

# Effet de la température sur le devenir des pesticides dans les sols et conséquences pour l'évaluation des risques environnementaux :

## Cas du glyphosate et des herbicides sélectifs

L. Mamy<sup>(1)(2)\*</sup>, E. Barriuso<sup>(1)</sup> et B. Gabrielle<sup>(1)</sup>

1) INRA, UMR 1091 INRA-AgroParisTech EGC, F-78850, Thiverval-Grignon, France

2) INRA, UR 251 PESSAC, F-78026, Versailles, France (adresse actuelle)

\* Auteur correspondant laure.mamy@versailles.inra.fr

### RÉSUMÉ

L'introduction de cultures génétiquement modifiées résistantes au glyphosate est supposée diminuer le nombre et les doses d'herbicides (le glyphosate ayant un large spectre d'action et une efficacité reconnue), donc réduire les risques de contamination de l'environnement. Cependant, les études qui comparent rigoureusement le devenir du glyphosate dans l'environnement à celui des herbicides utilisés avec les cultures non résistantes sont rares. Le devenir des herbicides dans le sol, compartiment clé de l'environnement, dépend de la structure chimique des composés, des caractéristiques des sols et des conditions climatiques, en particulier des paramètres température et humidité. Ainsi, l'objectif de ce travail est de comparer, à trois températures et dans trois sols différents (Rendzine superficielle, Cambisol calcaire, Cambisol désaturé), le devenir du glyphosate à celui de la trifluraline et du métazachlore (herbicides du colza), de la métamitronne (betterave) et de la sulcotrione (maïs). Des solutions aqueuses d'herbicides marqués au <sup>14</sup>C ont été appliquées sur les trois sols à des doses agronomiques. Puis, les sols ont été incubés à l'obscurité à 28 °C, 18 °C ou 4 °C et à humidité constante pendant 5 mois. Les résultats ont montré que lorsque la température décroît, la proportion de résidus d'herbicides restant extractibles augmente parce que la dégradation des herbicides ralentit. Ainsi, la minéralisation diminue, de même que la quantité de résidus non extractibles, sauf dans les cas du glyphosate et de la métamitronne. La dégradation complète sous forme de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> (minéralisation) varie en fonction des caractéristiques des sols, pH et teneur en carbone organique en particulier, et de l'intensité de la rétention des herbicides la biodisponibilité des herbicides pour être biodégradés est réduite quand la rétention est élevée. A 4 °C, après cinq mois d'incubation, tous les herbicides, sauf la sulcotrione, sont encore détectés. En particulier, jusqu'à 18 % du glyphosate initialement apporté ont été extraits du Cambisol désaturé. Les herbicides sont donc susceptibles de persister longtemps dans les sols à basse température. De même, les quantités résiduelles des métabolites majeurs du glyphosate, de la sulcotrione et du métazachlore sont significatives au maximum, elles atteignent respectivement, en pourcentages des quantités initiales, 39,3 %, 68,5 % et 62,3 % à 4 °C. La disponibilité des herbicides et de leurs métabolites, estimée par les quantités extractibles, est directement liée aux risques de lixiviation. Ainsi, ces

derniers augmentent à basse température. Comparé aux herbicides sélectifs, le glyphosate est rapidement minéralisé, même à faible température, et présente donc moins de risques pour l'environnement. Cependant, les bénéfices potentiels de l'implantation des cultures résistantes au glyphosate sont contrebalancés par la persistance dans les sols de son principal métabolite, qui est déjà fréquemment détecté dans les eaux, et par l'augmentation des résidus non extractibles à basses températures.

### Mots clés

Sol, température, herbicides, minéralisation, résidus liés, métabolites.

### SUMMARY

#### **EFFECT OF TEMPERATURE ON THE FATE OF PESTICIDES IN SOILS AND CONSEQUENCES FOR ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT A case study on glyphosate versus selective herbicides**

Genetically modified crops tolerant to glyphosate may mitigate the increasing contamination of the environment by herbicides since their weeding requires smaller amounts of herbicides and fewer active ingredients. However, studies that rigorously compare the fate of glyphosate in the environment to that of herbicides used with non-tolerant crops are scant. The fate of herbicides in soil, key compartment of the environment, depends on the chemical structure of compounds, on soils characteristics and on climatic conditions, in particular temperature and moisture. Thus, the objective of this work was to compare, at three temperatures and in three different soils (superficial Rendzina, calcareous Cambisol, desaturated Cambisol), the fate of glyphosate with that of trifluralin and metazachlor (herbicides used with oilseed rape), metamiltron (sugarbeet), and sulcotrione (maize). Aqueous solutions of  $^{14}\text{C}$ -labeled herbicides were applied on soils at agronomic rates. Soil samples were then incubated in darkness at 28 °C, 18 °C or 4 °C for 5 months. When the temperature decreased, the proportion of herbicide residues remaining extractable increased because herbicide degradation slowed down. Thus, the rate of herbicide mineralization and the fraction of non-extractable residues decreased when temperature decreased, except for glyphosate and metamiltron. The amounts of  $^{14}\text{CO}_2$  evolved from soil samples, coming from the herbicide mineralization, varied among soil types depending on their physico-chemical characteristics, in particular pH and organic carbon content, and on the extent of retention of herbicides the herbicides bioavailability, allowing their biodegradation, decreased when retention increased. At 4 °C, after five months of incubation, all herbicides except sulcotrione were detected in the soils extracts, implying high degree of persistence in soils. In particular, 18 % of the initial amount of glyphosate were extracted from the desaturated Cambisol. Similarly, the amounts of the major metabolites of glyphosate, sulcotrione and metazachlor were significant at 4 °C, they reached maximum of 39.3 %, 68.5 % and 62.3 % of initial amounts, respectively. The availability of herbicides and their metabolites, as estimated by the extractable amounts, is directly related to leaching risk. Thus, the latter increased at low temperature. Compared to the selective herbicides, glyphosate mineralized most quickly, even at 4 °C. However, potential environmental benefits of using glyphosate-tolerant crops should be balanced by the persistence of the main metabolite of glyphosate, which is already frequently detected in water bodies, and by the increase in the fraction of non-extractable residues at low temperatures.

### Key-words

Soil, temperature, herbicides, mineralization, bound residues, metabolites.

### RESUMEN

#### **EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL DEVENIR DE PESTICIDAS EN SUELOS Y CONSECUENCIAS PARA LA EVALUACIÓN DE RIESGOS MEDIOAMBIENTALES Caso del glifosato y de herbicidas selectivos**

Se supone que la introducción de cultivos modificados genéticamente, resistentes al glifosato, permitiría reducir el número y las dosis de herbicidas utilizados (el glifosato teniendo un amplio espectro de acción y una eficacia probada), reduciendo así el riesgo de contaminación del medio ambiente. Sin embargo, son raros los estudios comparando rigurosamente el devenir del glifosato en el medio ambiente y el de otros herbicidas utilizados con los mismos cultivos no modificados genéticamente. El devenir de los herbicidas en el suelo, compartimento clave del medio ambiente, depende de la estructura química de los herbicidas, de las características de los suelos y de las condiciones climáticas, especialmente la temperatura y la humedad. Así, el objetivo de este trabajo es comparar el devenir del glifosato, al de la trifluralina y del metazachlor (herbicidas utilizados en colza), de la metamiltrona (remolacha) y de la sulcotriona (maíz), a tres temperaturas y en tres suelos diferentes (Rendzina superficial, Cambisol cálcico, Cambisol lavado). Los herbicidas marcados con  $^{14}\text{C}$  y en soluciones acuosas se aplicaron a los tres suelos a las dosis agronómicas. Luego, los suelos se incubaron en la oscuridad a 28 °C, 18 °C y 4 °C, a una humedad constante, durante 5 meses. Los resultados mostraron que cuando la temperatura disminuye, la proporción de residuos de herbicidas extraíbles aumenta porque la degradación de los herbicidas disminuye. Al mismo tiempo, la mineralización y la cantidad de residuos no extraíbles disminuye también, excepto para el glifosato y la metamiltrona. La cantidad de  $^{14}\text{CO}_2$  proviniendo de la mineralización de los herbicidas varía con las características del suelo, en particular el pH y la cantidad de carbono orgánico, y la intensidad de la retención de los herbicidas la biodisponibilidad de los herbicidas permitiendo su biodegradación se reduce cuando la retención aumenta. Después de

