assurer de façon durable l'approvisionnement des plantes en éléments nutritifs, les conditions de croissance et de développement, et l'obtention de récoltes et les rendements biologiques et utiles. En revanche, on peut se demander si un sol contaminé par des molécules organiques (pesticides), pourra assurer son rôle et fournir à la plante toutes les conditions favorables à la croissance et au bon rendement. Selon **Barriuso et al. (1996)**, la contamination des sols par les pesticides est souvent raisonnée par rapport à une cible, mais il est important de ne pas oublier que les sols sont en soi une ressource difficilement renouvelable et où la présence de polluants organiques peut affecter leur utilisation dans une perspective de développement durable. Un point de controverse est la considération des pesticides comme des polluants organiques des sols. L'application de ces pesticides doit-elle être considérée comme une atteinte à la qualité des sols.

La vocation initiale des pesticides utilisés en agriculture est de protéger les cultures et de contrôler l'infestation et la propagation des ennemis des cultures, leur utilisation étant nécessaire pour maintenir un niveau de production et de qualité compatibles avec la demande et les besoins, ce qui par ailleurs s'inscrit dans les principes d'une agriculture durable. D'un point de vue environnemental, l'utilisation agricole des pesticides peut poser des problèmes liés à la faible sélectivité des cibles et à la dispersion dans d'autres compartiments de l'environnement.

Dès qu'ils ont atteint le sol, les pesticides commencent à disparaître. Les matières actives peuvent se volatiliser, ruisseler ou être lessivées et atteindre les eaux de surface ou souterraines, être absorbées par les racines des plantes ou des organismes du sol. Une proportion importante (20 à 70%) d'un pesticide (ou de ses métabolites) peut persister dans le sol liée aux colloïdes (**Calderbank, 1989**). Ils sont alors soit absorbés et adsorbés par les composants minéraux et organiques ou relargués et absorbés par les plantes ou bien encore lixiviés vers les nappes (**Calvet et Barriuso, 1994 ; Schiavon et al, 1995**). L'absorption des pesticides du sol par les plantes est probablement une des voies majeures qui conduisent à

leur accumulation le long des chaînes trophiques et à leur mise en contact avec l'homme et les animaux (**Paterson et al., 1990**). Toutefois, l'absorption foliaire des substances volatilisées à partir du sol pourrait contribuer plus à l'accumulation de résidus dans les plantes que l'absorption par les racines (**Topp et al., 1986**).

Les pesticides absorbés, pénètrent au sein des plantes par un phénomène de simple diffusion à travers les membranes (**Canard, 2003**) et s'accumulent dans les différents organites cellulaires et en particulier dans les chloroplastes. Leur devenir diffère ensuite d'une plante à l'autre; ils sont soit détoxifiés par hydrolyse puis désalkylation, soit ils forment des résidus extractibles sous forme de molécules libres, Extractibles mais conjugués à des composants naturels de la plante, et/ou des résidus liés non extractibles liés aux constituants de la plante. Ces résidus non extractibles peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante (cellulose, pectine, protéines, amidon); mais c'est dans la lignine qu'ils sont principalement localisés (**Bertin, 1994**). Par voie de conséquence, ces produits phytopharmaceutiques accumulés dans les différents tissus de la plante vont entraîner sans aucun doute des perturbations graves, voire irréversibles des caractéristiques biologiques, biochimiques et physiologiques.

Dans ce contexte, nous avons tenté de vérifier l'impact des traitements répétés de trois doses croissantes de trois pesticides (herbicide, fongicide, insecticide) sur quelques biomarqueurs biochimiques et physiologiques.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Objectifs

Cette partie de notre travail complète la précédente. Elle consiste à vérifier si les différents traitements de pesticides réalisés sur le sol pourraient induire une altération de la qualité et du rendement biologique du végétal, bien qu'il ne soit pas soumis directement à l'effet du pesticide.

2.2. Principe

Il s'agit de cultiver la plante sur les mêmes pots contenant le sol traité qui a servi à évaluer les paramètres physico-chimique, biologiques et enzymatiques du chapitre précédent. Le même dispositif expérimental dont les détails sont présentés dans la figure 2-2 est utilisé pour estimer

l'impact des pesticides sur la plante cultivée à travers quelques biomarqueurs physiobiochimiques

2.3. Matériel végétal

Notre étude a porté sur une espèce de blé dur « *Triticum durum Desf* » GTA dur. var. cirta qui nous a été fournie par l'institut technique des grandes cultures (ITGC d'El-Khroub). Il s'agit d'une plante herbacée, appartenant au groupe des céréales à paille. Elle est d'origine mexicaine a été introduite en Algérie par l'ITGC depuis l'année 2000. La fiche détaillée de l'espèce est présentée dans l'annexe D.

Dix graines de *Triticum durum* ont été semées dans les pots traités durant la première et la troisième année de l'expérimentation. Durant la deuxième année, le sol des pots a été mis au repos sous des conditions de jachère. Le dosage des paramètres physiologiques et biochimiques ont été réalisés sur les prélèvements de feuilles au stade début montaison.

2.4. Méthodes

2.4.1. Evaluation quantitative des pigments chlorophylliens :

Les chlorophylles a et b et (a+b) ont fait l'objet de cette analyse. La méthode adoptée est celle de **Hicox et Israelisam (1978)** (annexe C1). L'extraction est faite au D.M.S.O (dimethylsulfoxyde). Cette technique a l'avantage d'être rapide ne nécessitant pas une période longue de macération. Le dosage a été effectué par la détermination de l'absorbance de la solution aux longueurs d'ondes 663 et 645 nm. Les concentrations ont été calculées à partir de l'équation suivante :

$$\text{Chl a} = 12 \text{ D.O (663)} - 2,67 \text{ D.O (645)}$$

$$\text{Chl b} = 22,5 \text{ D.O (645)} - 4,68 \text{ D.O (663)}$$

$$\text{Chl (a+b)} = 20,2 \text{ (A645)} + 8,02 \text{ (A663)}$$

2.4.2. Evaluation quantitative des glucides solubles totaux

La méthode utilisée est celle de **Shields et Burnett., (1960)** (annexe C.2) qui utilise l'anthrone en milieu sulfurique pour déterminer la quantité des glucides totaux réducteurs et hydrolysables. C'est une technique d'extraction après macération du végétal dans de l'éthanol à 80% pendant 4 heures. Le dosage se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde 585 nm

après l'étalonnage de l'appareil. Les concentrations des glucides ont été ensuite évaluées à partir des courbes d'étalonnage (Figures 3-1 ; 3-2)

Y : densité optique

X : quantité de sucres (μg)

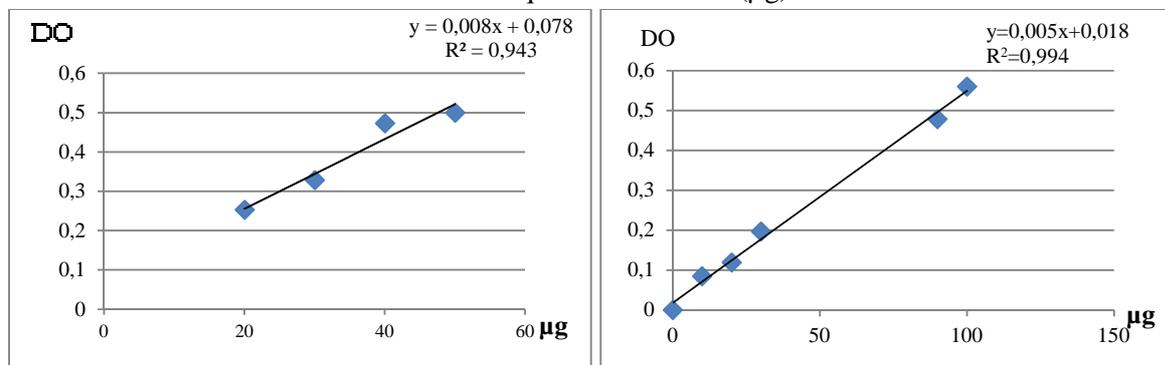


Figure 3-1. Courbe d'étalonnage des sucres solubles de la 1^{ère} année. Figure 3-2. Courbe d'étalonnage des sucres solubles de la 3^{ème} année

2.4.3. Evaluation quantitative des protéines solubles totales

Les protéines détectées ont été quantifiées par la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le BSA (le sérum d'albumine de bovin) comme standard. Elle repose sur un dosage colorimétrique, basé sur le changement de l'absorbance se manifestant par le changement de la couleur du bleu de Coomassie après liaison avec les acides aminés basiques (arginine, histidine, lysine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines. Contrairement aux autres méthodes de mesure des protéines, la méthode de Bradford est moins sensible aux interférences par divers agents présents dans les échantillons de protéine. Toutefois dans cette méthode, les acides aminés, les peptides et les protéines de bas poids moléculaire ne sont pas détectés par cette méthode (annexe C3). Après étalonnage du spectrophotomètre, les mesures des densités optiques ont été lues à une longueur d'onde de 595nm et les calculs des concentrations ont été effectués à partir des courbes d'étalonnage (Figure 3-3 ; 3-4)

X : quantité de protéines en (mg)

Y : densité optique

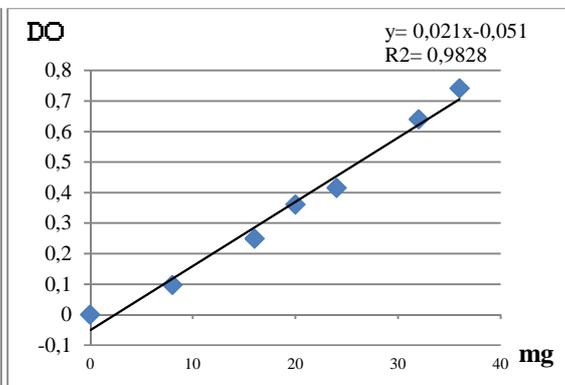
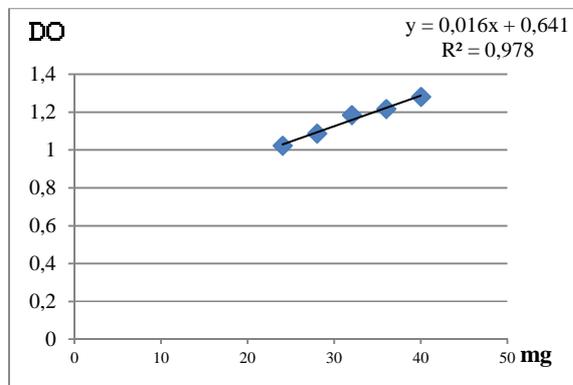


Figure 3-3. Courbe d'étalonnage des protéines solubles de la 1^{ère} année

Figure 3-4. Courbe d'étalonnage des protéines solubles de la 3^{ème} année

2.4.4. Evaluation quantitative de la proline

La technique utilisée pour le dosage de la proline est celle de Monneveux et Nemmar., (1986) qui utilise l'acide ortho phosphorique et la ninhydrine (réactifs ajoutés à l'acide acétique). Les dosages sont réalisés par spectrophotométrie à la longueur d'onde de 528nm après étalonnage de l'appareil. Les calculs sont effectués à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage. Les détails de la technique sont présentés dans l'annexe C4.

Y : densité optique (DO),

X : concentration en proline

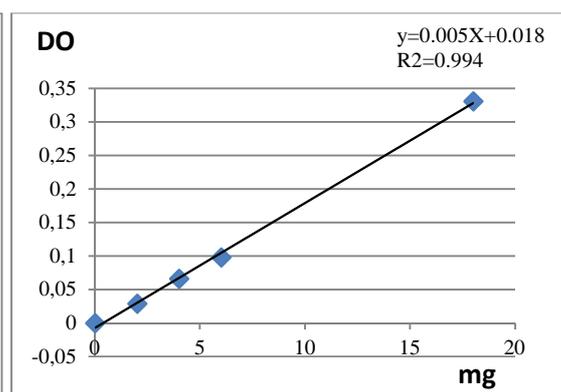
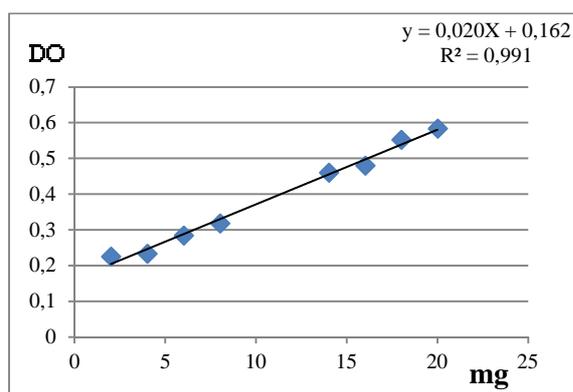


Figure 3-5. Courbe d'étalonnage de la proline de la 1^{ère} année

Figure 3-6. Courbe d'étalonnage de la proline de 3^{ème} année

2.4.5. Calcul de la faculté germinative des semences in situ

Nous avons essayé de rapprocher les possibilités de germination des semences dans les pots sous les conditions de laboratoires à la germination et aux levées généralement observées dans les parcelles cultivées en plein champ.

La faculté germinative a été calculée à partir du pourcentage de graines ayant germé dans le sol traité et ayant donné une plantule viable, en peu de temps. Les taux sont calculés à partir de la formule suivante :

Taux de germination en % = Nombre de semences germées x 100 / Nombre de semence testées.

2.4.6. Analyses statistiques

Tous les résultats obtenus ont été validés par une analyse statistique; pour chaque paramètre de la plante, nous avons calculé la moyenne (m), l'écart type (s) et les valeurs minimales (X_{\min}) et maximales (X_{\max}) pour chaque dose de pesticide. Nous avons adopté les mêmes tests (analyse de la variance à un critère de classification, test de TUKEY, test de DUNNETT) que ceux utilisés dans la partie précédente (paramètres du sol).

2.5. Résultats et discussion :

2.5.1. Evaluation du taux de la germination des semences in situ dans (le sol)

D'après le tableau suivant on constate que les sols traités par les trois pesticides présentent une bonne faculté germinative variant entre 60% et 100%. Le taux de germination le plus élevé est atteint au niveau du sol traité par la D1 de l'insecticide et le taux le plus bas est enregistré au niveau du sol traité par la D3 de l'insecticide.

Tableau 3.1- Evaluation du taux de germination des semences in situ dans (le sol)

% de germination	1 ^{ère} année			3 ^{ème} année		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3
Sur sol traité avec insecticide	100	90	100	100	60	30
Sur sol traité avec herbicide	90	80	100	100	60	90
Sur sol traité avec fongicide	90	90	80	70	90	70
Sol témoin	90			70		

2.5.2. Evaluation quantitative des pigments chlorophylliens

D'une manière générale, les taux de chlorophylle (a+b) augmentent pendant la 3^{ème} année pour toutes les doses de chacun des trois pesticides. Les meilleurs résultats ont été enregistrés pour la dose D1 du fongicide au courant de la 1^{ère} année et la dose D2 de l'insecticide lors de la 3^{ème} année. Les valeurs les plus basses ont été détectées pour la dose D3 de l'herbicide et la dose D1 du fongicide pendant la 3^{ème} année.