cinco meses de incubación a 4 °C, todos los herbicidas se detectaron, excepto la sulcotriona. En particular, hasta 18% del glifosato inicial se extrajo del Cambisol lavado. Esto indica capacidad a persistir en el suelo. De manera similar, se encontraron cantidades residuales significativas de los principales metabolitos del glifosato, la sulcotriona y el metazaclor los metabolitos representan respectivamente hasta 39.3%, 68.5% et 62.3% de los herbicidas iniciales, a 4 °C. La disponibilidad de los herbicidas y de sus metabolitos, estimada a través de las cantidades extraíbles, está directamente relacionado con el riesgo de lixiviación. Por lo tanto, este riesgo aumenta a temperaturas bajas. En comparación con herbicidas selectivos, el glifosato es rápidamente mineralizado, incluso a bajas temperaturas, y por lo tanto presenta menos riesgo para el medio ambiente. Sin embargo, los beneficios potenciales para el medio ambiente de la introducción de cultivos resistentes al glifosato es compensado por la persistencia en el suelo de su metabolito principal, que ya es frecuentemente detectado en el agua, y por el aumento a bajas temperaturas de los residuos no extraíbles.

### Palabras clave

Suelo, temperatura, herbicida, mineralización, residuos ligados, metabolito

L' introduction de cultures génétiquement modifiées résistantes au glyphosate est supposée diminuer le nombre d'herbicides utilisés et les doses - le glyphosate ayant un large spectre d'action et une efficacité reconnue - donc réduire les risques de contamination de l'environnement (Shaner, 2000 ; Gianessi, 2005 ; Kleter *et al.*, 2007 ; Darmency, 2010). Néanmoins, si l'implantation de ces cultures se généralisait, l'augmentation concomitante des surfaces traitées pourrait laisser présager un accroissement des teneurs en glyphosate dans les eaux. La plupart des travaux qui ont été réalisés pour étudier les impacts sur l'environnement des cultures résistantes au glyphosate concerne la dispersion des gènes, l'évolution potentielle de la flore (résistance notamment) suite à des traitements répétés, les effets sur les organismes de l'environnement et la biodiversité ou la consommation des énergies fossiles (Shaner, 2000 ; Turner, 2004 ; Owen et Zelaya, 2005 ; Cerdeira et Duke, 2006). En revanche, la modification des impacts sur la qualité des sols et des eaux induites par les modifications des herbicides utilisés est rarement considérée.

Lors du traitement des cultures, la majeure partie des quantités d'herbicides apportées atteint le sol, soit parce que les herbicides y sont directement appliqués, soit parce que la pluie a lessivé le feuillage des plantes traitées (cultures et/ou adventices). Le sol occupe donc une position centrale dans la régulation du devenir des herbicides dans l'environnement et il aura un double rôle de stockage et d'épuration. Dans le sol, les herbicides sont distribués entre les phases solide, liquide et gazeuse où ils sont affectés par des processus physico-chimiques et biologiques couplés qui conditionnent la dégradation, la rétention (adsorption) et le transfert des herbicides vers les autres compartiments de l'environnement (eau, plante, atmosphère) (Barriuso *et al.*, 1996). La dégradation est l'un des processus clé du devenir des herbicides dans les sols puisqu'elle conditionne leur élimination ou leur persistance dans les milieux naturels (Calvet *et al.*, 2005). Elle peut être de nature biotique (dégradation par la microflore, la microfaune

et les végétaux) ou abiotique (hydrolyse, photolyse). Toute une série de molécules intermédiaires (les produits de dégradation ou métabolites) entre la molécule initiale et les molécules minérales finales peut être produite. C'est lorsque l'herbicide est transformé en molécule minérale, comme le CO<sub>2</sub>, qu'il est totalement éliminé. Ce phénomène est appelé minéralisation.

L'étude de la dégradation nécessite d'obtenir des informations sur l'évolution des concentrations en pesticide dans le sol. Celle-ci est déterminée en extrayant les pesticides du sol avec divers solvants (la nature du solvant utilisé dépend de la nature de la molécule). Au laboratoire, les expériences mises en place consistent à incuber des échantillons de sols sur lesquels sont appliqués des pesticides généralement marqués au carbone 14, ce qui permet d'accéder non seulement aux quantités extractibles (pesticides et métabolites) mais aussi aux quantités minéralisées et non extractibles (lorsque les pesticides ne peuvent plus être extraits des sols par les solvants). L'apparition de ces résidus non extractibles (appelés aussi « résidus liés ») peut être considérée comme un processus de stabilisation responsable de l'immobilisation des pesticides dans le sol (Calvet *et al.*, 2005 ; Barriuso *et al.*, 2008).

L'intensité de la dégradation des pesticides dépend de la structure chimique des composés, des caractéristiques des sols et des conditions climatiques, en particulier température et humidité. La persistance des pesticides en fonction de ces deux derniers paramètres varie selon des fonctions qui atteignent un maximum correspondant aux conditions optimales de dégradation. Ces maxima se situent en général entre 25 et 30 °C pour la température et entre 80 et 110 % de la capacité de rétention en eau pour l'humidité (Soulas et Fournier, 1978).

Ainsi, dans le contexte de l'introduction de cultures génétiquement modifiées résistantes au glyphosate, l'objectif de ce travail est de comparer, à trois températures et dans trois sols différents, le devenir du glyphosate à celui de quatre herbicides fréquemment utilisés dans les mêmes cultures mais non génétiquement modifiées.

Les travaux ont été focalisés sur les trois cultures les plus répandues en France dont l'équivalent génétiquement modifié est déjà cultivé dans d'autres pays du monde le colza, la betterave et le maïs. Les quatre herbicides ont été choisis parmi ceux qui sont le plus utilisés dans ces trois cultures et pour leurs caractéristiques physico-chimiques contrastées trifluraline (elle n'est plus autorisée à la vente en France depuis fin 2009 mais présente des propriétés physico-chimiques intéressantes) et métazachlore pour le colza, métamitron pour la betterave et sulcotrione pour le maïs.

Quelques travaux sont disponibles concernant l'impact de la température sur la dégradation de chacun des cinq herbicides. Ils montrent que la minéralisation et/ou la vitesse de dégradation diminuent avec la température et par conséquent que la persistance dans les sols augmente (Zimdahl et Gwynn, 1977 ; Walker et Brown, 1985 ; Jolley *et al.*, 1990 ; Jolley et Johnstone, 1994 ; Vink et Van der Zee, 1996 ; Vischetti *et al.*, 1997 ; Eberbach, 1998 ; Baer et Calvet, 1999 ; Eberbach, 1999 ; Beulke et Malkomes, 2001 ; Stenrod *et al.*, 2005 ; Borggaard et Gimsing, 2008). En revanche, il n'y a quasiment pas de résultats concernant les effets de la température sur la formation de résidus extractibles et non extractibles. Une des rares études existantes a montré, dans le cas du glyphosate, qu'entre -5°C et 5°C les quantités extractibles et non extractibles restent similaires (Stenrod *et al.*, 2005).

Cependant, tous ces résultats ont été obtenus dans des conditions différentes de température, de sol, d'humidité et de dose appliquée au sol, ils ne permettent donc pas de comparer rigoureusement le glyphosate aux herbicides qu'il est susceptible de remplacer.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

### Sols

Les échantillons de sols proviennent de trois sites expérimentaux mis en place par le CETIOM, l'ITB et Arvalis en 1995. Ces sites ont été installés dans trois régions de production près de Châlons-en-Champagne (Champagne), Dijon (Bourgogne) et Toulouse (Midi-Pyrénées) afin de préciser, en conditions agronomiques réelles, l'impact des cultures génétiquement modifiées (colza, betterave et maïs) dans l'environnement et dans les systèmes de culture (Champolivier et Messéan, 1997). Les impacts environnementaux analysés ont été concentrés sur les questions biologiques relatives au croisement inter-spécifique et à l'apparition éventuelle d'hybrides, à l'apparition de résistance chez les mauvaises herbes et à la modification de la flore, à la gestion de repousses résistantes aux herbicides. Le travail présenté dans cet article permet de compléter le diagnostic par une étude portant sur les impacts des herbicides.

Le sol de Châlons-en-Champagne est une Rendzine superficielle développée sur un sous-sol calcaire (dénommé « Rendzine » dans la suite de l'article), le sol de Dijon est un Cambisol calcaire avec une texture argilo-limoneuse (« Cambisol calcaire ») et le sol de Toulouse est un Cambisol désaturé avec une texture limoneuse (« Cambisol désaturé ») (FAO, 1998) (*tableau 1*). Les caractéristiques physico-chimiques contrastées de ces trois sols, ainsi que leur localisation dans des régions climatiques variées, permettent de couvrir les principales conditions de culture pour le colza, la betterave et le maïs. Pour chaque sol, un échantillon composite de l'horizon de surface (0-10 cm) a été obtenu à partir de 15 prélèvements répartis aléatoirement sur la parcelle. Les sols ont ensuite été tamisés à 3 mm et stockés à 4°C pendant 48 heures avant leur utilisation.

### Herbicides

Les cinq herbicides retenus dans ce travail sont le glyphosate (N-(phosphonométhyl)glycine), la trifluraline (2,6-dinitro-N,N-dipropyl-4-trifluorométhylaniline), le métazachlore (2-chloro-N-(2,6-diméthyl-phényl)-N-pyrazol-1-ylméthyl)acétamide, la métamitron (4-amino-4,5-dihydro-3-méthyl-6-phényl-1,2,4-triazin-5-one) et la sulcotrione (2-(2-chloro-4-mésyl-benzoyl) cyclohexane-1,3-dione) (*tableau 2*). Le <sup>14</sup>C-glyphosate (marqué sur le groupe méthyle) provient de Sigma Chemicals (St Louis, USA ; 81 MBq/mmol, pureté 99,2%), la <sup>14</sup>C-trifluraline (uniformément marquée sur le cycle benzène) d'Amersham (Buckinghamshire, Royaume-Uni ; 2 960 MBq/mmol, pureté 98,6%), le <sup>14</sup>C-métazachlore (marqué uniformément sur le cycle phényle) de BASF (Limburgerhof, Allemagne ; 1 761 MBq/mmol, pureté 95,5%), la <sup>14</sup>C-métamitron (marquée uniformément sur le cycle phényle) d'International Isotope (Munich, Allemagne ; 477 MBq/mmol, pureté 98,0%) et la <sup>14</sup>C-sulcotrione (marquée uniformément sur le cycle phényle) d'Izotop (Budapest, Hongrie ; 720 MBq/mmol, pureté 91%). Des solutions aqueuses de <sup>14</sup>C-glyphosate (10,8 mg/l et 5,24 MBq/l), <sup>14</sup>C-métazachlore (9,1 mg/l et 7,72 MBq/l), <sup>14</sup>C-métamitron (8,1 mg/l et 7,49 MBq/l) et <sup>14</sup>C-sulcotrione (8,3 mg/l et 6,88 MBq/l) ont été préparées dans du CaCl<sub>2</sub> 0,01 M par dilution isotopique avec des herbicides non marqués au <sup>14</sup>C (standards analytiques, pureté >99%). Les solutions de <sup>14</sup>C-trifluraline ont été préparées dans du méthanol (8,9 mg/l et 7,84 MBq/l) en raison de sa faible solubilité dans l'eau (*tableau 2*).

### Incubations en conditions contrôlées de laboratoire

Le dispositif d'incubation consiste à placer des échantillons de 10 g (équivalent en masse sèche) de sols frais dans des bocaux en verre de 500 ml hermétiquement fermés. Le contenu en eau des sols est ajusté avec les solutions d'herbicides et de l'eau ultra-pure (MilliQ, Millipore, Molsheim, France) si nécessaire,

**Tableau 1** - Principales caractéristiques des sols (horizon 0-10 cm).**Table 1** - Main soil characteristics (0-10 cm layer).

Type de sol	Site	pH (eau) [1]	Argile (g/kg) [2]	Limons (g/kg) [2]	Sable (g/kg) [2]	CaCO <sub>3</sub> (g/kg) [3]	Carbone organique (g/kg) [4]	Fe amorphe (g/kg) [5]	Cu total (mg/kg) [6]	Mn total (g/kg) [6]	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> total (g/kg) [6]	Teneur en eau à pF 3 (g/100g) [7]
Rendzine superficielle développée sur un sous-sol calcaire « Rendzine »	Châlons -en- Champagne	8,2	93	72	7	819	20,1	0,68	5,7	0,502	2,72	27,1
Cambisol calcaire avec texture argilo-limoneuse « Cambisol calcaire »	Dijon	8,2	377	296	152	167	16,3	2,00	16,0	1,819	2,76	26,1
Cambisol désaturé avec texture limoneuse « Cambisol désaturé »	Toulouse	7,6	235	323	439	3	9,6	2,08	15,1	0,643	1,31	19,0

[1] Mesuré après mise en suspension de l'échantillon de sol (séché à l'air) dans l'eau avec un rapport 1/5 (v/v) (norme NF ISO 10390)

[2] Granulométrie après décarbonatation (norme NF X 31-107)

[3] Acidification avec HCl (NF ISO 10693)

[4] Combustion du sol à 1000 °C (norme NF ISO 10694)

[5] Extrait à l'oxalate d'ammonium

[6] Mise en solution avec HF (norme NF X 31-147)

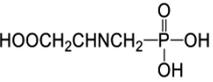
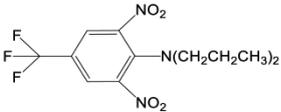
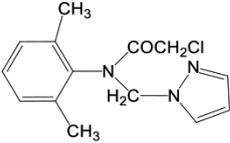
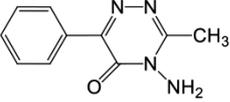
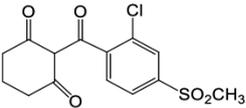
[7] Quantité d'eau retenue par un échantillon de sol (30g, 1 cm d'épaisseur, tamisé à 2mm), préalablement saturé en eau et soumis à une accélération de 1 000 x g pendant 40 minutes.

de telle sorte que l'humidité des sols soit équivalente à leur teneur en eau à pF 3 (tableau 1). Les concentrations finales en herbicides sont égales à 1 mg/kg de sol sec, ce qui correspond approximativement à une dose d'application de 1 kg/ha. La radioactivité appliquée atteint respectivement 0,57 ; 0,86 ; 0,83 ; 0,81 et 0,68 MBq/kg sol sec pour le glyphosate, la trifluraline, le métazachlore, la métamitron et la sulcotrione. Chaque bocal renferme un pilulier contenant 2ml de NaOH 2M pour piéger le <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> provenant de la minéralisation des herbicides et un pilulier contenant 10ml d'eau pour maintenir une humidité relative constante. De la laine de verre imprégnée de 1,5ml d'huile de paraffine a été placée au sommet des dispositifs d'incubation contenant la trifluraline (en raison de sa pression de vapeur élevée, tableau 2). Ceci permet de piéger l'herbicide et les composés organiques volatilisés sans piéger le <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>. Les bocal d'incubation sont ensuite placés à l'obscurité pendant 5 mois dans des enceintes thermostatées à 28°C, 18°C ou

4°C. Au cours de l'incubation, le contenu en eau des sols a été ajusté périodiquement par pesée en ajoutant la quantité d'eau nécessaire. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque herbicide, sol et température.

La soude et la laine de verre imbibée de paraffine ont été périodiquement échantillonnées et remplacées (1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 63, 77, 105, 140 (à 28°C) ou 147 (à 18°C) ou 154 (à 4°C) jours) afin de déterminer les cinétiques de minéralisation des herbicides et les cinétiques de volatilisation de la trifluraline. En fin d'incubation, chaque échantillon de sol a subi quatre extractions successives une extraction avec 50ml de CaCl<sub>2</sub> 0,01 M pendant 24 heures, suivie de trois extractions (deux fois 24 heures puis une fois 4 heures) avec 50ml du solvant correspondant à chaque molécule NH<sub>4</sub>OH 0,54 M pour le glyphosate (Aubin et Smith, 1992) ; méthanol pour la trifluraline, la métamitron et le métazachlore ; 10 % HCl 0,1 M / 90 % acétonitrile (Volume / Volume) pour la sulcotrione.