Selon l'analyse de la variance (ANOVA), il n'existe pas de différences significatives entre les moyennes des 3 doses de l'insecticide et le témoin pour la chlorophylle totale. Par contre des différences juste significatives sont détectées entre les moyennes des 3 doses et le témoin pour le fongicide et l'herbicide. D'autre part, d'après le test de STUDENT, il y a des différences significatives entre les valeurs des deux années de prélèvement.

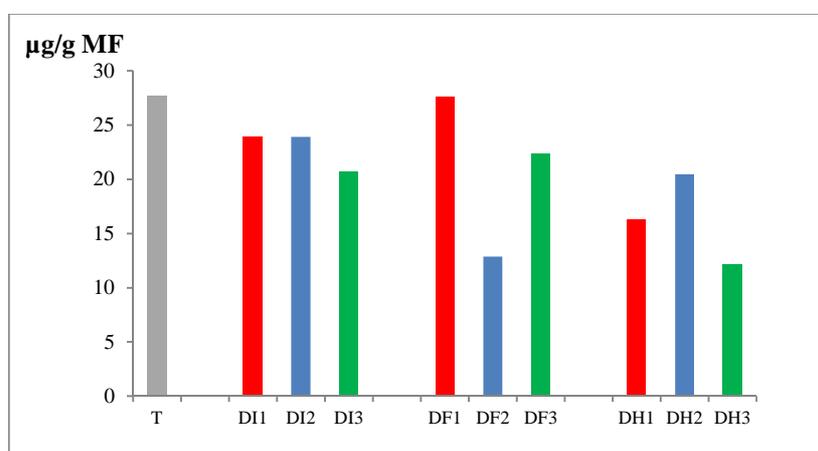


Figure 3-7. Teneur de la chlorophylle a+b lors de la 1^{ère} année

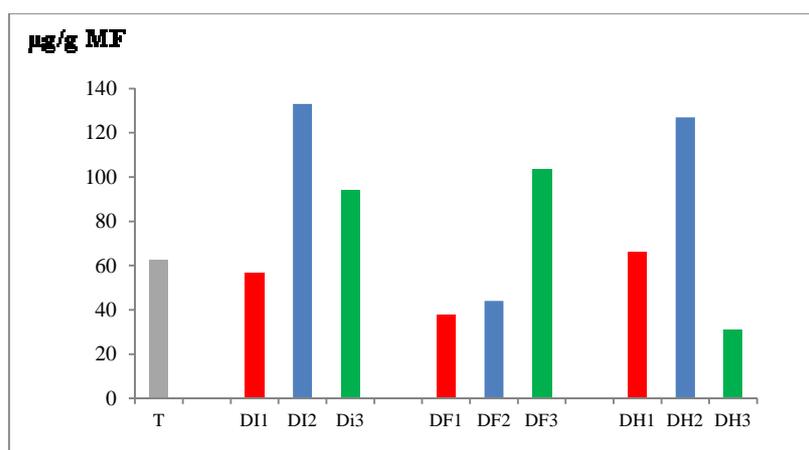


Figure 3-8. Teneur de la chlorophylle a+b de la 3^{ème} année

2.5.3. Evaluation quantitatives des glucides solubles totaux

D'après les figures 3-9, 3-10 On constate que les taux des glucides des échantillons traités sont plus élevés que ceux des témoins au cours de la 1^{ère} année. Ils sont plus faibles par rapport aux témoins pendant la 3^{ème} année à l'exception des taux enregistrés au niveau des plantes ayant poussé au niveau des sols contaminés par la dose D1 de l'insecticide et la dose D3 de l'herbicide. Selon le test de STUDENT et du point de vue comparaison entre les années, des différences ont été observées uniquement pour la dose D2 du fongicide (hautement significative), la dose D1 de l'insecticide et la dose D3 de l'herbicide (très hautement significative).

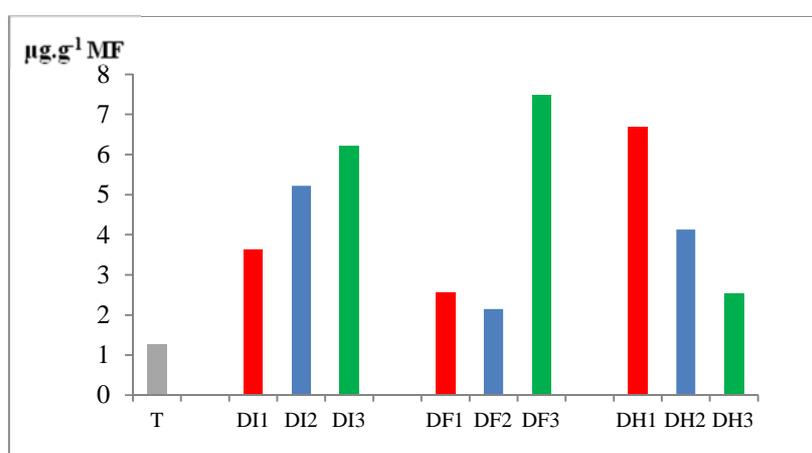


Figure 3-9. Taux des sucres solubles lors de la 1^{ère} année

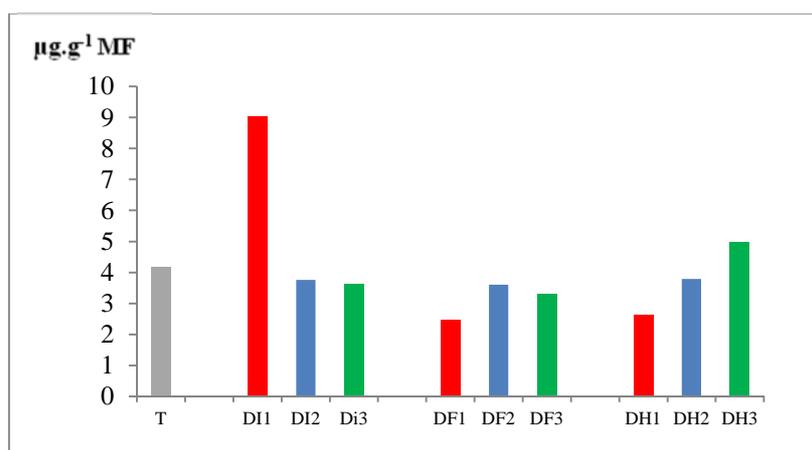


Figure 3-10. Taux des sucres solubles lors de la 3^{ème} année

2.5.4. Evaluation quantitative des protéines solubles totales

Les valeurs enregistrées des protéines à partir des feuilles des plantes cultivées sur les sols traités sont plus importantes que celles des témoins. Si l'on compare les quantités de protéines en tenant compte de l'effet-dose, les analyses statistiques font ressortir une différence juste significative pour le fongicide. Les mêmes analyses dénotent également des différences hautement significatives pour la dose D 3 de l'herbicide et la dose D2 de l'insecticide.

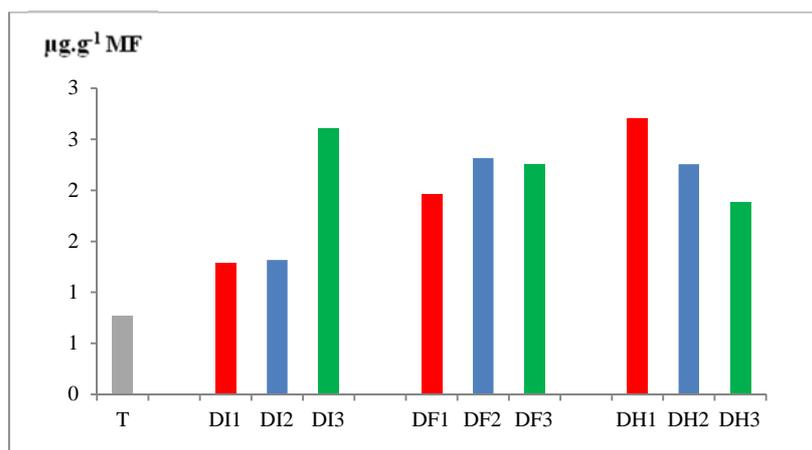


Figure 3-11. Teneur en protéine totale lors de la 1^{ère} année

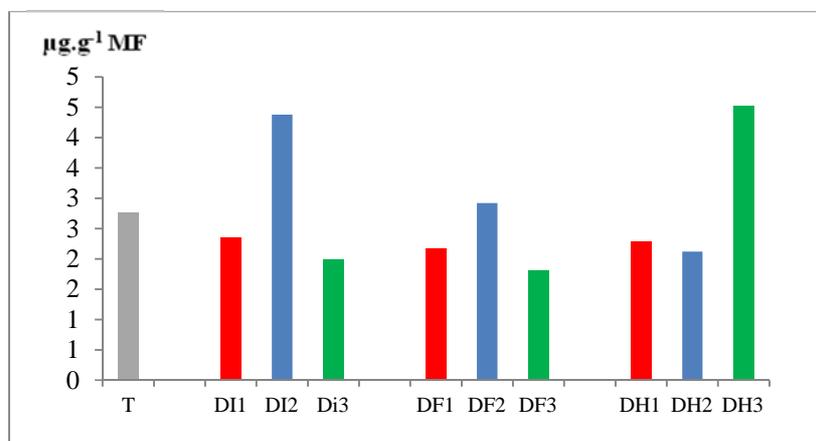


Figure 3-12. Teneur en protéines totales lors de la 2^{ème} année

2.5.5. Evaluation quantitative de la proline

Vu, les résultats présentés par les figures 3-11 et 3-12, il semble qu'il y ait une diminution non négligeable lors de la 2^{ème} année pour toutes les teneurs de la proline sauf pour la dose D2

et la dose D3 de l'insecticide. En effet, le test de STUDENT dénote une différence très hautement significative pour la dose D1 de l'insecticide et une différence très hautement significative pour la dose D2 et la dose D3 du fongicide. Le même test montre également des différences hautement significatives pour la dose D1 de l'herbicide et très hautement significatives pour la dose D2 et la dose D3 de l'herbicide.

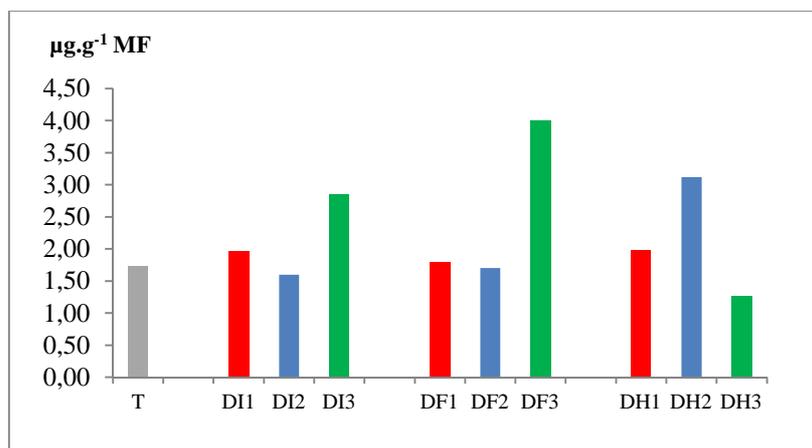


Figure 3-13. Teneur en proline lors de la 1^{ère} année.

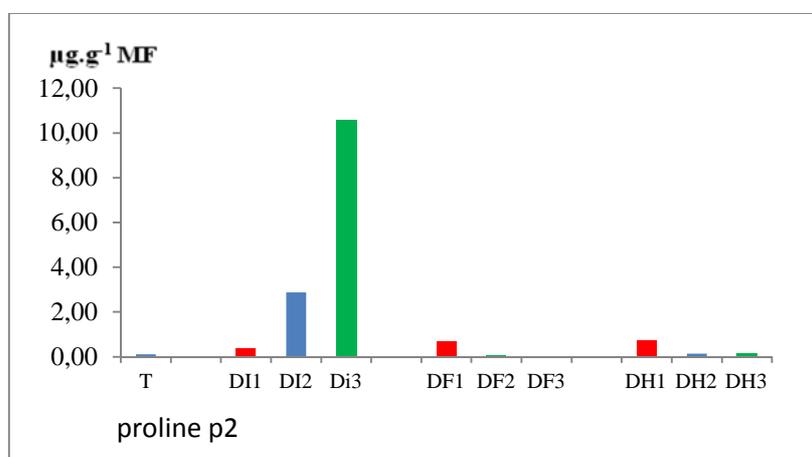


Figure 3-14. Teneur de la proline lors de la 2^{ème} année

2.5.6. Discussion

Une terre fertile est une terre qui possède l'aptitude à assurer de façon durable la croissance des plantes et l'obtention de bonnes récoltes. Grâce au sol nous pouvons produire l'essentiel de nos aliments. L'azote avec d'autres éléments (carbone, oxygène, hydrogène magnésium, phosphore...), est un élément essentiel pour la constitution des cellules et la chlorophylle).

C'est le principal facteur de croissance des plantes et un facteur de qualité qui influe sur le taux de protéines et des acides aminés des végétaux. La qualité du sol influe sur la qualité de la plante

Comme pour les paramètres du sol, On note également ici une grande variabilité dans les résultats de tous les paramètres physio-biochimiques entre les pesticides, les doses de pesticides et le témoin. Globalement, il ya une perturbation au niveau des concentrations de tous les indicateurs biochimiques de la plante: les métabolites chlorophylliens, protéiques, glucidiques et proline.ces derniers sont détectés à des concentrations inférieures à celles des plantes témoins du sol non traité à partir des échantillons de feuilles prélevées pendant la première année du semi. L'analyse de la variance d'un critère ANNOVA, les tests de TUKEY et DUNNETT révèlent des différences juste significatives pour les pigments chlorophylliens totaux évalués à partir des extraits de feuilles contaminées par la dose D2 (dose au champ /5) de l'insecticide et La dose D3 de l'herbicide (dose au champ X 10), et non significatives pour les autres cas. L'inhibition de la synthèse de la chlorophylle a et de la chlorophylle b des plantes soumises à une contamination par des produits polluants tels que les pesticides ou les métaux lourds a été également signalée dans de nombreuses études. La perturbation de ce biomarqueur est interprétée de différentes façons : altération de l'équilibre hydrique de la plante, effets direct et indirect sur la photosynthèse et sur les processus primaire fournisseur d'énergie chez les plantes (**Stralka, 2002 ; Mysliwa-Kurdziel et al., 2002**). En effet, la modification des teneurs en chlorophylle induite par les xénobiotiques s'explique aussi par une inhibition directe de l'activité des deux photosystèmes de la chaîne photosynthétiques et en particulier au niveau des transporteurs d'électron tels que la ferrédoxine NADP⁺ réductase et (**Romanowska, 2002**). Les pesticides et notamment les herbicides ajoutés au sol puis absorbés par le système racinaire des plantes cultivées agissent par voie systémique dans la plante dont il perturbe la physiologie en inhibant la synthèse des pigments chlorophylliens et notamment la chlorophylle b et les caroténoïdes (**Youbi, 2005**). La présence de pesticides dans le milieu peut également provoquer la fermeture des stomates et le ralentissement de la transpiration ou encore l'inhibition de la distribution du potassium et des nitrates dans la phase aqueuse de la plante (**Gussarson, 1994 ; Pal et al., 2006, Fodor, 2002**).