**Tableau 2** - Principales caractéristiques physico-chimiques des herbicides.**Table 2** - Main physico-chemical characteristics of herbicides.

Herbicide	Formule semi-développée	Masse molaire (g/mol)	pKa	Solubilité dans l'eau (mg/l)	Pression de vapeur (mPa)
Glyphosate		169,1	<2 ; 2,6 ; 5,6 ; 10,6 [1]	12000	Négligeable
Trifluraline		335,3		0,22	9,500
Métazachlore		277,8		430	0,0490
Métamitron		202,2		1700	0,0860
Sulcotrione		328,8	3,1 [2]	165 [2]	0,0053

[1] Sprankle et al. (1975)

[2] Données fournies par Zeneca

Des expériences préalables ont été réalisées pour optimiser l'extraction et calculer les rendements de récupération. Les sols, transférés dans des tubes à centrifuger et additionnés du solvant correspondant, sont agités par retournement à l'obscurité et à 20 (±2) °C puis centrifugés pendant 15 minutes à 1 800 × g. Les quantités d'herbicides non extractibles correspondent à la radioactivité restant dans le sol après les quatre extractions.

## Analyses chimiques

La radioactivité est quantifiée par scintillation en milieu liquide (Tri-Carb 2100 TR, Packard Instruments, Meriden, CT, USA). Pour chaque extrait, une partie aliquote de 0,5ml est prélevée et additionnée de 4ml de liquide scintillant (Ultima Gold XR, Packard Instruments). Les pièges de soude et la laine de verre imbibée de paraffine ont, quant à eux, été mélangés à 10ml de liquide scintillant. La radioactivité contenue dans les échantillons de sols solides, qui contiennent les résidus non-extractibles, a été déterminée par combustion (3 répétitions de

150mg de sol sec pour chaque échantillon) (Sample Oxidizer 307, Packard Instruments).

Les analyses chromatographiques ont été réalisées pour tous les extraits. Dans le cas des extractions au CaCl<sub>2</sub>, les trois répétitions (pour un même herbicide, un même sol et une même température) ont été combinées afin d'obtenir une radioactivité suffisante. Les extraits de glyphosate ont été concentrés sous vide avec un évaporateur rotatif (Büchi, Flawil, Suisse) puis acidifiés à pH 2 avec H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Les extraits aqueux de trifluraline, métazachlore, métamitron et sulcotrione ont été concentrés avec une cartouche C18 Alltech (100mg) (Deerfield, IL, USA) et élués avec du méthanol. Pour la sulcotrione, ils ont été acidifiés à pH 2 avec HCl avant concentration sur la cartouche C18. Pour un même échantillon de sol (*i.e.* une répétition), les trois extraits successifs avec les solvants organiques ont été combinés (contrairement aux extraits aqueux, chacune des trois répétitions a donc été analysée séparément), concentrés par évaporation sous vide et filtrés avec une seringue pourvue d'un filtre en cellulose régénérée (0,45 µm, Alltech). Les analyses

chromatographiques ont été réalisées avec un système Waters (System controller 610, Autosampler 717 ; Milford, MA, USA) couplé à un détecteur de radioactivité (Flo-one A-500, Packard-Radiomatic). Le glyphosate a été analysé à l'aide d'une colonne Sax Adsorbosphere (Alltech, 5 µm, 250 × 4,6mm). La phase mobile est constituée de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> à 0,34g/l ajusté à pH 2,1 avec H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Les autres herbicides ont été analysés avec une colonne C18 Novapak (Waters, 5 µm, 250 × 4,6mm). Pour la trifluraline, le métazachlore et la métamitronne, l'analyse des extraits a été réalisée par chromatographie en phase inverse avec un gradient eau-méthanol optimisé. La sulcotrione et ses métabolites ont été analysés par chromatographie de « paires d'ions » avec un gradient optimisé d'eau-méthanol et chlorure de tétra-n-butylammonium 0,01 M comme contre-ion. Dans tous les cas, le flux de la phase mobile était égal à 1 ml/min et le volume injecté variait entre 100 et 700 µl selon le contenu en radioactivité et la nature du solvant.

## Analyse des données

Les cinétiques de minéralisation des herbicides ont été décrites avec un modèle d'ordre 1

$$C(t) = C_{\max} \times (1 - e^{-kt})$$

où C(t) est le pourcentage d'herbicide minéralisé au temps t, C<sub>max</sub> le pourcentage d'herbicide qui peut être potentiellement minéralisé, k la constante de vitesse de minéralisation (/jour) et t le temps (jour). Les valeurs de k et de C<sub>max</sub> ont été déterminées par régression non linéaire (algorithme de Marquardt-Levenberg, SigmaPlot, SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

Les significativités des effets du type de sol, du type d'herbicide et de la température ont été étudiées sur (1) les cinétiques de minéralisation des herbicides et les cinétiques de volatilisation de la trifluraline avec le test de Friedman ; les comparaisons multiples ont été faites avec le test de Wilcoxon associé à la correction de Bonferroni ; (2) le bilan du devenir des herbicides en fin d'incubation avec le test de Kruskal-Wallis ; dans ce cas, les comparaisons multiples ont été réalisées avec la méthode des contrastes. Tous les calculs ont été faits au seuil  $\alpha = 0,05$  avec le logiciel R (R Development Core Team, 2012).

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

### Minéralisation des herbicides

Les cinétiques de minéralisation des cinq herbicides ont deux allures différentes en fonction de la température, de l'herbicide et du sol (*figure 1*). Le plus souvent, la minéralisation se déroule en deux phases une première phase avec une vitesse de minéralisation élevée, suivie d'une seconde phase avec un ralentissement de la minéralisation. La minéralisation devient

asymptotique à partir de soixante jours en moyenne (*figure 1*). Dans d'autres cas, métazachlore et sulcotrione en particulier, les vitesses de minéralisation sont faibles et constantes pendant toute la durée de l'incubation, donnant des cinétiques quasiment linéaires.

Le modèle cinétique d'ordre 1 suppose que la minéralisation ne dépend que des quantités d'herbicides présentes dans le sol et ne prend pas en compte la croissance microbienne. Cette approximation est acceptable pour les cinq herbicides étudiés puisque leur minéralisation se produit probablement par co-métabolisme (Shelton et Doherty, 1997 ; Forlani *et al.*, 1999 ; Bellinaso *et al.*, 2004 ; Mamy *et al.*, 2005).

Dans le cas du glyphosate, le modèle d'ordre 1 sous-estime les quantités qui peuvent être potentiellement minéralisées à 28 °C et 18 °C puisqu'après 5 mois, les quantités minéralisées observées sont supérieures à C<sub>max</sub> (*tableau 3 et figure 1*). La minéralisation serait probablement mieux décrite avec un modèle bi-exponentiel supposant l'existence de deux compartiments différents, chacun affecté d'une cinétique d'ordre 1. Une hypothèse pour justifier ce type de modèle bi-exponentiel consiste à considérer que les deux compartiments correspondent au pesticide en solution et au pesticide adsorbé (Nomura et Hilton, 1977 ; Eberbach, 1998). A 4 °C, la minéralisation est en revanche parfaitement décrite par le modèle exponentiel, ce qui indique qu'un seul compartiment contribue à la minéralisation du glyphosate (Eberbach, 1998).

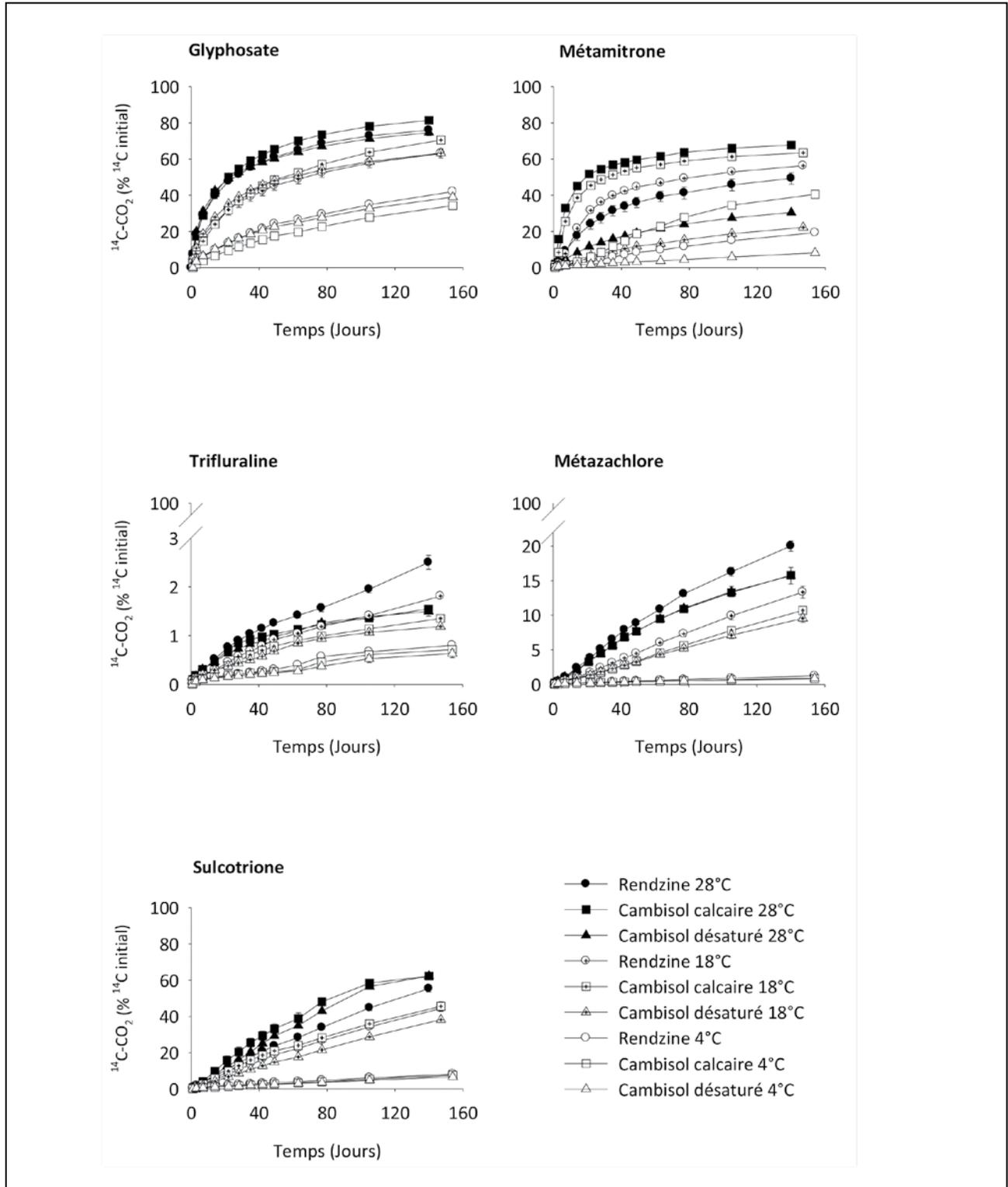
La minéralisation de la trifluraline ainsi que celle de la métamitronne et celle de la sulcotrione sont bien décrites par des cinétiques d'ordre 1 (*tableau 3*). Cependant, pour la sulcotrione dans la Rendzine à 28 °C et dans le Cambisol désaturé à 28 °C et 18 °C ainsi que pour le métazachlore à 18 °C, C<sub>max</sub> a dû être posée égale à 100 % (*tableau 3*). En effet, la minéralisation du métazachlore suit une cinétique d'ordre 1 à 28 °C et 4 °C (*tableau 3*), mais à 18 °C, la minéralisation semble plutôt linéaire et est mal décrite avec le modèle exponentiel (*figure 1, tableau 3*).

Pour tous les herbicides, sauf pour la métamitronne dans la Rendzine, la diminution de la température entraîne une diminution de la minéralisation sans apparition de phase de latence ( $p < 0,0001$ ) (*figure 1 et tableau 3*). La minéralisation étant un processus essentiellement microbien, la vitesse de minéralisation décroît avec la température à cause du ralentissement de l'activité des microorganismes (Alexander, 1981 ; Calvet *et al.*, 2005). D'autre part, la rétention des herbicides augmente lorsque la température diminue ce qui réduit leur biodisponibilité (Calvet *et al.*, 2005).

Le glyphosate est l'herbicide le plus fortement minéralisé dans les trois sols et aux trois températures sauf dans le Cambisol calcaire à 4 °C. Après cinq mois d'incubation, sa minéralisation varie entre 74 et 81 % à 28 °C, 63 et 70 % à 18 °C et 34 et 42 % à 4 °C (*tableau 3*). La diminution du taux de minéralisation du glyphosate avec la température a également été observée par Eberbach (1998). D'une manière générale, la minéralisation du

**Figure 1** - Cinétiques de minéralisation du glyphosate, de la trifluraline, du métazachlore, de la métamitron et de la sulcotrione dans la Rendzine, le Cambisol calcaire et le Cambisol désaturé à 28 °C, 18 °C et 4 °C.

**Figure 1** - Mineralization kinetics of glyphosate, trifluralin, metazachlor, metamitron and sulcotrione in the Rendzina, the calcareous Cambisol and the desaturated Cambisol at 28 °C, 18 °C and 4 °C.



glyphosate dépend de sa rétention dans les sols lorsque le pH devient acide, que le contenu en phosphate diminue et que les contenus en cuivre et fer augmentent, la rétention augmente et la minéralisation diminue (*tableaux 1, 3 et 4*) (Sprankle *et al.*, 1975 ; Nomura et Hilton, 1977 ; Moshier et Penner, 1978 ; Eberbach, 1998 ; Morillo *et al.*, 2000 ; Mamy *et al.*, 2005). Cependant, bien que dans le Cambisol calcaire la rétention du glyphosate soit plus importante que dans la Rendzine (Mamy et Barriuso, 2005), la minéralisation y est supérieure ( $p < 0,0001$ ). Ce résultat peut être dû à la teneur en manganèse élevée du sol de Dijon (Cambisol calcaire) car cet élément est un cofacteur de la conversion microbienne du glyphosate en  $\text{CO}_2$  (Moshier et Penner, 1978).

La métamitronne est fortement minéralisée dans le Cambisol calcaire. La minéralisation y atteint 40,5 % à 4°C et est supérieure à celle du glyphosate (*tableau 3*). Ceci peut résulter d'un phénomène de dégradation accélérée après des applications répétées de métamitronne un an et quatre ans avant le prélèvement des échantillons de sol (Arbeli et Fuentes, 2007). Dans la Rendzine, la minéralisation est plus élevée à 18°C qu'à 28°C. L'activité des microorganismes spécifiques est probablement optimale dans ce sol à 18°C, puisque cette température est plus proche des températures du site de Châlons-en-Champagne. Pour cet herbicide, il n'y a pas de lien entre les quantités minéralisées et la rétention (*tableaux 3 et 4*).

La minéralisation du métazachlore et la minéralisation de la sulcotrione diminuent fortement avec la température ( $p < 0,0001$ ) pour le métazachlore, la minéralisation est dix fois plus faible à 18°C qu'à 28°C et vingt fois plus faible à 4°C qu'à 28°C et pour la sulcotrione, elle est dix fois plus faible à 4°C qu'à 28°C. La minéralisation de la trifluraline, déjà mineure à 28°C, diminue avec la température ( $p < 0,0001$ ) et est inférieure à 1 % à 4°C dans les trois sols après 154 jours. Dans le cas de la sulcotrione, les quantités minéralisées diminuent lorsque la rétention augmente la plus faible est observée dans le sol Cambisol désaturé à pH acide (*tableaux 1, 3 et 4*) (Mamy et Barriuso, 2005). En revanche, dans les cas de la trifluraline et du métazachlore, les quantités minéralisées augmentent avec la rétention (*tableaux 3 et 4*) elles sont plus importantes dans la Rendzine qui a le contenu le plus élevé en carbone organique (*tableau 1*). En effet, bien que le carbone organique favorise la rétention des pesticides, il est aussi une source de nutriments pour les microorganismes et il stimule ainsi leur activité de dégradation (Benoit et Barriuso, 1997 ; Abdelhafid *et al.*, 2000). Ce résultat a été observé pour d'autres herbicides (Barriuso *et al.*, 1997).