Le stress organique et inorganique ou physiologique affectent la cellule végétale entraînant des modifications ultrastructurales des thylacoïdes et une désorganisation des systèmes granaires et lamellaires (**Benkhaled, 2003**). Selon d'autres chercheurs, le stress organique

provoqué par les xénobiotiques affecte la chaîne photosynthétique chloroplastique en inhibant la collecte d'énergie et sa transmission jusqu'à la chlorophylle piège (**Sandalio et al., 2001**). A l'inverse, les taux de la chlorophylle totale dépassent dans la majorité des cas ceux enregistrés chez les plantes du sol témoin. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce surpassement des teneurs en chlorophylles au niveau des plantes ayant végété sur les sols traités. La présence de pesticide provoque une induction du système de détoxification ce qui permettrait à la plante de développer ses mécanismes de défense. Ou bien encore, les pesticides n'affectent pas les plantes non ciblées et n'induisent pas d'inhibition des enzymes intervenant dans les réactions de biosynthèse des pigments. Ce qui irait dans le sens des travaux de **Hammou (2001)**, **Havaux et al. (1988)** et **Berova et al. (2002)**, montrant que les pesticides et en particulier les fongicides n'induisent pas d'effets toxiques sur les fonctions vitales de la plante et l'élaboration de la chlorophylle.

En ce qui concerne les teneurs en glucides, nous sommes confrontés à deux groupes de valeurs hétérogènes. Les unes traduisent une diminution des teneurs par rapport aux témoins et les autres, représentent le groupe qui marque une stimulation de la synthèse. L'inhibition de la synthèse des glucides solubles au début de l'expérience serait due à la présence de molécules de pesticide épanchées sur le sol qui n'ont pas encore subi de dégradation abiotique et biotique. Adsorbés au sol puis absorbés par les racines des plantes juvéniles, les pesticides induisent un effet inhibiteur sur la dégradation de l'amidon via des amylases et des phosphorylases. En effet, la dégradation de l'amidon fait intervenir des amylases pour mettre les glucides solubles à la disposition de la plante qui sont absentes chez les plantes non matures

Pour ce qui est de l'augmentation de ces mêmes métabolites, il s'agit d'une stimulation de la biosynthèse induite par une forte intensité photosynthétique au cours de la 3^{ème} année de l'expérimentation. Les résultats montrent qu'il existe une corrélation étroite entre les taux de glucides et les teneurs en chlorophylle. En effet, les glucides proviennent de la photosynthèse qui met en jeu les molécules de chlorophylle (a), (b) et caroténoïdes pour collecter l'énergie lumineuse. Les photons sont alors transmis aux différents transporteurs d'électrons de la chaîne photosynthétique, afin de réduire le NADP en NADPH + H⁺ et phosphoryler l'ADP en ATP + Pi. L'ATP et le NADPH ainsi produits sont utilisés pour réduire le CO₂ en molécules organiques tels que les glucides (**Berkaloff, 1983**). Cette accumulation de glucides sous l'effet des pesticides pourrait, à l'exemple de ce qui a été

rapporté par **Jha et Dubey (2004)**, résulter d'une altération des activités enzymatiques notamment l'invertase acide et la saccharose synthase.

Une autre explication a été avancée par **Benkhaled et al. (2003)** à l'égard de l'accumulation de l'amidon observée au niveau des chloroplastes accompagnée d'une augmentation des teneurs en sucres solubles peut être attribuée au moins en partie à une première réaction de dénaturation du saccharose phosphate synthase dans le cytosol, et aussi à une inhibition intra-chloroplastique des enzymes impliquées dans la dégradation de l'amidon suite à un changement dans la composition ionique des chloroplastes. Une grande variabilité des résultats concernant les sucres solubles a été rapportée à la suite des études sur les effets du stress métallique. Les plantes ayant été soumises aux polluants métalliques ou organiques révèlent soit une diminution des sucres qui est souvent accompagnée d'une augmentation de la teneur en amidon **Flowers et al.(1977)**.; soit une diminution des teneurs en sucres et en amidon **Keiper et al.(1998)** ou bien encore, une dégradation de l'amidon et une accumulation des sucres s'accompagnant de l'augmentation de l'activité de l'amidon phosphorylase, de celle de la glucose phosphate synthase et d'une diminution de l'activité de l'invertase. **Olmos et al. (1996)**.

Outres les glucides, les teneurs en protéines sont également moins importantes que celles des témoins concernant les plantes de stade juvénile. Toutefois, les plantes issues des sols traités par les doses I2 et H3 ont affiché une augmentation avec des teneurs hautement significatives. Cependant les quantités sont plus importantes au niveau de toutes les plantes de stade montaison par comparaison à leurs homologues témoins. Des différences hautement significatives ont été révélées à l'aide des tests ANNOVA, TUKEY et DUNNETT. En effet lorsque les contraintes environnementales (stress hydrique, oxydant, pollution, infection par des agents pathogènes) sont fortes, la plupart des protéines subissent une dénaturation (John et al. 2009). L'inhibition ou la stimulation de la teneur foliaire en protéines solubles sous stress des pesticides serait en partie due à l'effet de certains enzymes. Plusieurs auteurs rapportent que l'inhibition de l'activité enzymatique de la glutamine synthétase (GS) et la glutamate synthase dépendante de NADH (NADH-GOGAT) (**Bourgeois-Chaillou et al., 1992; Cordovilla et al., 1994**) sous la contrainte de la pollution des pesticides ou métallique sont parmi les facteurs limitant la biosynthèse protéique. Par ailleurs, il semble que l'accumulation des protéines totales solubles semble être due à l'accumulation des protéines du groupe

déhydrine en réponse à un stress particulier. Ces déhydrines jouent un rôle important dans la stabilité des protéines membranaires et dans l'ajustement osmotique (**Mouffak, 2010**)

La quantification de la proline révèle une augmentation entre les plantes témoins et traitées. Les teneurs en proline ont presque triplé pendant la 3^{ème} année. Ceci vient confirmer les travaux antérieurs réalisés par de nombreux auteurs comme **Chen et al. (2003)** et **Dinakar et al. (2008)**, qui montrent que la teneur en proline libre augmente en réponse à différents stress dont les polluants (pesticides ou métaux lourds). Une des stratégies mise en œuvre par les plantes pour contrecarrer les effets toxiques des polluants organiques ou inorganiques, est constituée par une accumulation d'acides aminés et plus particulièrement de la proline (**Sharma et Dietz, 2006**). La proline est un acide aminé très réputé pour l'indication du stress hydrique mais il a été aussi démontré qu'il intervient dans la défense de la plante subissant un stress de nature chimique (pesticides, hydrocarbures, cadmium, etc.). La proline comme le glutathion est considérée comme faisant partie d'un syndrome adaptatif général aux conditions environnementales défavorables. Elle subit des changements de concentration lorsque les plantes sont soumises à un stress. Les concentrations peuvent varier d'une plante à un autre et d'un biotope à l'autre (**Duhoux, 2004; Dominique, 2000**). De plus, cet acide aminé joue un rôle important dans de nombreuses fonctions cellulaires de la plante : osmorégulation, chélation des métaux, détoxification, régulation de l'acidité cytosolique. Outre ces fonctions, il intervient aussi dans le piégeage d'ERO, la protection des protéines contre la dénaturation, la stabilisation des membranes par interaction avec les phospholipides ou encore l'ajustement osmotique chez certaines espèces (**Verbruggen et Hermans, 2009**). La forte accumulation de la proline dans les feuilles pourrait être le résultat d'une diminution de son oxydation ou/et d'une réduction de son utilisation dans la synthèse protéique (**Buhl et al., 1983**) De même une hydrolyse des protéines riches en proline et/ou une synthèse activée de cet acide aminé aboutiraient à son accumulation dans les cellules.

Conclusion

Bien que les produits phytosanitaires ne constituent pas un danger direct sur la plante, leur emploi répété, leur présence dans les compartiments du sol, leur absorption par les racines pourrait affecter la plante. C'est ce que nous avons essayé de démontrer dans cette partie de notre travail à travers quelques indicateurs physiologiques et biochimiques de la pollution

organique. Hormis de rares exceptions enregistrées pour les teneurs en protéines et glucides, les chiffres ne révèlent pas souvent des différences très significatives. Les concentrations de tous les métabolites physiologiques et biologiques sont dans la plupart des cas, très fluctuantes et varie selon le pesticide et la dose. Ceci met en exergue que les plantes non ciblées possèdent la capacité de détoxifier les composés nocifs tels que les pesticides. Ce fort pouvoir de détoxification des plantes est à notre avis bien corrélé avec celui de la biomasse microbienne du sol. Ces deux composantes du sol agissent en synergie pour gérer la situation et maintenir la fertilité et les rendements des sols.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Cette étude est l'un des travaux pionniers menés en Algérie relatifs à la toxicité des pesticides sur la qualité du sol *in vitro*. Il a consisté à réaliser dans un premier temps, une caractérisation physico-chimique, biochimique et biologique des sols traités par des doses différentes de trois pesticides. Les caractérisations ont porté sur les éléments nutritifs majeurs, la biomasse microbienne totale, le quotient respiratoire et les enzymes indicatrices de la fertilité. Ce volet nous a permis de montrer qu'aussi bien du point de vue chimique et biologique, il demeure difficile de mettre en évidence une échelle de toxicité parmi les différents pesticides et les doses utilisées. Il est clair que toutes les doses ont une toxicité modérée et comparable avec, à chaque fois, de rares exceptions.

Les sols contaminés par le produit phytosanitaire étaient constitués d'une microflore importante composée de champignons et de bactéries avec une abondance variable en fonction de la nature, la dose du produit phytosanitaire et la période d'analyse. Il semble que les conditions de la jachère ont favorisé le développement de la biomasse microbienne. La même chose a été constatée à partir de nombreux travaux antérieurs où les analyses réalisées dans diverses situations de jachère, indiquaient que la biomasse des parcelles sous jachère est supérieure à celle des situations sous culture. Nous avons observé dans ce contexte que les résultats de la biomasse microbienne sont plus ou moins corrélés positivement avec ceux des autres paramètres biologiques. En outre les activités enzymatiques de la phosphatase acide et de la phosphatase alcaline sont intenses et concordantes avec la biomasse microbienne totale. Celle de la déshydrogénase est au contraire discordante et ne reflète pas l'intensité réelle de la vie biologique de ces microcosmes expérimentaux. Les mesures des activités de la microflore sont souvent difficiles à interpréter et ne donnent généralement pas de résultats traduisibles en termes de "biomasse".

Dans un second temps, l'étude de la toxicité de l'emploi des pesticides a été recherchée par l'estimation de l'impact du "sol traité" ou en d'autres termes de "l'effet des traitements du sol" sur la culture du blé, à l'aide de quelques biomarqueurs physiologiques et biochimiques de la plante cultivée. Nous savons par avance que les différents paramètres pédologiques ne sont que des indicateurs partiels de la fertilité et en dernier ressort, c'est toujours la plante qui a raison, même si elle contredit parfois les résultats analytiques du sol. Pour toutes ces raisons, nous avons donc essayé de vérifier si la contamination du sol pourrait atteindre le végétal à

travers les racines, et provoquer des altérations au niveau des fonctions métaboliques cellulaires. A posteriori, les teneurs enregistrées en métabolites secondaires : chlorophylles, glucides solubles totaux, protéines solubles totales et proline, semblent affirmer que les fonctions métaboliques du végétal ne sont pas directement visées par les pesticides adsorbés au niveau du sol, et ne sont que très peu affectées. Il y a souvent une interaction entre les facteurs physiques, chimiques et biologiques du sol, les facteurs physico-chimiques de la molécule du pesticide et le biotope dans lequel se développe la plante. Globalement, nous avons noté une tolérance de la part de la plante face à la plupart des doses de chacun des pesticides pulvérisés sur le sol. Les concentrations des chlorophylles sont moins fortement affectées pour toutes les doses aussi bien pour l'insecticide que le fongicide. Les teneurs en glucides et en protéines semblent plus affectées avec des différences significatives pour les doses D1 de l'insecticide et la dose D3 de l'herbicide. Les taux de proline sont par contre considérablement en baisse confirmant également la tolérance de la part de la plante à l'effet du pesticide. En effet, la proline est un acide aminé indicateur de la pollution dont la biosynthèse est déclenchée à la suite d'un stress organique ou inorganique, afin de contrecarrer les effets toxiques du produit chimique dans le cadre de la défense de la plante. Il est à signaler que notre essai a été conduit sous des conditions plus ou moins contrôlées (conditions non réelles) ne subissant pas de grandes variations de températures, d'humidité et de lumière. Or, l'implication des produits toxiques tels que les pesticides dans les processus métaboliques et l'inhibition de la croissance et des rendements nécessite un suivi *in vivo* au niveau des parcelles en plein champs où les conditions du milieu environnant sont réelles et difficiles. A priori il y a une divergence dans les opinions des auteurs à partir des résultats des travaux antérieurs à propos de ces biomarqueurs biochimiques. Les chiffres ne reflètent pas souvent l'impact des pesticides sur l'aspect de la plante : qu'il soit morphologique, physiologique ou biochimique. Les travaux entrepris sur la quantification des métabolites tels que les protéines, les glucides, la chlorophylle du végétal sous stress chimique ont reporté des valeurs souvent fluctuantes et non corrélées avec l'intensité de la substance polluante. Aussi, peut-on considérer ces paramètres comme critères fiables de criblage pour la tolérance des plantes contaminées face aux stress chimiques des produits toxiques.

En guise de conclusion, nous tenons à signaler que les techniques d'appréciation des indicateurs de la fertilité du sol sont peu étudiées. La plupart des travaux antérieurs montrent que les caractéristiques chimiques ne sont pas significativement différentes d'un sol à l'autre

quelque soit sa constitution. Par contre les sols se différencient plus aisément en fonction de leurs caractéristiques physiques, biologiques et les activités biologiques. De nombreux outils existent pour évaluer la fertilité des sols, mais il est difficile de les mettre en œuvre simultanément pour question de moyens et de pertinence parfois, et pour manque de références et de données sur les normes régionales, nationales et internationales des sols.