La minéralisation étant le processus ultime de dégradation d'un pesticide, la diminution de la température ralentit l'élimination des herbicides et augmente les risques de dispersion dans l'environnement. L'effet de la température sur la dégradation des herbicides (extractibilité et formation des métabolites) et sur la volatilisation de la trifluraline, décrit

dans les paragraphes suivants, permettra d'approfondir ce résultat.

## Volatilisation de la trifluraline

La *figure 2* représente les cinétiques de volatilisation de la trifluraline dans les trois sols aux trois températures. Dans tous les cas, la diminution de la température entraîne une diminution importante de la volatilisation ( $p < 0,0001$ ), ce qui correspond aux observations de plusieurs auteurs (Savage et Barrentine, 1969 ; Hollist et Foy, 1971 ; Bedos *et al.*, 2006).

Après cinq mois d'incubation, les quantités de trifluraline volatilisées sont plus faibles à 18°C qu'à 28°C et sont divisées par quatre lorsque la température décroît de 28°C à 4°C. La volatilisation de la trifluraline reste néanmoins élevée à basse température (13 à 25 %, *tableau 5*) parce que la trifluraline a été appliquée à la surface des sols sans y être incorporée et que l'humidité des sols était élevée (Hollist et Foy, 1971 ; Swann et Behrens, 1972 ; Hollingsworth, 1980 ; Bedos *et al.*, 2006).

Quelle que soit la température, la volatilisation la plus importante est toujours observée dans le Cambisol désaturé, suivi du Cambisol calcaire puis de la Rendzine ( $p < 0,001$ ). En effet, la volatilisation diminue lorsque la teneur en carbone organique des sols augmente (*tableaux 1, 4 et 5*) car celui-ci favorise la rétention de la trifluraline (Hollist et Foy, 1971 ; Tavares et Rezende, 1998 ; Mamy et Barriuso, 2005 ; Mamy *et al.*, 2005).

La diminution de la volatilisation de la trifluraline avec la température entraîne une réduction des risques de contamination de l'air. Mais la fraction non volatilisée reste dans le sol, en particulier sous forme extractible (*cf. section suivante*), et les risques de contamination de l'environnement par cette voie augmentent.

## Bilan du devenir des herbicides après cinq mois d'incubation

La *figure 3* présente la répartition de la radioactivité entre les quantités d'herbicide minéralisé, extractible avec la solution aqueuse de  $\text{CaCl}_2$  et extractible et non extractible avec les différents solvants organiques après 5 mois d'incubation. Les quantités des métabolites extractibles y sont aussi rapportées.

### Quantités d'herbicides et de leurs métabolites potentiellement disponibles

L'extractibilité des résidus peut être utilisée comme indicateur de la disponibilité des herbicides les résidus solubles dans l'eau seront les résidus directement disponibles, tandis que tous les résidus extractibles restent potentiellement disponibles. Pour les cinq herbicides, sauf pour la métamitronne dans le Cambisol calcaire entre 28°C et 18°C, la diminution de la température entraîne une augmentation des quantités de  $^{14}\text{C}$  extractible ( $p < 0,005$ ) (*figure 3*), comme cela a été fréquemment

**Tableau 3** - Pourcentages de glyphosate, trifluraline, métazachlore, métamitron et sulcotrione minéralisés après 5 mois d'incubation (cf.) à 28 °C, 18 °C et 4 °C dans les trois sols (Rendzine, Cambisol calcaire, Cambisol désaturé) et coefficients d'ajustement des cinétiques de minéralisation selon une cinétique d'ordre 1 ( $C_{max}$  quantité maximale d'herbicide potentiellement minéralisée, k constante de minéralisation).  
**Table 3** - Percents of mineralized glyphosate, trifluralin, metazachlor, metamitron and sulcotrione after 5 months of incubation (cf.) at 28 °C, 18 °C and 4 °C in three soils (Rendzina, calcareous Cambisol, desaturated Cambisol) and coefficients of mineralization kinetics according to first-order kinetic ( $C_{max}$  maximum amount of mineralized herbicide, k rate of mineralization).

Herbicide	Sol	Température (°C)	Observation	Modélisation		
			cf. (%)	$C_{max}$ (%)	k (/jour)	$r^2$
Glyphosate	Rendzine	28	75,9 ± 1,3	64,4 ± 0,9	0,072 ± 0,003	0,95
		18	63,0 ± 2,5	58,8 ± 1,4	0,033 ± 0,002	0,96
		4	41,9 ± 0,4	44,5 ± 1,0	0,015 ± 0,000	0,99
	Cambisol calcaire	28	81,3 ± 0,3	70,8 ± 0,9	0,063 ± 0,002	0,97
		18	70,4 ± 2,2	67,9 ± 1,1	0,027 ± 0,001	0,98
		4	34,2 ± 0,5	40,7 ± 0,9	0,011 ± 0,000	0,99
	Cambisol désaturé	28	74,6 ± 1,8	62,0 ± 0,8	0,091 ± 0,003	0,95
		18	63,2 ± 1,1	58,3 ± 1,0	0,040 ± 0,002	0,97
		4	38,9 ± 0,2	39,7 ± 0,9	0,017 ± 0,000	0,98
Trifluraline	Rendzine	28	2,5 ± 0,1	2,6 ± 0,0	0,013 ± 0,000	0,98
		18	1,8 ± 0,0	2,3 ± 0,0	0,009 ± 0,000	0,99
		4	0,8 ± 0,0	1,3 ± 0,1	0,006 ± 0,000	0,97
	Cambisol calcaire	28	1,5 ± 0,0	1,4 ± 0,0	0,030 ± 0,001	0,97
		18	1,3 ± 0,0	1,5 ± 0,0	0,014 ± 0,000	0,99
		4	0,7 ± 0,0	1,2 ± 0,2	0,005 ± 0,001	0,94
	Cambisol désaturé	28	1,5 ± 0,0	1,4 ± 0,0	0,026 ± 0,001	0,97
		18	1,1 ± 0,0	1,3 ± 0,0	0,014 ± 0,000	0,98
		4	0,6 ± 0,0	1,0 ± 0,2	0,005 ± 0,001	0,93
Métazachlore	Rendzine	28	20,0 ± 0,7	40,9 ± 1,7	0,005 ± 0,000	0,99
		18	13,3 ± 0,8	100,0 ± 47,7	0,010 ± 0,005	0,99
		4	1,2 ± 0,1	2,1 ± 0,2	0,005 ± 0,001	0,98
	Cambisol calcaire	28	15,7 ± 0,2	26,2 ± 0,9	0,007 ± 0,000	0,99
		18	10,7 ± 0,2	100,0 ± 56,4	0,007 ± 0,004	0,99
		4	0,8 ± 0,0	0,94 ± 0,0	0,011 ± 0,001	0,96
	Cambisol désaturé	28	15,7 ± 1,1	25,1 ± 0,9	0,007 ± 0,003	0,99
		18	9,5 ± 0,6	100,0 ± 64,9	0,001 ± 0,000	0,99
		4	0,8 ± 0,0	1,1 ± 0,1	0,010 ± 0,001	0,96

Herbicide	Sol	Température (°C)	Observation	Modélisation		
			cf. (%)	C <sub>max</sub> (%)	k (/jour)	r <sup>2</sup>
Métamitron	Rendzine	28	49,2 ± 3,2	47,1 ± 0,8	0,031 ± 0,001	0,97
		18	56,2 ± 0,3	54,6 ± 0,8	0,035 ± 0,001	0,98
		4	19,3 ± 0,6	33,9 ± 2,2	0,005 ± 0,000	0,99
	Cambisol calcaire	28	67,7 ± 1,8	60,8 ± 0,4	0,097 ± 0,002	0,98
		18	63,4 ± 0,8	59,3 ± 0,6	0,065 ± 0,002	0,98
		4	40,5 ± 1,0	73,6 ± 7,6	0,005 ± 0,000	0,98
	Cambisol désaturé	28	30,5 ± 0,2	30,3 ± 0,3	0,021 ± 0,000	0,99
		18	22,2 ± 0,4	25,7 ± 0,6	0,012 ± 0,000	0,99
		4	8,1 ± 0,3	12,8 ± 1,2	0,006 ± 0,000	0,97
Sulcotrione	Rendzine	28	55,9 ± 1,8	100,0 ± 2,9	0,005 ± 0,000	0,99
		18	44,4 ± 1,6	90,3 ± 5,4	0,004 ± 0,000	0,99
		4	8,1 ± 0,2	12,1 ± 0,7	0,006 ± 0,000	0,98
	Cambisol calcaire	28	62,2 ± 0,3	90,0 ± 3,6	0,009 ± 0,000	0,98
		18	45,5 ± 2,6	71,4 ± 3,7	0,006 ± 0,000	0,99
		4	7,5 ± 0,3	25,2 ± 4,0	0,002 ± 0,000	0,99
	Cambisol désaturé	28	62,3 ± 0,6	100,0 ± 4,5	0,006 ± 0,000	0,99
		18	38,1 ± 0,6	100,0 ± 4,6	0,003 ± 0,000	0,99
		4	6,6 ± 0,2	13,1 ± 1,2	0,004 ± 0,000	0,99

observé pour les pesticides (Mervosh *et al.*, 1995 ; Bromilow *et al.*, 1999 ; Höllrigl-Rosta *et al.*, 1999 ; Cupples *et al.*, 2000). L'absence d'effet de la température observée par Stenrod *et al.* (2005) est probablement due à la faible gamme de variation étudiée (-5 °C et 5 °C). A 4 °C, après cinq mois d'incubation, tous les herbicides, sauf la sulcotrione, ont été détectés dans les extraits des sols indiquant que la dégradation des herbicides est ralentie par la baisse de la température (figure 3). D'autre part, la quantité de métabolites extractibles augmente aussi lorsque la température diminue ( $p < 0,005$ ). Cette augmentation semble être due à un ralentissement ou à un blocage des voies de dégradation conduisant à la minéralisation.

Dans les trois sols, les quantités d'herbicides extractibles diminuent dans le sens trifluraline > métamitron > glyphosate > métazachlore > sulcotrione, quelle que soit la température.

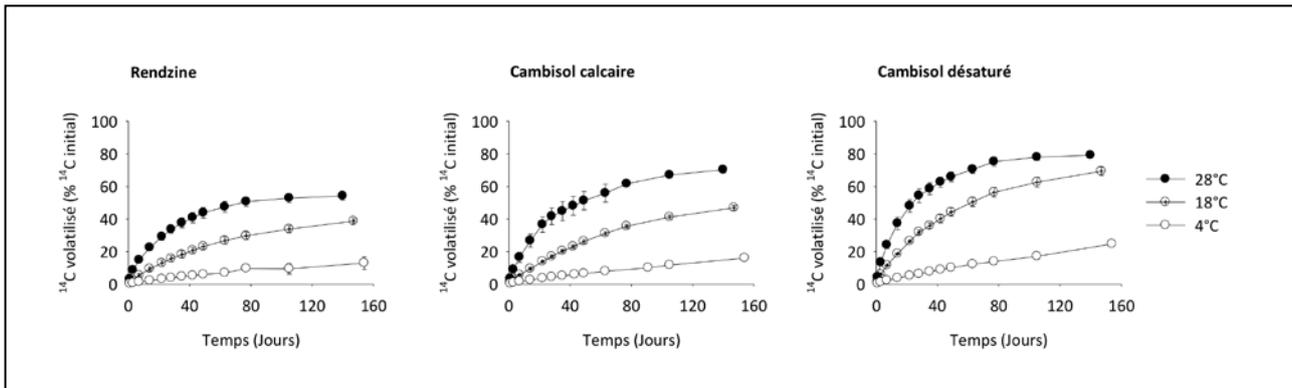
Les quantités de glyphosate extractibles sont égales à zéro à 28 °C et 18 °C après cinq mois d'incubation, en revanche, à 4 °C, elles représentent respectivement 2,6 % ; 7,5 % et 18 % du glyphosate initial dans la Rendzine, le Cambisol calcaire et le Cambisol désaturé. Dans le Cambisol désaturé à pH

acide, l'adsorption élevée du glyphosate est une protection contre la dégradation par les microorganismes, ce qui conduit à une augmentation importante des quantités extractibles avec NH<sub>4</sub>OH. L'augmentation des quantités extractibles de glyphosate lorsque la température diminue a aussi été observée par Eberbach (1999).

Parmi les cinq herbicides, la trifluraline présente les quantités extractibles les plus élevées en fin d'incubation. Ces quantités sont multipliées par six dans le Cambisol calcaire et par dix dans la Rendzine et le Cambisol désaturé lorsque la température diminue de 28 °C à 4 °C. A 4 °C, elles sont supérieures à 63 % dans les trois sols. Les fractions extractibles de métamitron sont similaires à 28 °C et 18 °C, en revanche, elles augmentent de 5 à 29 % dans la Rendzine, de 3 à 12 % dans le Cambisol calcaire et de 20 à 57 % dans le Cambisol désaturé entre 28 °C et 4 °C. Les quantités de métazachlore extractibles varient peu avec la température et celles de sulcotrione restent négligeables dans les trois sols quelle que soit la température.

L'analyse chromatographique des extraits a permis de détecter une série de métabolites. Les plus importants, souvent

**Figure 2** - Cinétiques de volatilisation de la trifluraline à 28 °C, 18 °C et 4 °C dans la Rendzine, le Cambisol calcaire et le Cambisol désaturé.  
**Figure 2** - Volatilization kinetics of trifluralin at 28 °C, 18 °C and 4 °C in the Rendzina, the calcareous Cambisol and the desaturated Cambisol.



**Tableau 4** - Coefficients d'adsorption Kd (l/kg) du glyphosate, de la trifluraline, du métazachlore, de la métamitron et de la sulcotrione dans la Rendzine, le Cambisol calcaire et le Cambisol désaturé (Mamy et Barriuso, 2005).

**Table 4** - Adsorption coefficients Kd (L/kg) of glyphosate, trifluralin, metazachlor, metamitron and sulcotrione in the Rendzina, the calcareous Cambisol and the desaturated Cambisol (Mamy and Barriuso, 2005).

	Rendzine	Cambisol calcaire	Cambisol désaturé
<b>Glyphosate</b>	31,1	38,7	427
<b>Trifluraline</b>	46,0	38,0	32,5
<b>Métazachlore</b>	1,35	1,07	0,99
<b>Métamitron</b>	1,29	1,05	0,90
<b>Sulcotrione</b>	0,34	0,38	1,26