Les propriétés essentielles à prendre en compte dans l'avenir, en vue du diagnostic de fertilité, sont d'ordre biologique puisqu'elles reflètent la quantité de vie d'un sol. Il ne faudra cependant pas négliger d'effectuer une étude générale (examen d'ensemble du profil, analyse du sol). Il convient d'insister sur le fait que l'amélioration du diagnostic de fertilité des sols suppose l'amélioration de l'aptitude du sol à assurer de façon durable la croissance des plantes et l'obtention de récoltes. Pour cela il est judicieux de:

- mettre au point et de valider des méthodes simplifiées d'évaluation de la fertilité par des approches analytiques physiques, chimiques et biologiques.
- en plus des analyses classiques (pH, CEC, MO, C, N C/N), réaliser le fractionnement de la matière organique MO (MO libre et MO liée).
- analyser la biomasse microbienne car elle permet la mesure directe de la quantité de vie du sol
- apprécier les potentialités de minéralisation. Cette analyse peut être complétée par l'indice d'activité microbienne (IAM) puisque ce dernier est fort lié aux conditions du milieu (saison, climat, interventions sur la parcelle).
- favoriser et multiplier les dosages enzymatiques, car l'évaluation des activités des enzymes du sol est une nouvelle approche d'estimation du potentiel biologique bien corrélée aux autres propriétés du sol. C'est une méthode à la fois fiable et plus rapide que les analyses biochimiques classiques.

Toutes ces analyses biologiques sont plus pertinentes et ne sont que rarement contradictoires. Cependant elles sont coûteuses et difficiles à interpréter. Leur interprétation nécessite d'ailleurs de connaître d'autres paramètres, car elles dépendent de nombreux paramètres notamment du climat, du type de sol et des conditions du milieu environnant.

- Dans toute investigation, les résultats obtenus doivent être comparés à des normes ou "référentiels" d'analyses antérieures réalisées sur des sols différents mais ayant des caractéristiques proches sous des conditions comparables.

Enfin, il serait intéressant de savoir si les substances de pesticides s'accumulent au niveau du sol et de la plante sous formes d'éléments extractibles et/ou non extractibles en réalisant des analyses quantitatives et qualitatives des résidus liés à partir d'échantillons de sol et de la plante.

REFERENCES

Références bibliographiques

AMRHEIN N, B DEUS, P GEHRKE, HC STEINRUCKEN. (1980). Le site de l'inhibition de la voie du shikimate par glyphosate. **II.** Interférence du glyphosate avec la formation de chorisate in vivo et in vitro. *Plante Physiol* 66: pp 830-834.

ANDREN O, BALANDREAU J. (1998). Biodiversité et fonctionnement du sol : où en sommes nous aujourd'hui?. 16ème congrès mondial de science du sol, symposium11, Montpellier.

ANNE P. (1945) - Sur le dosage rapide du carbone organique dans les sold *Ann: Agroni* Avril, Mai, Juin, 1945, 5e année, no 2, pp161-172;

ARSENE. F. (2010). Les représentations sociales et pratiques liées à l'utilisation des produits phytosanitaires en RCA: cas des cotonculteurs de Bossangoa. Univ de Bangui.

AUBERTOT J.N., BARBIER J.M., CARPENTIER A., GRIL J.J., GUICHARD L., LUCAS P., SAVARY S., SAVINI I., VOLTZ M. (éditeurs). (2005). Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA et CEMAGREF (France), 64 p.

B. NICOLARDOT, R. CHAUSSOD et G. CATROUX. (2010). Association Française pour l'Etude du Sol - www.afes.fr

BABA OUATTARA ; PAUL W. SAVADOGO ; OUOLA TRAORE ; BAZOUMANA KOULIBALY 1 ; MICHEL P. SEDOGO 2 & ALFRED S. TRAORE 3.(2010). *meroon Journal of Experimental Biology* . Vol. 06 N° 01, 11-20. ©2010 Cameroon Forum for Biological Sciences Original article Agronomy Effet des pesticides sur l'activité microbienne d'un sol ferrugineux tropical du Burkina Faso.

BACHELIER G. (1968). Contribution à l'étude de la minéralisation du carbone des sols. *Mémoire ORSTOM*, no 30, Paris, 145 p.

BACHELIER G. (1986). Problèmes relatifs à l'atmosphère du sol et utilisation possible d'un détecteur de gaz pour la mesure de sa teneur en gaz carbonique. *Cah. ORSTOM*, sér. Pédol., VI, 1, pp 95-iO4.

BAER, U. (1996). Comportement des pesticides dans les sols : Evaluation et simulation de la dissipation au champ. Thèse de doctorat, Institut National Agronomique Paris Grignon, 155 p. barley leaves, *Plant Physiol.* 72 (1983) pp 664–667.

BARRIUSO E., EDZANG-ONDO M., BERGHEAUD V., BENOIT P., COHEN N., GABRIELLE B., LABAT C., VACHIER P., SCHIAVON M., PERRIN-GANIER C. (2005). Approche cinétique de la stabilisation de pesticides dans les sols sous forme de résidus non facilement extractibles : conséquences sur l'accumulation et la libération différée des pesticides stabilisés, rapport final, programme Pesticides (APR 1999), 98 p.

BARRIUSO E., HOUOT S. (1996). Rapid mineralization of the s-atrazine ring of atrazine in soils in relation to soil management. *Soil Biol. Biochem.*, 28, pp 1341-1348.

BARRIUSO, E., CALVET, R., SCHIAVON, M. ET SOULAS, G.(1996). Les pesticides et les polluants organiques des sols : transformation et dissipation. Forum «Le sol, un patrimoine menacé ?» Paris, 24 Octobre.

BEN KHALED LAAZIZA (2003). Asuncion Gomez, Mario Honrubia, Abdallah Oihabi. 2003. Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le Rhizobium. *Agronomie, EDP Sciences*, 2003, 23 (7), pp.553-560.

BENOIT , P. (1984).Technology and crisis : The great depression of the Middle Age and the technology of the Renaissance (fourteenth to sixteenth centuries). *In : History and Technology*, 1984, vol.1, pp. 319-334.

BERTIN G. (1994).L'immobilisation de l'atrazine par la matière organique des sols, une approche modélisée en conditions naturelles et au laboratoire.110 p. Thèse : Doct : sciences agronomiques : Lorraine : I.N.P. : 1994.

BERTIN O. & SCHIAVON M.(1989). Les résidus non extractibles de produits phytosanitaires dans les sols. *Agronomie*, 9, 117-124.

BORDJIBA O. (2003). Effets des pesticides sur la microflore fongique du sol. Biodégradation des herbicides par les souches isolées. Thèse de doctorat es- sciences. Univ. Joseph fourier-Grenoble, France, 671p.

BORNEMAN J, TRIPLETT EW. (1997). Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonian : evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied Environmental Microbiology* 63:2647-2653.

BOSERET, G., T. JAUNIAUX, AND F. COIGNOUL. (2001). Evidence of distemper in harbor seals (*Phoca vitulina*) stranded from 1990 to 2000 along the coastlines of Belgium and Northern France. European Cetacean Society Annual meeting Roma.

BOUCHON C. ET LEMOINE S. (2003). Niveau de contamination par les pesticides des chaînes trophiques des milieux marins côtiers de la Guadeloupe et recherche de biomarqueurs de génotoxicité. Rapport final, DRE/Guadeloupe, 71 p.

BOURGEAIS-CHAILLOU P., PEREZ-ALFOCEA F., GUERRIER G. (1992). Comparative effects of N-sources on growth and physiological responses of soybean exposed to NaCl-stress, *J. Exp. Bot.* 254 (1992) 1125–1233.

BOURGEOIS, M., COQUILLART, E., COURNARIE, M., FASSINO, C. (2016). Les sols support de la productivité agricole et forestière. AFD- Agence Française de Développement.

BOUTAMINE S. ET LAHMAR R. (2016). Etude de l'effet de deux pesticides sur les indicateurs de l'activité du sol. Mémoire de mastère, Univ. Annaba, Algérie. 60p.

BRADFORD M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254p.

BROWN C.D., HODGKINSON R.A., ROSE D.A., SYERS J.K., WILCOCKSON S.J. (1995). movement of pesticides to surface waters from a heavy clay soil. *Pesticide Science* 43: 131-140.

BUHL M.B., STEWART C.R. (1983). Effects of NaCl on proline synthesis and utilisation in excised

C.T., Chiou, R.I., Malcolm, T.I., Brinton, D.E., Kile. (1986). "Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids". *Environ. Sci. Technol.*, 20, 502 - 508

CAHAGNIER, B. ET RICHARD-MOLARD, D. (1998). Analyse mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés, Ed. Tec & Doc, p 140-158

CALDERBANK A. (1989). The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 108, 71-103.

CALVET R., ET CHARNEY M-P. (2002). Le devenir dans le sol des substances phytopharmaceutiques. In pesticide et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement Ed ACTA, PARIS pp.805-833.

CALVET R., TERCE M. & ARVIEU J.C. (1980). Adsorption des pesticides par les sols et leurs constituants. *Ann. Agron.*, 31, 33-385.

CALVET, R., BARIUSSO,E., BENOIT,P., BEDOS,C., CHARNAY,M.P. ET COQUET,Y(2005). Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales. Ed. France Agricole. INRA. 46p.637p.

CANARD S (2003).Devenir de l'atrazine dans l'environnement : étude bibliographique. Université de Toulouse.Caractérisation physique, chimique et microbiologique de trois sols acides tropicaux du Rwanda sous jachères naturelles et contraintes à leur productivité. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement/Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. Vol 13, numéro 4, 2009

Chaudri A M., McGrath S. P. et Giller K. E. (1993). Enumeration of indigenous *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* in soils previously treated with metalcontaminated sewage sludge. *Soil Biol. Biochem.* 25(3): 301-3093.

CHAUSSOD R, NICOLARDOT B. (1982).Measurement of microbial biomass inCultivated soils, Kinetic approach and simplified carbon estimation Mineralizable, *Rev. Ecol. Biol. Soil*, 1982, 501-512.

CHAUSSOD R., HOUOT S. (1993). La biomasse microbienne des sols : perspectives d'utilisation de cette mesure pour l'estimation de la fourniture d'azote par les sols. In: *Matières organiques et agriculture ; J.Decroux et J.C. Ignazi, Eds*, pp. 17-26.

Chen D., Toone W.M., Mata J., Lyne R., Burns G., Kivinen K., Brazma A., Jones N., Bahler J. (2003). Global transcriptional responses of fission yeast to environmental stress. *Molecular Biology of the Cell* 14: 214-229.

CHEN, W., HERTL, P., CHEN, S. ET TIERNEY, D.(2002). A pesticide surface water mobility index and its relationship with concentrations in agricultural drainage watersheds. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21, 298-308.

CHIOU C.T., MALCOLM R.I., BRINTON T.I. & KILE D.E. (1986). Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvics acids.*Environ.sci.Technol*, 20,502-508p.

CHRISTINE C (2008). Les pesticides encore appelées produits phytosanitaires.

CHITRIT.J.J(2008).Définition officielle suisse, ordonnance sur les polluants du sol.Fertilité des sols agricoles, un problème d'évaluation et de pratique. <http://www.farre.org/fileadmin/medias/pdf/chitrit.pdf>.

Impact de trois pesticides (hyméxazole, prométryne, deltaméthrine) sur la fertilité des terres agricoles

COOPER K. (1991). Effects of pesticides on wildlife. In W.J. HAYES & R.R. LAWS : Handbook of Pesticide Toxicology. Academic Press, San Diego, CA, USA, 463-496.

CORDOVILLA M.P., LIGERO F., LLUCH C. (1994).The effect of salinity on Nfixation and assimilation in *Vicia faba*, J. Exp. Bot. 45 (1994) 1483–1488.

CORTEZ J, LOSSAINT P, BILLES G. (1972).The biological activity of soils in Mediterranean ecosystems. Enzymatic activity,Rev.Ecol. Biol. Ground. Rev. Ecol. Biol. Soil, 1972,1-19.

CPP (2002). Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Comité de la Prévention et de la Protection .<http://www.ecologie.gouv.fr/ CPP-Rapport-2002> 02Risques.

CRUZ,J.F. AND DIOP,A. (1989). Agricultural Engineering in Development : Warehouse Tehcnique, FAO Agric.Services Buletin 74, Viii + 115pp., FAO, Rome, 1989.

CULLINEY T.W., PIMENTEL D., PIMENTEL M.H. (1992). Pesticides and natural toxicants in foods. Agriculture, Ecosystems and Environment, 41, 297-320.

D. SCHRACK^{1,2}, X. COQUIL¹ , A. ORTAR² , M. BENOIT¹. (2009). Rémanence des pesticides dans les eaux issues de parcelles agricoles récemment converties à l’Agriculture Biologique.. Innovations Agronomiques 4, 259-268

DABENE, E.MARIE, F. (1993). Caractéristiques utiles pour l'évaluation du comportement de quelques matières actives dans l'environnement. Recueil de fiches synthétiques et guide de lecture. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Paris, France.

DAGNELIE P (2009). Statistique théorique et appliquée .Tom2 : Inférence statistique à une et à deux dimensions. Édition DE BOECK ET LARCIER, Bruxelles, 659p.

DAVET, P. 1996. Vie microbienne des sols et production végétale, INRA, 385p.

DAVIS D.L., BRADLOW H.L. (1995). Can environmental estrogens cause breast cancer ? Scientific American, 273, 166-172.

DEC J., BOLLOG J.M. (1997). Determination of covalentand noncovalent binding interactions between xenobiotic chemicals and soil. Soil Sci. 1962, 858-874p.

Dec.A (1992). Interactions of pestides and mycoflora of peach twings.Vol 96(12):1103 – 1113.

DI GERONIMO, S. I (1987) . Les effets de la pollution sur les peuplements benthiques de substrats rocheux du port d'Angusta. In papers presented at the FAO/UNEP meeting on the effects of pollution on marine ecosystems, Spain, October, 1985, p. 64-75.

DICK,R.P (1997). Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In : Biological indicators of soil health. (eds C. Pankurst et al.), pp. 121-156. CAB International, New York.

DINAKAR N., NAGAJYOTHI P.C., SURESH S., UDAYKIRAN Y., DAMODHARAM T. (2008). Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlings. *Journal of Environmental Sciences* 20 : 199-206.

DOMMERGUES Y (1960). La notion de coefficient de minéralisation du carbone dans les sols. *Agron. Trop.*, 15: 54-60.

DOMMINIQUE.Z (2000). Les résidus de pesticides dans les plantes. Ed INRA.

DOMSCH, K.H., GAMS, W. ET ANDERSON, T.H. (1980). Compendium of soil fungi. Volume 1. Academic Press.

DORE T, LE BAIL M, MARTIN P, NEY B, ROGER-ESTRADE J. (2006). 'L'agronomie aujourd'hui.(Quae : Paris)

DUCHAUFOR P (1977). Pédologie, pédogenèse et classification. Masson, Paris, 477 p.

DUCHAUFOR P (1997). Abrégé de pédologie : sol, végétation, environnement. Masson, Paris, 5ème édition.

DUCHAUFOR PH (1995). Pédologie, Sol, Végétation, Environnement. Abrégés 4ème édition, Masson éd. 324p.

DUHOUX.J (2004). Biologie végétale. Associations et interactions chez les plantes. Ed. DUNOD. pp 166.

EIJSACKERS H (1982).Soil fauna and soil microflora as possible indicators of soil pollution. *Environmental Monitoring Assessment* 3:307-316.

EL ARFAOUI, B.A (2010).Etude des processus d'adsorption et de désorption de produits phytosanitaires dans des sols calcaires. Université de Reims Champagne-Ardenne. 217p.

EL BAKOURI, H (2002). Etude de l'adsorption de l'endosulfan sur certaines matrices végétales. Rapport de stage. Réf : UFR/02-01. Thèse de doctorat Université de Tanger. Maroc

ELLIS, M. B. (1971). Demataceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 608 pp.

ELLIS, M. B. (1976). More Demataceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 505 pp.

ELMHOLT, S., FRISVAD, J.C., THRANE, U. (1991). The influence of fungicides on soil mycoflora with special attention to tests of fungicide effects on soilborne pathogens. In **ALTMAN, J.**

ENRIQUE ALARCON-GUTIÉRREZ. Influence de facteurs abiotiques sur la régulation des paramètres microbiens impliqués dans la dégradation de la matière organique d'une litière forestière méditerranéenne. THESE Pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PAUL CEZANNE Faculté des Sciences et Techniques Discipline : Biologie des Populations et Ecologie UNIVERSITE PAUL CEZANNE (AIX-MARSEILLE III).

FAUVEL B, ROUQUEROL T. (1970). the phosphatase test considered as an index of soil activity and evolution, Rev. Ecol. Soil. 7, 1970, 393-406.

FAUVEL B., ROCQUEROL T. (1970). Rev. Ecol. Biol. Sol., 7, 393-406.

FLOWERS T.J., TROKE P.F., YEO A.R. 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes, Annu. Rev. Plant Physiol. 28 (1977) 89-121.

FOURNIER J.-C. (1989) aspects du comportement de la microflore dégradant les produits phytosanitaires dans le sol. Thèse Univ Perpignan, 501 p.

FREAR, D.S. (1976). Ioxynil and bromoxynil. In: Kearney P.J., Kaufmann D.D. (eds), Herbicides (Vol 2.) Marcel Dekker, New York, pp. 582-587.

GENOT VALERY., COLINET GILLES. BRAHY VINCENT & BOCK LAURENT.(2007). La fertilité des sols agricoles et forestiers en région wallonne.

GENOT, V., COLINET, G., BOCK, L. (2007). La fertilité et la biodiversité des sols. Rapport analytique sur l'état de l'environnement Wallon 2006-2007. pp 461-467.

GERBER, H.R., ANDERSON, J.P.E., BÜGEL-MOGENSEN, B., CASTLE, D., DOMSCH, K.H., MALKOMES, H.-P., ARNOLD, D.J., VAN, DE WERF, H., VERBEKEN, R. ET VONK, J.W. (1989). Revision of recommended laboratory tests for assessing side-effects of pesticides on soil microflora. 4th Int. Workshop, Basle, Bundesforschungsanstalt, Braunschweig.

GIRARD ET ROUGIEUX.(1967). Techniques de microbiologie agricole, Dunod 1967, 216p.

GLOTFELTY D.E., SEIBER J.N., LILJEDAHN, L.A. (1987). Pesticides in fog. Nature, 325, 602-605.

GRABER NEUFELD D.S., SAVOEUEN H., PHOEURK. C., GLICK. A.& HERNANDEZ. C. (2010). Prevalence and Persistence of Organophosphate and Carbamate Pesticides in Cambodian Market Vegetables. Asian Journal of Water, Environment and Pollution, 7(4): 89-98p.

GUET G,(2003). Mémento d'agriculture biologique : guide pratique à usage professionnel. Edit. Pairs : France agricole 2° édit. 60p.

GUSTAFSON D.I, (1989). Groundwater Ubiquity Score: a simple method for assessing pesticide.

HAMMOU.M., 2001. Reponse de la carie aux différents doses d'application de trois produits fongique (quinoléates 60, quinoléate pro, quinoléate plus) et caractéiation de ses conséquences sur la plante hote : varité de blé tendre. memoire de magistère, université de constantine. 130p

HAYES W.J,(1991). Dosage and other factors influencing toxicity. In W.J. Hayes & E.R.Laws : Handbook of Pesticide Toxicology. Academic Press, San Diego, CA, USA, 39-105.

HAYO M. G. VAN DER WERF. (1997). Evaluer l'impact des pesticides sur l'environnement. Le Courrier de l'environnement n°31. 1997

HENIN S., MONNIER G., COMBEAU A. (1958). Méthode pour l'étude de la stabilité structurale des sols. Annales agronomiques, 9: 73-92.

HEQUET F, (1995). Approche méthodologique des conditions d'hydrolyse de l'Atrazine.

HESS F.D, (2000). Light-dependent herbicides: an overview. Weed Science 48:160-170.

HILEMAN B,(1994). Environmental estrogens linked to reproductive abnormalities, cancer. Chem. Eng. News, 72(5), 19-23.

HIMEL C.M., LOATS H., BAILEY G.W. (1990). Pesticide sources to the soil and principles of sprays physics in Ed CHENG H.H. Pesticides in the soil environment : Processes, impacts and modeling SSSA Book series : 2 :7-50.

HISCOX J.D. & ISRAELSIAM G. F. (1978).A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J. Bot.* vol. 57.

HOGETSU T, SHIBAOKA H, SHIMOKOR M. (1974) Implication de la synthèse de la cellulose dans les actions de la gibberelline et de la kinétine sur l'expansion cellulaire - 2,6-dichlorobenzonitrile comme nouvel inhibiteur de la synthèse de la cellulose. *Plant Physiol* 15 389-393.

HOLDEN M, (1975). Chlorophylls I, chemistry and biochemistry of plant pigments. 2 ème edition. T. W. Goodwin. Academic press Edition. New York. pp. 1-37p.
Institut français de l'éducation. (<http://eduterre.ens-lyon.fr/nappe/html/Ressources/pesticides>).

JEROEN B., KOOMEN I ., JOEP.V.L DE JEUDE, ET OUDEJANS,J, (2004). Les pesticides : Composition, utilisation et risques. In serie Agrodok 29,1ere éditions Digigrafi &Wageningen, Pays Bas, 124p.

JHA ET DUBEY, (2004). Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants. edit S Dutta Gupta. 364p

JURY W.A., SPENCER W.F., FARMER W.J., 1984. Behavior assessment model for trace organics in soil: III. Application of screening model. *J. Environ. Qual.*, 13, 573-579

K.M. MOUSSAOUI, R. BOUSSAHEL, Y. TCHOULAK, O. HAOUCHINE, M. BENMAMI, N. DALACHI. 2001. Impact des pesticides sur l'environnement. *Journée mondiale de l'environnement. Alger 2001.*

KEBE, I.B., MPIKA, J., N'GUESSAN, K.F., HEBBAR, P.K., SAMUELS, G.S. ET AKE, S.(2009). Isolement et identification de microorganismes indigènes de cacaoyères en Côte d'Ivoire et mise en évidence de leurs effets antagonistes vis-à-vis de *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses. *Sciences & Nature* Vol.6 N°1: 71 - 82.

KEIPER F.J., CHEN D.M., DE FILIPPIS F.L. (1998). Respiratory, photosynthetic and ultrastructural changes accompanying salt adaptation in culture of *Eucalyptus microcorys*, *J. Plant Physiol.* 152 (1998) 564–573.

KELCE W.R., STONE C.R., LAWS S.C., GRAY L.E., KEMPPAINEN J.A., WILSON E.M. (1995). Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*, 375, 581-585.

KERMIA K, ET MEDKOUR SOUAD. (2015). Etude analytique de quelques polluants organiques par la chromatographie liquide. Mémoire de mastère, Univ. Bouira, Algérie. 66 p.

KETIF.A. (2008). Influence de trois pesticides (Hexaconazole, Bromuconazole et Fluzifop-p-p) sur les paramètres physiobiochimiques du blé *Triticum durum* sur la capacité métabolique de quelques souches fongiques vis-à-vis de ces trois molécules. 66 – 65

KHAN S.U.(1982). Bound pesticide residues in soils and plants. *Residues Rev.*, 84, 1-25.

KJELDAHL J,(1883). Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Z. Anal. Chem.* 22 :366-382

KLOSKOWSKI H ,(1992). Plant availability of bound amilazine residues in degraded loess soil. *J. Environ. Sci. Health*, 6, 487-505p.

LA DIRECTIVE EUROPEENNE 2004/28/CE du 31 mars 2004.

LA DIRECTIVE EUROPEENNE 91/414/CE du 15 juillet 1991 abrogée par le règlement (CE) n° 1107/2009.

LA DIRECTIVE EUROPEENNE 98/8/CE du 16 février 1998 abrogée par le règlement (CE) n° 528/2012.

LAAZIZA BEN KHALED, ASUN_CION G~OMEZ, MARIO HONRUBIA, ABDALLAH OIHABI. (2003). Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le *Rhizobium*. *Agronomie, EDP Sciences*, 2003, 23 (7), pp.553-560.

LACOMTE. P, (1998). *Traitement des sols et des eaux souterraines*, 204p.

LADD J N, PAUL E A.(1973). Changes in enzymic activity and distribution of acid soluble, amino acid nitrogen in soil during nitrogen immobilization. *Soil Biology & Biochemistry* 5, 825-840 pp

LADD J.-N., PAUL E.-A. (1973). *Soil Biol. Biochem.*, 5, 825-840.

LAFFONT, R. (1975). Le spectre de la pollution: Le monde des océans. *Encyclopédie Cousteau*.

LAVELLE P, SPAIN AV. (2001). *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

LAWS, E.R. : Handbook of Pesticide Toxicology. Academic Press, San Diego, CA, USA, 245-274.

LE CLECH B.H, (1998). Environnement et agriculture. 2^e éd. Bordeaux, France : Edition Synthèse agricole. leachability. Environ. Toxicol. Chem.,8, 339-357.

LEBLANC G.A, (1995). Are environmental sentinels signalling ? Environmental Health Perspectives, 103, 888-890.

LENNARTZ B., LOUCHART X., VOLTZ M., ANDRIEUX P. (1997). diuron and simazine losses to runoff water in mediterranean vineyards. Journal of environmental quality 26: 1493-1502.

LENNARTZ, B., KAMRA, S., AND MEYER-WINDEL, S.(1997). Field scale variability of solute transport parameters and related soils properties. Hydrology and earth system Sciences. 4: 801-811.

LEONARD,R. A, (1990). Movement of pesticides into surface waters. Pp 305-351. In pesticides in soil environment ; processes, impact, and modelling, vol 2. Cheng, H h., Ed., Soil science Society of America, Madison,USA.

LEVINE R,(1991). Recognized and possible effects of pesticides in humans. In W.J. Hayes & E.R. Laws : Handbook of Pesticide Toxicology. Academic Press, San Diego, CA, USA, 275-360.

LICHTENSTEIN E.P., KATAN J. & ANDEREGG B.N. (1977).- Binding of "persistent" and "nonpersistent" ¹⁴C-labeled insecticides in an agricultural soil. 1. Agric. Food Chem., 25, 43-47.

LOUCHART X. (1999). Transfert de pesticides dans les eaux de surface aux échelles de la parcelle et d'un bassin versant viticole. INRA/ENSAM Laboratoire de science du sol. Montpellier, Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier: 263.

MADHUN Y.A., FREED V.H, (1990). Impact of pesticides on the environment. In Pesticides in the soil environment. Soil Science Society of America Book Series, no. 2, Madison, WI, USA, 429-466.

MADRIGAL-MONARREZ, (2004). Rétention des pesticides dans les sols des dispositifs tampon, enherbés et boisés, rôle des matières organiques. Thèse de Doctorat de l'institut agronomique Paris-Grignon. 2004. pp 217.

MASSENOT .D, (2001). La méthode BRDA-Herody. Un outil de diagnostic de la fertilité. In forum national des fruits et légumes biologiques GRAB-ITAB. pp 137-140.

MCKINNEY, G,(1941). Absorption of light by chlorophyll solutions. J. Biol. Chem. 140, 315–322. Minolta Camera Co. Ltd., 1989. Chlorophyll meter SPAD-502. Instruction Manual. Radiometric Instruments Divisions, Osaka, Minolta, . 22p.

MIETINNEN, I., MARTIKAINEN, P., VARTIAINEN, T. ET LÖTJÖNEN, S. (1993). « Biochemical and chemical degradation of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in surface and drinking water,» *Chemosphere* , vol. 27, pp. 1707-1718.

MINITAB INC ,(2014). Statistical software (release 16). Computer software. State college, PA : Minitab, INC (www.minitab.com).

MONNEVEUX P. & NEMMAR M. (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*T. aestivum* L.) et chez le blé dur (*T. durum* Desf). Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, 6, 583-590.

MONNIER G., STENGEI P., GUERIF J. (1981). Séminaire AGRIMED, Bari, 28-9-1981.

MOON J., PARRY G., ESTELLE M.(2004). The ubiquitin-proteasome pathway and plant development. *The Plant Cell* 16 : 3181-3195.

MOREL R,(1989a). Analyse des facteurs de la croissance de la plante pour la définition du concept de fertilité des sols. In : *Fertilità del suolo e nutrizione delle piante*. SISS et SICA , Eds., pp 57-73.

MOREL R,(1989b). La fertilité des sols. In *les sols cultivés*. Lavoisier. Coll. Tec et Doc, Paris, pp 341-363.

MOUFFAK AMINA-AFEF. (2010). Etude de la variabilité de la proline, des sucres solubles totaux, des protéines sotales solubles sous tress salin chez *Vigna radiata*. Memoire de Magister. Université d'Oran Es Sania 2010

MOUSSAOUI, (2001). Utilisation, Evaluation et Impacts des pesticides en Algérie - Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement école Nationale Polytechnique

MOUSSAVOU MOUDOUMA. (2010). Etude des mécanismes d'accumulation du cadmium chez *Arabidopsis thaliana* (écotype Wassilewskija) et chez un mélèze hybride (*Larix europis*) par des approches moléculaire et développementale .Thèse N° (14-2010)

Pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES En Biologie - Science - Santé Spécialité : Biologie de l'environnement. Université de Limoges.

NANNIPIERI P., CECCANTI B., CERVELLI S., MATARESE E. (1980). -Sail Sei. Soc. Am. J ., 44, 1011-1016.

NANNIPIERI P., PEDRAZZINI F., ARCARA P.-G ., PIOVANELLI C. (1979) . Sail Sei., 127, 26-34

NICOLARDOT B., CHAUSSOD R., CATROUX G. (1983). Sail Biol. Biochem.

NICOLARDOT B., GUIRAUD G., CHAUSSOD R. (1983). C.R. Acad. Sci., Paris
Nicolardot B., Mary B., Houot S., et Recous S – 1987 - La dynamique de l'azote dans les sols cultivés – In Maîtrise de l'azote dans les agrosystèmes, Reims, 19-20 novembre 1996, Ed. INRA, Paris, Les colloques N°83 : 87-103

NICOLARDOT B., MARY B., HOUOT S., ET RECOUS S. (1987). La dynamique de l'azote dans les sols cultivés – In Maîtrise de l'azote dans les agrosystèmes, Reims, 19-20 novembre 1996, Ed. INRA, Paris, Les colloques N°83 : 87-103

Noctor G., Arisi A.C.M., Jouanin L., Kunert K.J., Rennenberg H., Foyer C.H. (1998). Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *Journal of Experimental Botany* 49 : 623-647.

OLMOS E., HELLIN E. 1996. Cellular adaptation from a salt-tolerant cell line of *Pisum sativum*, *J. Plant Physiol.* 148 (1996) 727–734.

PAPA, E., CASTIGLIONI, S., GRAMATICA, P., NICOLAYENKO, V., KAYUMOV, O. ET CALAMARI, D.(2004).Screening the leaching tendency of pesticides applied in the Amu Daria Basin (Uzbekistan). *Wat. Res.*, **38**, 3485-3494.

PAPENDICK RI, CAMPBELL GS. (1981). Theory and measurement of water potential. In : Water potential relations in soil microbiology. (ed Soil Science Society of America), pp. 1-22. SSSA Special Publication Number 9, Madison, Wisconsin, USA.

PATERSON S., MACKAY D., TAM D., SHIU W.Y. (1990). Uptake of organic chemicals by plants : a review of processes, correlations and model. *Chemosphere*, 21, 297-331.

PAUL E.A. (2000). Soil Biology and Biochemistry. In : Handbook of Soil Science (ed. Summer ME), pp. C1-C9. CRC Press, Boca Raton.

PHOCHON. J ET TARDIEUX.P. (1962). Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Edition de la tourelle, 112

PITCHEL JR, HAYES JM . (1990). Influence of fly ash on soil microbial activity and populations. *Journal of environmental quality* 19:593-597.

R. COURTEAU, (2011). Rapport sur la pollution de la méditerranée: état et perspectives à l'horizon 2030.

RAMADE F, (2005). Dictionnaire encyclopédique des polluants : les polluants de l'environnement à l'homme. Edition Science internationale, 690p.

RANJARD L, POLY F, COMBRISSEON J, RICHAUME A AND NAZARETS. (1999). A single procedure to recover DNA from the surface or inside aggregates and in various size fraction of soil suitable for PCR based assays of bacterial. *European Journal of Soil Biology* 34:89-97.

REGNAULT –ROGER, (2005). Enjeux phytosanitaire pour l'agriculture et l'environnement, Lavoisier, Paris

REGNAULT-ROGER C., FABRES G. ET PHILOGENE B.J. (2005). Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Edition Tec et Doc, Paris, 977 p.

REGNAULT-ROGER C., PHILOGENE B.J.R ET VINCENT CH. (2005). Biopesticides d'origine végétale. Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p 465.

ROBERT M, (1996) Le sol: Interface dans l'environnement, ressources pour le développement. Masson, Paris, Milan, Barcelone.

ROUARD, N., DICTOR, M.C., CHAUSSOD, R. ET SOULAS, G. (1996). Side-effect of herbicides on the size and activity of the soil microflora : DNOC as attest case. *Eur. J. Soil Sci*, sous presse.

SALDUCCI Xavier. (2007). Qualité des matières organiques des sols : une nouvelle génération d'analyses de routine. 8^{èmes} journées de la fertilisation raisonnée et de l'analyse de terre GEMAS-COMIFER « Fertilisation raisonnée et analyse de terre : quoi de neuf en 2007 » Blois 20-21 novembre 2007

SCHIAVON M., JACQUIN F., GOUSSAULT C. (1977). Blocage des molécules s-triaziniques par la matière organique. *Soil Organic Matter Studies*, I.A.E.A., II, 327-332.

SCHLOSS, J. V. & VANDYK, D. E. (1988). Acetolactate synthase isozyme II from *Salmonella typhimurium*. *Methods Enzymol* 166, 445–454.

SCHLOSS, J. V., CISKANIK, L. M. & VANDYK, D. E. (1988). Origin of the herbicide binding site of acetolactate synthase. *Nature* 331, 360–362.

SCHRECK, T., BERNARD, J., VON LANDESBERGER, T. & KOHLHAMMER, J. (2009). Visual cluster analysis of trajectory data with interactive kohonen maps, *Information Visualization* 8(1): 14–29.

SCHWARZEROVA K., ZELENKOVA S., NICK P., OPATRYNY Z. (2002). Aluminum-induced rapid changes in the microtubular cytoskeleton of tobacco cell lines *Plant Cell Physiology* 43 : 207-216.université de Lomé TOGO

SEVERIN F, (2002). Risque écotoxicologiques des pesticides – dynamique des produits dans les systèmes. In *pesticide et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement* Ed ACTA, PARIS pp.731-754.

SEVERN D.J., BALLARD G. (1990). Risk/benefit and regulations. In *Pesticides in the soil environment*. Soil Science Society of America Book Series, no. 2, Madison, WI, USA, 467-491.

SHIELDS R. & BURNETT W. (1960). Determination of protein bound carbohydrate in serum by a just modified anthrone method. *Anal. Chem.*, 32 : 885-886.

SOULAS G, (1996-c). Pesticides : New Trend in Side-effect Testing. In: *Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality*, 2nd INT. Symp. On Environnement Aspect Of Pesticide Microbiology, Setac-Europe, 12-21.

SOURCE :UIPP, SYNTHESE OPECST. (2016). Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, (2016) union des industries de la protection des plantes"

SPEA R, (1991). Recognised and possible exposure to pesticides. In W.J. Hayes & E.R.

SPENCER, W.F. ET CLIATH, M.M. (1990). Movement of pesticides from soil to the atmosphere. In D.A. Kurtz : Long range transport of pesticides. Lewis publishers, Chelsea, Michigan, USA, 1-16.

Synthèse du rapport d'expertise réalisé par l'**INRA** et le Cemagref à la demande du Ministère de l'agriculture et de la pêche (MAP) et du Ministère de l'écologie et du développement durable (MEDD) Décembre 2005. Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. INRA-cemagref, 2005. ISSN 2-7380-1221-3

TAYLOR A.W. et SPENCER W.F. 1990. volatilization and vapor transport processes. pesticides in the soil environment :processe, impacts and modeling. CHENG H.H.: 213-269.

TAYLOR, A.W. 1995. The volatilization of pesticide residues. In : Environmental behaviour of agrochemicals. Vol. 9. Roberts T.R., Kearney P.C., (Eds.), Wiley J & Sons Ltd, Chichester, UK, p. 418.

TESSIER D, BRUAND A, LEBISSONNAIS Y, DAMBRINE E. (1996). Qualité chimique des sols : Variabilité spatiale et évolution. Etude et Gestion des Sols 3:229-244.

TISDALL J.M., OADES J.M., 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. J. Soil. Sci, 33: 141-163.

TOPP E., SCHEUNERT I, ATTAR A., KORTE F.(1986). Factors affecting the uptake of ¹⁴C- labelled organic chemicals by plants from soil. Ecotox. Environ. Saf., 11, 219-229.

TOPP C.F.E. & MCGECHAN M.B. 2003. Modelling productivity and nitrate leaching in a simulated dairy farm. *Agronomy*, **23**, 235-247. Toulouse 2003. pp 69. Open Archives Initiative (OAI)

TRAMBLAY-BOEUF V. (1995). Influences des contraintes mécaniques sur l'exudation racinaire du maïs. Thèse doctorat 3ème cycle, INPL, Nancy, 138 pages.

UNIFA :<http://fertilisation-edu.fr/le-sol/les-etats-de-la-fertilite/la-fertilite-biologique.html>

USDA,(1998). Soil quality resource concerns: Soil biodiversity. USDA Natural Resources Conservation Service, January 1998. www.nssc.nrcs.usda.gov.

VAN WESENBEECK I.J., PEACOCK A.L., HAVENS P.L. (2001). Measurement and modeling of diclosulam runoff under the influence of simulated severe rainfall. Journal of environmental quality 30: pp 553-560.

VANPEENE-BRUHIER, S., PIEDALLU, C., DELORY, I. (2002). Réaménagement forestier des carrières de granulats. pp 319.

VERBRUGGEN N., HERMANS C., SCHAT H. (2009). Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist* 181 : pp 759-776.

VISSER S, PARKINSON D. (1992). Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms. *American Journal of Alternative Agriculture* 7: pp 33-37.

WEIGAND S, AUERWLD K, BECK T. (1995). Microbial biomass in agricultural topsoils after 6 years of bare fallow. *Biology Fertility of Soils* 19: pp129-134.

WHO-UNEP,(1989). Public health impact of pesticides used in agriculture. World Health Organization-United Nations Environment Programme. Genève, Suisse.X., 2004. *Journal officiel de l'Union européenne*. 163p.

<http://veganbio.typepad.com/>

<http://www.ineris.fr/>

<http://www.ladepeche.fr/>

ANNEXES

Annexe B

Matériel et méthode des paramètres physico-chimiques du sol

B.1. Carbone organique :

1. Appareillages et matériels utilisés :

Verrerie courante de laboratoire :

- Balance analytique, permettant de peser avec une précision de 0.1 mg ;
- Ballons à col rodé, d'une capacité de 250 ml ou 100 ml, surmonté d'un réfrigérant ; Tubes de verre adaptés au bloc chauffant
- Manteaux chauffant : permettant de porter à ébullition le milieu d'oxydation ; Blocs chauffants à alvéoles permettant de maintenir une température uniforme de (135 ± 2) °C
- Tamis à mailles de 250 μm ;

Filtres en fibre de verre ;

- Fiole jaugée à col rodé de 100 ml munie de bouchons ;
 - Spectrocolorimètre, équipé d'une cuve de 10 mm et réglé à une longueur d'onde de 585 nm ;
- Bain d'eau ;
- Centrifugeuse.

2. Réactifs utilisés :

-Eau : type eau Milli-Q, eau de qualité 2 conformément à l'ISO 3696 ;

-Acide sulfurique, H_2SO_4 concentré ($\rho = 1.84 \text{ g/cm}^3$) ;

-Solution de bichromate de potassium, $c(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) = 0.27 \text{ mol/l}$: Dissoudre 80 g de bichromate de potassium, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, dans environ 800 ml d'eau dans une fiole jaugée de 1000 ml, et compléter avec de l'eau (7.1) jusqu'au trait.

-Glucose, anhydre, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.

3. Préparation de l'échantillon : les échantillons sont séchés à l'air ou dans une étuve ventilée à une température inférieure à 40 °C. Ils sont alors émottés et tamisés au travers d'un tamis de 2 mm d'ouverture de mailles. Une partie de l'échantillon est broyé pour passer, sans refus, au travers d'un tamis à 250 μm d'ouverture de mailles. Une partie de l'échantillon à 2 mm sera utilisé afin de déterminer la teneur en eau

4. Mode opératoire :

4.1. Oxydation :

- Transférer la prise d'essai dans un ballon de 250 ml ou 100 ml ou tube de 75 ml. A l'aide d'une pipette, ajouter d'abord 5 ml de la solution de bichromate, puis 7,5 ml d'acide sulfurique. Homogénéiser soigneusement ;

Porter à ébullition en moins de 3 minutes. En comptant le temps à partir de la première goutte de condensat qui tombe du réfrigérant, régler le chauffage de manière à maintenir une ébullition franche et douce pendant 5 minutes exactement. Retirer les échantillons et les refroidir rapidement à température ambiante en utilisant un bain d'eau. Transvaser quantitativement le contenu de chaque ballon dans un jaugé de 100 ml en filtrant sur filtre en fibre de verre et ajouter lentement 60 ml d'eau dans chaque jaugé en refroidissant à nouveau rapidement dans le bain d'eau jusqu'à un température de 20 ± 1 °C ;

OU : placer les tubes dans le bloc chauffant, préchauffé à une température de $135^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 30 minutes, puis les retirer et les refroidir à température ambiante en utilisant un bain d'eau. Ajouter lentement 50 ml d'eau dans chaque tube et refroidir rapidement dans le bain d'eau. Transférer quantitativement le contenu du tube dans la fiole jaugée de 100 ml.

- Ajuster au trait avec de l'eau (6.1) et bien mélanger ;
- Laisser reposer la suspension pendant 1 heure.
- Transvaser une partie du surnageant dans des tubes à centrifuger et centrifuger pendant 10 minutes à 2000 g. S'il reste des particules solides dans la solution après centrifugation, filtrer le surnageant. Si la solution d'attaque est « vert franc », recommencer avec une prise d'essai plus faible.

4.2. Préparation des solutions étalons :

- Préparer une gamme de solutions étalons conformément au tableau 2 en dissolvant la masse indiquée de glucose dans la solution de bichromate, dans une série de fioles jaugées de 100 ml, et mélanger jusqu'à dissolution complète ;
- Prélever 5 ml des solutions 1 à 5, les introduire dans un tube en verre (ou éventuellement un ballon) de 250 ml ou 100 ml, ajouter 7,5 ml d'acide sulfurique et poursuivre les étapes de digestion. Il convient que la solution résultante soit complètement claire et ne nécessite pas de filtration. Dans le cas contraire la digestion n'a pas été correcte et doit être refaite.

4.3. Mesure :

- A l'aide d'un spectrophotomètre, mesurer l'absorbance des solutions à 585 nm, dans l'ordre suivant : solutions étalons, blanc et échantillons. S'assurer de l'absence de contamination croisée entre les différents échantillons mesurés ;
- Tracer la courbe d'étalonnage et déterminer la masse de carbone organique présente dans le blanc et dans les échantillons.

5. Calcul :

Le calcul de la teneur en carbone organique sur la base d'un échantillon sec se fait à l'aide de l'équation suivante :

$$W_{oc} = \frac{a}{M} * \frac{(100+w)}{100}$$

Où

W_{oc} est la teneur en carbone organique, sur la base d'un échantillon sec, en g/kg a est la masse de carbone organique dans la prise d'essai, en mg.

M est la masse de l'échantillon pour essai, en g w est la teneur en eau de l'échantillon pour essai (sec à l'air), en % (fraction massique)

B.2. Matière organique :

La teneur en matière organique de l'échantillon a été calculée à partir de la teneur en carbone organique à l'aide de la formule :

$$W_{om} = f * W_{oc}$$

où

W_{om} est la teneur en matière organique, sur la base d'un échantillon séché en étuve, en g/kg

W_{oc} est la teneur en carbone organique, sur la base d'un échantillon séché en étuve, en g/kg

f est un facteur de conversion dont l'importance dépend du type de matière organique présente et peut varier de 1,72 à 2,5 pour les sols agricoles

B.3. L'Azote :

1. Principe

- L'échantillon est minéralisé en milieu acide sulfurique en présence de cuivre(II) et d'un catalyseur (oxyde de titane). Dans les conditions de minéralisation, l'azote organique est retrouvé sous forme ammonium.
- Les ions ammonium sont transformés en ammoniac par passage en milieu alcalin. On entraîne NH_3 à la vapeur d'eau et on dose le condensât recueilli par dosage volumétrique acide/base.

2. Minéralisation de type Kjeldahl classique (en milieu acide sulfurique)

La minéralisation est conduite à ébullition douce en milieu acide sulfurique chargé de sulfate de potassium et en présence de catalyseurs (les plus employés sont le sélénium ou le dioxyde de titane sous forme cristalline anatase mélangés à du sulfate de cuivre. Le sélénium est un métal lourd très toxique qu'il convient aujourd'hui de proscrire. Ces conditions de minéralisation conduisent à :

- l'azote organique et (évidemment) les formes NH_4^+ sont retrouvées sous forme NH_4^+ . NO_2^- et NO_3^- ne sont que partiellement réduits en NH_4^+ . Leur réduction totale implique un traitement préalable supplémentaire en milieu acide en présence des réducteurs acide salicylique et thiosulfate de sodium ;

- le carbone organique est retrouvé sous forme de carbone (noir) puis CO_2 ;
- l'hydrogène et l'oxygène sont combinés en H_2O .

Au cours de la minéralisation, l'acide sulfurique se décompose partiellement en dioxyde et trioxyde de soufre (SO₂ et SO₃, gaz toxiques irritants). Il y a ainsi apparition de vapeurs blanchâtres très irritantes. La minéralisation est donc conduite avec un appareillage à aspiration puis traitement des vapeurs avant rejet.

Note technique : l'addition de certains sels comme le sulfate de potassium (K₂SO₄) permet en fait de favoriser la minéralisation en élevant la température d'ébullition du milieu de minéralisation. Pour information :

Composition	Température d'ébullition
Acide sulfurique concentré	330°C
Acide sulfurique concentré + K ₂ SO ₄ 50% (p/v)	344°C
Acide sulfurique concentré + K ₂ SO ₄ 100% (p/v)	364°C
Acide sulfurique concentré + K ₂ SO ₄ 150% (p/v)	383°C
Acide sulfurique concentré + K ₂ SO ₄ 200% (p/v)	>400°C

3. Alcalinisation du milieu minéralisé et entraînement à la vapeur de l'ammoniac formé



L'ammoniac (volatil) ainsi formé est entraîné par de la vapeur d'eau (hydrodistillation), les vapeurs, condensées par réfrigération, sont recueillies dans un milieu suffisamment acide.

Remarque : le minéralisât est un milieu acide sulfurique concentré. Il est donc nécessaire d'introduire suffisamment de soude pour neutraliser puis alcaliniser et transformer NH₄⁺ en NH₃. On peut vérifier que le milieu est bien alcalin en ajoutant quelques gouttes de phénolphtaléine à la soude. Alcaliniser un milieu acide concentré présente des risques. Il convient de ne manipuler que si on a été correctement formé à cette action.

4. Dosage de l'ammoniac recueilli

4.1. Cas du dosage indirect (ou en retour)

L'ammoniac est recueilli dans une quantité connue (via la réalisation d'un témoin) et en excès d'une solution d'un acide fort. La fin de l'entraînement de NH₃ est estimée en considérant le volume de distillat recueilli ou la durée de l'opération.

Le reliquat de protons (du à l'excès d'acide fort) est dosé par une solution titrée d'une base forte. L'indicateur coloré de fin de dosage est le rouge de méthyle qui vire à la goutte près à la fin du dosage du reliquat de protons.

Ce type de dosage évite de façon élégante tout risque de pertes en ammoniac distillé.

4.2. Cas du dosage direct

L'ammoniac est recueilli dans de l'acide borique en solution à 20 à 40 g/l. En général on utilise 10 mL de solution borique et on recueille le distillat sous un volume de 40 à 100 mL. Le pK de l'acide borique est de 9,23. Le pH de la solution d'acide borique, en absence d'ammoniac, est donc voisin de 5,0 à 5,4. Vers ces pH, le pouvoir tampon de la solution borique est très faible, elle permet ainsi d'observer le virage d'indicateurs colorés dont la teinte sensible se situe vers pH 5,0 à 5,4, à la goutte près, avec des solutions titrées d'acide fort aussi diluées que 0,02 mol/L en H^+ . Soit I_{stat} un tel indicateur.

Le pK de NH_4^+/NH_3 est de 9,4. Si on introduit NH_3 , en large défaut par rapport à l'acide borique, dans une telle solution, on peut donc admettre que la totalité de NH_3 se protone sous forme NH_4 avec augmentation du pH. On peut alors mesurer le volume de solution titrée d'acide fort nécessaire pour ramener le pH à la teinte de virage d'un indicateur coloré I_{stat} . On a lors n_{H^+} ajouté à

la burette pour revenir au virage = n_{NH_3} distillé

Les indicateurs usuels utilisés sont :

mélange de Tashiro de rouge de méthyle () et de bleu de méthylène() en éthanol ()	mélange vert de bromocrésol (0,1g) et rouge de méthyle (0,02g) en éthanol (100 mL)
rouge de méthyle, rouge-jaune, pH 4,2 à 6,2 ; vert de bromocrésol, jaune-bleu, pH 3,8 à 5,4 ; bleu de méthylène : bleu aux pH du dosage.	
la solution borique pourra ainsi être ajustée à la teinte sensible « gris sale » : - passage du gris au violet, et ce à la goutte près, par ajout d'une solution d'un acide fort. - passage du gris au vert, et ce à la goutte près, par ajout d'une solution d'une base.	la solution borique pourra ainsi être ajustée à la teinte sensible « violet » : - passage du violet à l'orange, et ce à la goutte près, par ajout d'une solution d'un acide fort. - passage du violet au vert, et ce à la goutte près, par ajout d'une solution d'une base.

Remarque : On peut réaliser le dosage après la distillation ou au fur et à mesure de la distillation. Il est intéressant, surtout pour un dosage au fur et à mesure, d'avoir ajusté au préalable le milieu acide borique de recueil à la teinte sensible de l'indicateur coloré (donc le gris ou le violet selon celui choisi). Le dosage au fur et à mesure permet ainsi d'apprécier objectivement la fin de la distillation. Il est même possible de travailler en contrôle potentiométrique avec un point de titrage à $\text{pH} = 5,0$.

B.4. Le rapport C/N :

Carbone organique divisée par l'azote

B.5. le phosphore :

1. Conservation des échantillons

Prélever les échantillons dans des contenants en plastique ou dans des boîtes de carton ciré exempts de contamination.

Aucun agent de conservation n'est requis et les échantillons peuvent être conservés à la température ambiante. Le délai de conservation entre le prélèvement et l'analyse ne doit pas excéder 6 mois.

2. Appareillage

- Agitateur mécanique
- Système automatisé pour le dosage des phosphates [de type auto-analyseur Technicon ou FIA (flow injection analysis)], incluant :
 - échantillonneur;
 - pompe péristaltique;
 - système pour la réaction;
 - colorimètre muni de filtres de longueur d'onde de 660 nm et d'une cellule de 10 mm;
 - enregistreur ou ordinateur muni d'un interface.
- Balance dont la sensibilité est de 1 mg
- Spectrophotomètre dans le visible (colorimètre)

3. Réactifs et étalons

Tous les réactifs commerciaux utilisés sont de qualité A.C.S., à moins d'indication contraire. L'eau utilisée pour la préparation des réactifs et des solutions étalons est de l'eau distillée ou déminéralisée.

Acide acétique glacial, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (CAS no 64-19-7)

Acide sulfurique, H_2SO_4 (CAS no 7664-93-9)

Acide nitrique, HNO_3 (CAS no 7697-37-2)

Fluorure d'ammonium, NH_4F (CAS no 12125-01-8)

Nitrate d'ammonium, NH_4NO_3 (CAS no 6484-52-2)

Acide éthylène diamine tétraacétate, EDTA $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$ (CAS no 60-00-4)

Tartro-antimoniate de potassium, $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ (CAS no 28300-74-5)

Phosphate de potassium monobasique, KH_2PO_4 (CAS no 7778-77-0)

Molybdate d'ammonium, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (CAS no 12054-85-2)

Acide ascorbique, (L+) $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (CAS no 50-81-7)

Lauryl sulfate de sodium, (LAS) $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_2\text{ONa}$ (CAS no 151-21-3)

Agent aérosol 22

Solution mère Mehlich III

Dans une fiole jaugée de 200 ml, dissoudre 11,11 g de fluorure d'ammonium (cf. 6.4) dans environ 100 ml d'eau. Ajouter 5,85 g d'EDTA (cf. 6.6), le dissoudre et compléter au trait de jauge avec de l'eau.

Solution extractive Mehlich III

Dans une fiole de 1 000 ml, dissoudre 20,01 g de nitrate d'ammonium (cf. 6.5), 10 ml de la solution mère Mehlich III (cf. 6.13), 11,5 ml d'acide acétique (cf. 6.1) et 0,8 ml d'acide nitrique (cf. 6.3) et compléter au trait de jauge avec de l'eau.

Solution d'acide sulfurique 2,0 N

Diluer 56 ml d'acide sulfurique concentré (cf. 6.2) dans environ 400 ml d'eau, laisser refroidir, ajouter 1 ml d'agent aérosol 22 (cf. 6.12) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. La solution doit être renouvelée chaque jour.

Solution d'acide sulfurique 5,0 N

Diluer 141 ml d'acide sulfurique concentré (cf. 6.2) dans environ 700 ml d'eau, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Solution d'acide sulfurique 9,0 N

Diluer 250 ml de H₂SO₄ (cf. 6.2) dans environ 700 ml d'eau, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Solution pour le dosage manuel

Solution combinée A

Dissoudre 12 g de molybdate d'ammonium (cf. 6.9) dans 250 ml d'eau. Dans une fiole de 100 ml, dissoudre 0,2908 g de tartro-antimoniato de potassium (cf. 6.7) dans 80 ml d'eau. Compléter au trait de jauge avec de l'eau. Transvider les deux solutions précédentes dans une fiole jaugée de 2 litres contenant déjà 1 000 ml d'acide sulfurique 5,0 N (cf. 6.16). Compléter au trait de jauge de 2 litres avec de l'eau. Bien mélanger par inversion. Garder dans un endroit à l'abri de la lumière à 4 °C.

Solution de travail B

Dissoudre 1,056 g d'acide ascorbique dans 200 ml de la solution A (cf. 6.18). Cette solution doit être préparée tous les jours.

Solution pour le dosage automatisé (méthode 1)

Réactif molybdate

Dissoudre 4,3 g de molybdate d'ammonium (cf. 6.9) et 0,12 g de tartro-antimoniate de potassium (cf. 6.7) dans environ 800 ml d'eau. Ajouter 27 ml de H₂SO₄ (cf. 6.2) tout en agitant, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Ce réactif se conserve un mois lorsque l'agent mouillant n'est pas ajouté. Lors de l'utilisation, ajouter 1,0 ml de la solution de sulfate lauryl de sodium (cf. 6.11) par 200 ml de réactif. Le réactif contenant l'agent mouillant se conserve pendant une semaine

Solution d'acide ascorbique 10 % (P/V)

Dissoudre 10 g d'acide ascorbique (L+) (cf. 6.10) dans environ 80 ml d'eau. Agiter et compléter à 100 ml avec de l'eau. Cette solution se conserve une semaine à environ 4 °C.

Solution pour le dosage automatisé (méthode 2)

Solution molybdate-antimoine

Dissoudre 30 g de molybdate d'ammonium (cf. 6.9) et 0,15 g de tartro-antimoniate de potassium (cf. 6.7) dans environ 600 ml d'eau et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Solution d'acide ascorbique

Dissoudre 12 g d'acide ascorbique (L+) (cf. 6.10) dans environ 150 ml d'eau. Agiter et compléter à 200 ml avec de l'eau. Ajouter 1 ml de « Levure V » (agent mouillant). Bien mélanger par inversion.

Cette solution se conserve une semaine à environ 4 °C.

Solution étalon de phosphore de 1 000 mg/l P

Dissoudre 4,394 g de KH₂PO₄ (cf. 6.8) préalablement séché à 105 °C dans environ 800 ml d'eau, ajouter 1,0 ml de la solution de H₂SO₄ 9 N (cf. 6.17) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Cette solution se conserve un an.

Solutions étalons de phosphore

À l'aide de dilutions, préparer une série de solutions étalons ayant les concentrations suivantes :

Étalon	Concentration de phosphore (mg/l P)
1 0	
2 1	
3 2	
4 4	
5 6	
6 8	

Voici un exemple pour la préparation de ces solutions étalons :

Solution étalon de phosphore de 100 mg/l

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire à l'aide d'une pipette 5 ml de la solution étalon de phosphore de 1 000 mg/l P (*cf.* 6.24) dans environ 40 ml d'eau et compléter au trait d jauge avec de l'eau.

Solutions étalons de phosphore de 0,05, 0,2, 0,5, 1 et 2 mg/l P

Dans une série de fioles jaugées de 100 ml, introduire à l'aide de pipettes et de micropipettes 0,05, 0,2, 0,5, 1,0 et 2 ml de la solution étalon de phosphore de 100 mg/l P (*cf.* 6.24) dans environ 80 ml de solution extractive Mehlich III (*cf.* 6.14) et compléter au trait de jauge avec la solution extractive.

4. Protocole d'analyse

Pour toute série d'échantillons, les recommandations des « Lignes directrices concernant l'application des contrôles de la qualité en physico-chimie », DR-12-SCA-01, sont suivies afin des'assurer d'une fréquence d'insertion adéquate en ce qui concerne les éléments de contrôle et d'assurance de la qualité (blanc, matériaux de référence, duplicata, etc.). Tous ces éléments d'assurance et de contrôle de la qualité suivent les mêmes étapes du protocole analytique que les échantillons.

Les renseignements sur la préparation des échantillons de sol agricole sont présentés dans le document intitulé « Préparation des échantillons de sol agricole ».

4.1. Préparation de l'échantillon

- À l'aide d'une cuillère calibrée, mesurer 3 cm³ de sol (broyé et tamisé à 2 mm) dans un erlenmeyer de 125 ml et ajouter 30 ml de la solution extractive Mehlich III (cf. 6.14).

Agiter avec un agitateur mécanique pendant exactement 5 minutes (120 agitations/minute).

Note

- **Un volume de sol différent peut être utilisé mais toujours conserver le rapport solide/liquide de 1:10.**

- Filtrer sur un papier filtre Whatman n°40 et recueillir le filtrat.

4.2. Dosage

4.2.1. Colorimétrie manuelle

Le dosage est effectué en utilisant un spectrophotomètre dans le visible.

- Préparer une gamme de solutions standard de phosphore dans la solution extractive Mehlich III (cf. 6.14). Utiliser la solution extractive Mehlich III diluée (2/25) (V/V) comme blanc.

- Pipeter 2 ml de l'extrait (standard ou témoin) de sol exempt de turbidité dans une fiole jaugée de 25 ml.

- Ajouter 15 ml d'eau déminéralisée et 4 ml de solution B (cf. 6.19).

- Compléter à 25 ml avec de l'eau déminéralisée. Bien mélanger par inversion.

- Laisser reposer 10 minutes, puis lire l'absorbance à 882 nm.

4.2.2. Colorimétrie automatique (méthode 1)

Le dosage est fait en utilisant un auto-analyseur Technicon.

- Mettre en marche les différents modules de l'auto-analyseur Technicon au moins 30 minutes au préalable.

-
- Placer chacun des tubes dans leur réactif. Laisser pomper pendant 20 minutes afin que le système s'équilibre.
 - Placer la sonde de l'échantillonneur dans le standard le plus élevé. Lorsque la valeur maximum est atteinte, ajuster la valeur du standard sur le papier graphique de l'enregistreur.
 - Disposer les solutions standard et les échantillons sur un plateau à échantillons et mettre en marche l'échantillonneur Technicon.
 - Lorsque les analyses sont terminées, faire aspirer de l'eau dans les tubes pendant quelques minutes.

4.2.3. Colorimétrie automatique (méthode 2)

Le dosage est fait en utilisant un analyseur de phosphates.

- Démarrer la pompe et faire circuler de l'eau dans le système pendant quelques minutes. Par la suite, faire aspirer les réactifs pendant environ 30 minutes afin d'équilibrer le système.
- La ligne de base est ajustée et l'amplitude maximale est ajustée avec la solution étalon de 8 mg/l P.
- Lorsque le signal obtenu est stable, introduire les solutions étalons et les échantillons.
- Lorsque les analyses sont terminées, faire aspirer de l'eau dans les tubes pendant quelques minutes.
- Fermer le système et détendre les tubes.

4.3. Préparation spéciale de la verrerie

Aucun soin autre que le lavage et le séchage de la verrerie n'est nécessaire pour la détermination du phosphore assimilable.

5. Calcul et expression des résultats

Les résultats d'analyse sont obtenus comme suit :

Teneur (ppm) = concentration lue (ppm) × facteur de dilution

Teneur (kg/ha) = concentration lue (ppm) × facteur de dilution × 2,24

B.6. La conductivité électrique :

1. Prélèvement et conservation

Prélever un échantillon représentatif dans un contenant de plastique ou de verre. Aucun agent de préservation n'est ajouté. Conserver les échantillons en les réfrigérant entre 0 °C et 6 °C.

Les échantillons doivent être conservés (en fonction de la matrice et du règlement) selon les recommandations décrites à la section *Guide d'échantillonnage à des fins d'analyse environnementale* du site Web du CEAEQ.

Le délai de conservation entre le prélèvement et l'analyse ne doit pas excéder 28 jours pour les liquides et de 6 mois pour les solides.

2. Appareillage

Conductivimètre avec une cellule pour mesurer la conductivité

Sonde de température

Étuve à une température de $104\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$

Agitateur mécanique (environ 280 oscillations par minute) analytiques dont la sensibilité est de 0,1 mg et 0,01 g

Tamis avec des ouvertures de 2 mm.

3. Réactifs et étalons

Tous les réactifs commerciaux utilisés sont de qualité ACS, à moins d'indication contraire. L'eau utilisée pour la préparation de l'étalon et les échantillons est de l'eau distillée ou déminéralisée.

Chlorure de potassium, KCl (CAS n° 7447-40-7)

Solution de chlorure de potassium, KCl 0,010 M

Utiliser une solution commerciale dont la conductivité est certifiée. Cette solution a une conductivité de 1 409 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25 °C.

Solution de chlorure de potassium de 32,4356 g/l

Peser précisément 16,2178 g de KCl (*cf.6.1*) et le dissoudre dans environ 400 ml d'eau. Compléter à 500 ml avec de l'eau. Cette solution à une salinité de 35.

4. Protocole d'analyse

Pour toute série d'échantillons, les recommandations des *Lignes directrices concernant lestravaux analytiques en chimie*, DR-12- SCA-01, sont suivies pour s'assurer d'une fréquence d'insertion adéquate en ce qui concerne les éléments de contrôle et d'assurance de la qualité (blanc, matériaux de référence, duplicata, etc.). Tous ces éléments d'assurance et de contrôle de la qualité suivent les mêmes étapes du protocole analytique que les échantillons.

4.1. Calibration de l'électrode

Calibrer la cellule une fois par année ou lors de l'utilisation d'une nouvelle cellule de conductivité avec une solution commerciale de KCl 0,010 M (*cf.6.2*), tel qu'indiqué dans le manuel du fabricant.

4.2. Mesure de la conductivité des liquides

– Verser environ 60 ml d'échantillon dans un contenant.

–Placer les contenants sur le carrousel de l'échantillonneur et démarrer l'analyseur.

4.3.Mesure de la conductivité des solides

7.3.1 Préparation de l'échantillon

- Homogénéiser l'échantillon avec une spatule afin d'avoir un échantillon représentatif. Les roches ou matériaux autres que le sol ou les sédiments doivent être enlevées.
- Sécher l'échantillon à 104 °C pendant au moins 18 heures. Briser les agrégats de l'échantillon afin qu'il passe au travers d'un tamis de 2 mm.
- Dans une bouteille de plastique, peser 50 g d'échantillon et ajouter 100 ml d'eau.
- Agiter pendant 30 minutes à la température ambiante avec un agitateur mécanique (environ 280 oscillations/minute)
- Laisser décanter le solide et mesurer la conductivité sur la portion liquide.

4.3.2. Mesure de la conductivité

- Verser environ 60 ml d'échantillon dans un contenant.
- Placer les contenants sur le carrousel de l'échantillonneur et démarrer l'analyseur.

4.4. Préparation spéciale de la verrerie

Aucun soin autre que le lavage et le séchage de la verrerie n'est nécessaire pour la détermination de la conductivité.

5. Calcul et expression des résultats

5.1. Conductivité

Le conductivimètre possède une sonde de température qui corrige la conductivité à 25 °C.

Pour les liquides, les résultats sont lus directement et sont exprimés en $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Pour les solides, les résultats sont rapportés en mS/cm selon l'équation suivante :

$$S = \frac{A}{1000}$$

où

S : salinité de l'échantillon en mS/cm ;

A : conductivité de l'échantillon en $\mu\text{S}/\text{cm}$;

1000 : facteur de correction entre mS/cm et $\mu\text{S}/\text{cm}$.

B.7. Mesure du pH

1. Préparation de l'échantillon

- Dans un pilulier en verre adapté : (1) mettre 1/3 de sol, (2) puis ajouter 1/3 d'eau déminéralisée.
- Placer l'échantillon sous agitation pendant 1/2 heure
- Laisser reposer l'échantillon quelques secondes sur la paillasse puis mesurer le pH-eau (après avoir étalonné le pH-mètre)
- Reprendre ce même pilulier et ajouter 1/3 de KCl 3N
- Placer l'échantillon sous agitation pendant 1/2 heure
- Laisser reposer l'échantillon quelques secondes puis mesurer le pH-KCl

2. Etalonnage du pH-mètre

(à faire une fois en début d'utilisation de l'appareil).

- Plonger l'électrode et le capteur de température dans la solution tampon pH 4 et presser successivement le bouton MODE RUN jusqu'à obtenir l'inscription (ctl1), quand l'électrode est dans la solution presser brièvement (mode run) et vous obtenez l'inscription (---) puis CH2 ; rincez et séchez.

- Lorsque la mesure de la solution tampon utilisée comme étalon est achevée (l'affichage passe de --- à C2), rincer l'électrode et la plonger dans la solution tampon pH 7
- Presser brièvement le bouton MODE RUN,
- Lorsque la seconde mesure est terminée, la pente caractéristique de l'électrode est calculée et affichée. En pressant rapidement MODE RUN, le potentiel asymétrique est affiché.

3. MESURE du pH

- Presser le bouton MODE RUN jusqu'à ce que l'indicateur de mode soit sur pH
- Rincer et sécher (éviter dilution) l'électrode puis la plonger dans l'échantillon.

4. Interpretation rapide

(Voir également le fascicule)

Gamme de pH-H ₂ O du sol	Qualification
pH < 3,5	hyper-acide
3,5 < pH < 5	très acide
5 < pH < 6,5	acide
6,5 < pH < 7,5	neutre
7,5 < pH < 8,7	basique
8,7 < pH	très basique

► Étant donné la grande variabilité spatiale et temporelle des équilibres influençant le pH des sols, inutile d'exprimer les pH avec une précision plus grande que le dixième d'unité !

* Des languettes pH seront également utilisées pour estimer le pH : mesure moins précise mais très pratique sur le terrain, pour étudier par ex les eaux naturelles.

Tableau. Référentiel d'interprétation des éléments minéraux du sol d'après **Ctifl,C.A84³**

Appréciation	Teneur en éléments (g/kg de terre fine)				
	N	P	K	Mg	Ca
Faible	< 0.01	< 0.002	< 0.02	<0.01	< 0.03
Moyen	0.01 à 0.015	0.002 à 0.005	0.02 à 0.06	0.01 à 0.03	0.03 à 0.07
Satisfaisant	0.015 à 0.025	0.005 à 0.01	0.06 à 0.08	0.03 à 0.04	0.07 à 0.12
Elevé	0.025 à 0.035	0.01 à 0.015	0.08 à 0.1	0.04 à 0.05	0.12 à 0.15
Très élevé	> 0.035	> 0.015	> 0.1	> 0.05	> 0.15

Annexe C

Dosage des paramètres biochimiques de la plante

Biomasse

La biomasse a été quantifiée en poids de matière fraîche et matière sèche. Cette quantification a concerné :

- Les feuilles

Les poids frais ont été effectués par une balance de précision, juste après un équilibre isothermique.

C.1. Le dosage des pigments chlorophylliens

Les chlorophylles a et b fait l'objet de cette analyse. La méthode adoptée et celle de l'extraction au D.M.SO (dimethylsulfoxide) elle a l'avantage d'être rapide nul et besoin de procédé à la macération des échantillons. Le dosage s'effectue par la détermination de l'absorbance de la solution aux longueurs d'ondes 663 et 645 nm. Cette méthode a été préconisée par **HICOX** et **ISRAELSIAM.**, en **1978**. On pèse des échantillons de 100 mg pris au 1/3 médian de feuille mis dans les tubes a essai propres on ajoute 7 ml de D.M.S.O dans chaque tubes, les tubes fermé avec du papier aluminium sont mis en incubation dans un bain marie à 65°C pendant 20 min les tubes sont ensuite refroidis dans une chambre noire et froide (afin d'éviter l'oxydation chlorophyllienne).

Après refroidissement on ajoute 3ml de D.M.S.O dans chaque tube. Le dosage se fait sur 3ml prélève de la solution dans la cuve et la lecture est fait aux longueurs d'ondes mentionnées plus haut.

La formule relative au solvant, établie par : Mc KINNEY et ARNON(1949)

- $\text{Chl a} = 12 \text{ D.O (663)} - 2,67 \text{ D.O (645)}$
- $\text{Chl b} = 22,5 \text{ D.O (645)} - 4,68 \text{ D.O (663)}$
- $\text{Chl a+b} =$

DO: densité optique

C.2. Dosage des sucres soluble

Les sucres solubles dosés par la méthode de **Shields et Burnett., (1960)** qui utilise l'anthrone en milieu sulfurique l'extraction des sucres solubles se fait après macération du végétale dans l'éthanol (3ml) à 80% pendant 4 heures.

Préparation du réactif à l'anthrone au moins 4 heures à l'avance (mettre 20 mg d'anthrone pure dans 100 ml d'acide sulfurique par densité : 1,84 faire passer les tubes en rotavapor pour l'évaporation de l'alcool mettre 20 ml d'eau distillée dans la totalité de l'extrait).

On prélève 2ml de l'extrait dans les tubes sauf bain-marie à 62°C (+ou- 1°C) pendant 8 minutes. Refroidissement des tubes dans un bain-marie de glace afin d'arrêter la réaction. Enfin lire au spectromètre à 585 nm après repos de 30 minutes à l'obscurité maintenu à 0°C dans la glace pendant l'opération pour éviter l'éclatement des tubes (car la réaction est exothermique).

Après agitation les tubes sont mise au bain-marie à 90°C pendant 8 minutes puis refroidit pendant 30 minutes dans la glace et à l'obscurité pour éviter l'oxydation des sucres. Le dosage se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde 585 nm après l'étalonnage de l'appareil par le réactif à l'anthrone.

C.3. Dosage des protéines totales

La technique utilisée pour le dosage des protéines totales est celle de **Bradford., (1976)** qui utilise le BSA (le sérum d'albumine de bovin) comme standard.

On prend 100 mg d'échantillon on procède à leur broyage à l'aide d'un mortier et un peu d'eau distillée après on récupéré dans des tubes à essai un peu d'eau de chaque prélèvement broyé (0,1 mg) auquel on ajoute 5 gouttes d'eau distillée. Puis dans des tubes à essai propre on prélève 0,2 ml de la solution précédente et 1,6 ml d'eau distillée (à l'aide d'une micro pipette) 5 minutes avant la lecture on ajoute 0,2 ml du réactif de Bradford (100 mg de BBC) bleu de brillant de coumassie(G 250) + 50 ml d'éthanol à 95% agité grâce à un agitateur pendant 2 heures rajouter 100 ml d'acide ortho phosphorique à 85% et complété à l'eau distillée jusque 1 litre.

Le dosage se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde 595 nm après l'étalonnage de l'appareil par une solution témoin contenant 108 ml d'eau distillée + 0,2 ml du réactif de Bradford.

C.4. Dosage de la proline

La technique utilisée pour le dosage de la proline est celle de Monneveux et Nemmar., (1986)

- On pèse 100mg du végétale (*Atriplex canescens*) coupé en petites morceaux et introduit dans un tube à essai, au quel on ajoute 2ml de méthanol à 40% l'ensemble et ensuite chauffé au bain-marie à 80°C pendant 60 min, les tubes sont recouvert du papier aluminium pour éviter la volatilisation de l'alcool.

- Après refroidissement, on prélève 1ml de la solution, au quel on ajoute 1ml d'acide acétique (CH_3COOH) et 1ml de mélange modifieur contenant (120ml d'eau distillée + 300 ml d'acide acétique + 80 ml d'acide ortho phosphorique) et 25 mg de ninhydrine.
- Les solutions sont portées a ébullition pendant 30 min, elles virent au rouge après refroidissement, on ajoute 5ml de toluène, après agitation deux phases se séparent :

La phase inférieure sans proline.

La phase supérieure qui contient la proline cette phase est ensuite récupérée et déshydratée par l'adjonction de Na_2SO_4 .

Enfin, on procède à la détermination des densités optiques des échantillons à la longueur d'onde 528 nm après étalonnage de l'appareil par le mélange (acide acétique + eau distillée+ acide ortho phosphorique+ ninhydrine).

Annexe D

La fiche détaillé de la plante

Fiche de *Triticum durum*

Classification

Embranchement : Angiospermes

Sous embranchement : Spermaphytes

Classe Monocotylédones

Ordre Glumiflorales

Super ordre Comméliniflorales

Famille Gramineae

Genre *Triticum* sp

Espèce *Triticum durum* Desf

Caractéristiques morphologiques

Forme des grains : Allongé

Coloration du phénol : Moyenne

Longueur des poils de la brosse épi : Courte

Couleur : Blanc

Compacité : Moyen

Caractéristiques culturale

Port au tallage : Demi dressé

Productivité : Bonne

Répartition : Littoral, centre et Est