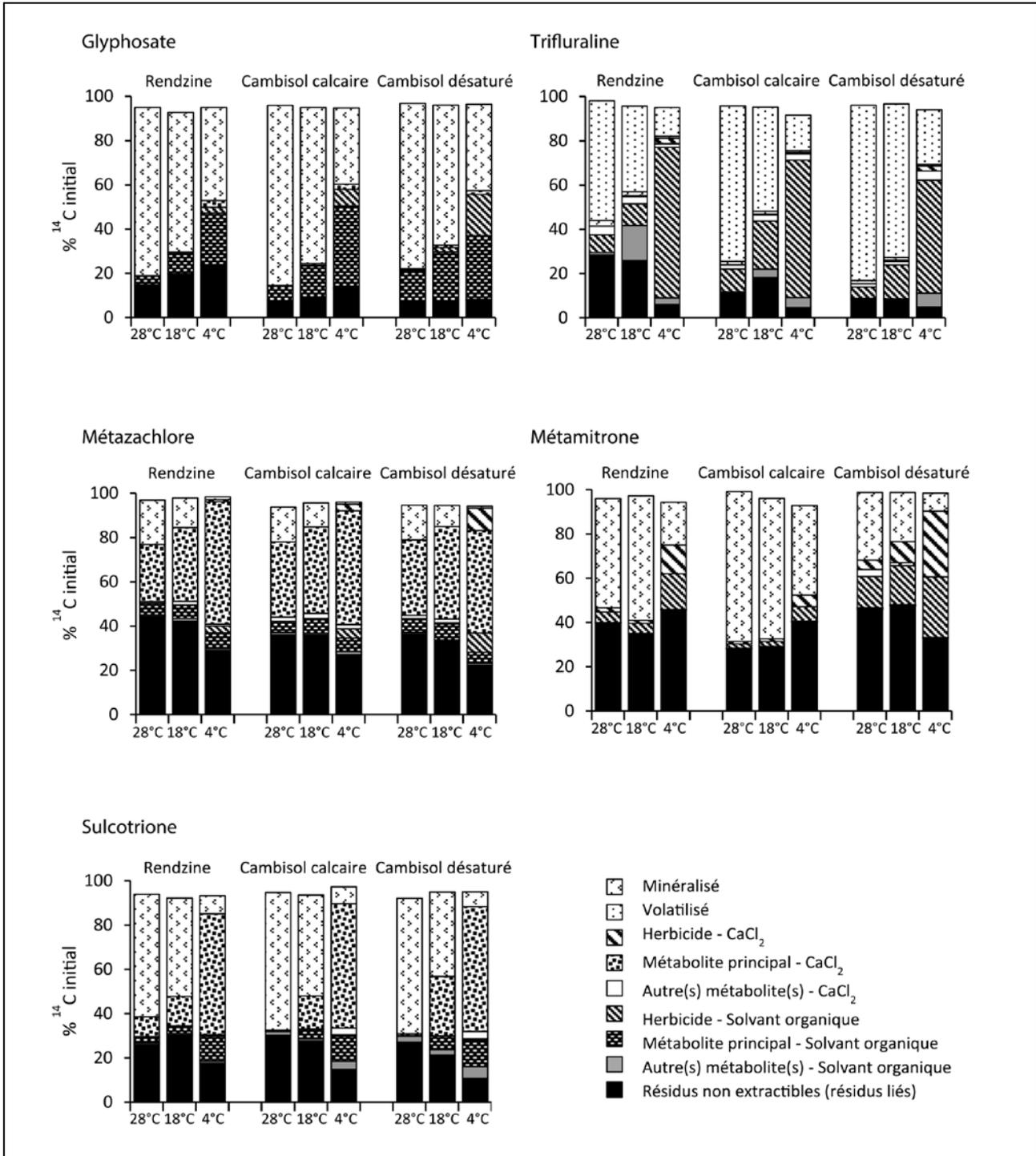
**Tableau 5** - Pourcentages de trifluraline volatilisée après 5 mois d'incubation à 28 °C, 18 °C et 4 °C dans les trois sols (Rendzine, Cambisol calcaire, Cambisol désaturé).

**Table 5** - Percents of volatilized trifluralin after 5 months of incubation at 28 °C, 18 °C and 4 °C in three soils (Rendzina, calcareous Cambisol, desaturated Cambisol).

Sol	Température (°C)	Trifluraline volatilisée (% <sup>14</sup> C initial)
Rendzine	28	54,1 ± 2,5
	18	38,7 ± 1,6
	4	12,9 ± 3,8
Cambisol calcaire	28	70,2 ± 1,9
	18	46,8 ± 1,3
	4	16,3 ± 1,2
Cambisol désaturé	28	79,1 ± 1,6
	18	69,3 ± 2,6
	4	24,7 ± 1,1

**Figure 3** - Devenir du glyphosate, de la trifluraline, du métazachlore, de la métamitron et de la sulcotrione après 5 mois d'incubation à 28°C, 18°C et 4°C dans la Rendzine, le Cambisol calcaire et le Cambisol désaturé distribution de la radioactivité initiale entre les différentes fractions analysées et entre les herbicides et leurs métabolites.

**Figure 3** - Fate of glyphosate, trifluralin, metazachlor, metamitron and sulcotrione after 5 months of incubation at 28°C, 18°C and 4°C in the Rendzina, the calcareous Cambisol and the desaturated Cambisol distribution of the initial radioactivity between the different analyzed fractions and between herbicides and their metabolites.



retrouvés, sont l'AMPA (acide aminométhylphosphonique) provenant de la dégradation du glyphosate, le CMBA (acide 2-chloro-4-méthylsulfonylbenzoïque) provenant de la sulcotrione et un métabolite non identifié (M4) issu de la dégradation du métazachlore (Mamy *et al.*, 2005). A 28 °C et 18 °C, les quantités de métabolites extractibles diminuent dans le sens M4 >AMPA =CMBA et, à 4 °C, dans le sens CMBA >M4 >AMPA. Les quantités d'AMPA extractibles sont multipliées par six dans la Rendzine (4,3 % à 28 °C et 26,3 % à 4 °C) et le Cambisol calcaire (7,1 % à 28 °C et 39,3 % à 4 °C) et par deux dans le Cambisol désaturé (14,4 % à 28 °C et 30,4 % à 4 °C) lorsque la température diminue de 28 °C à 4 °C. Ce résultat rejoint ceux d'Eberbach (1999). Les pourcentages de M4 extraits sont très élevés aux trois températures au minimum 31 % à 28 °C dans la Rendzine et au maximum 62 % à 4 °C dans ce même sol. Dans le cas du CMBA, les quantités extractibles augmentent aussi fortement lorsque la température diminue ( $p < 0,005$ , cf. ci-dessus) et atteignent plus de 65 % dans les trois sols à 4 °C. Pour la trifluraline, à 4 °C, entre 5 et 10 % de métabolites non identifiés sont détectés dans les trois sols et, pour la métamitronne, aucun métabolite n'est observé quels que soit la température et le type de sol.

La diminution de la température entraîne une réduction de la dégradation avec une préservation des herbicides et une augmentation des quantités de métabolites extractibles qui semble résulter de la diminution de la minéralisation. Ces métabolites seront probablement très persistants à faible température, augmentant les risques de contamination du milieu par ces molécules. La disponibilité des herbicides et de leurs métabolites, estimée par les quantités extractibles, est directement reliée aux risques de lixiviation. Ainsi, ces derniers augmentent à basse température. Le glyphosate présente, sous cet aspect, des risques plus élevés de contamination de l'environnement que le métazachlore et la sulcotrione, en particulier dans les sols à pH acides.

### Stabilisation des herbicides par formation de résidus non extractibles

L'effet de la température du sol sur la quantité de résidus non extractibles après cinq mois d'incubation dépend également de l'herbicide et du type de sol. A 28 °C et 18 °C, le glyphosate présente les quantités de résidus non extractibles les plus faibles. En revanche, à 4 °C, la proportion des résidus liés du glyphosate est plus importante que celle de la trifluraline et que celle de la sulcotrione dans la Rendzine (*figure 3*). Dans la plupart des cas, sauf pour la métamitronne à 28 °C et 18 °C et pour la sulcotrione à 28 °C, c'est dans la Rendzine que la quantité de résidus liés formés est la plus importante. En effet, parmi les trois sols étudiés, la Rendzine a le contenu en carbone organique le plus élevé, or celui-ci joue un rôle clé dans la formation des résidus liés (*tableau 1*) (Loiseau et Barriuso, 2002 ; Barriuso *et al.*, 2008).

Dans les cas du glyphosate et de la métamitronne dans la Rendzine et le Cambisol calcaire, contrairement à ce qui est

observé pour de nombreux pesticides (Barriuso *et al.*, 2008), la quantité de résidus liés augmente lorsque la température diminue ( $p < 0,005$ ) (*figure 3*). Les résultats obtenus par Mamy *et al.* (2005) ont montré que la formation de résidus non extractibles du glyphosate ne résulte pas de mécanismes de stabilisation irréversibles car leur proportion relative diminue au cours du temps. La formation de ces résidus est probablement liée à des mécanismes d'adsorption faiblement réversibles, couplés à la diffusion dans la microporosité du sol.

Inversement, dans le cas de la trifluraline, du métazachlore, de la sulcotrione et de la métamitronne dans le Cambisol désaturé, les quantités de résidus non extractibles sont plus élevées à 28 °C qu'à 18 °C et 4 °C ( $p < 0,005$ ) (*figure 3*). Pour la sulcotrione, les quantités de résidus liés varient entre 30 % à 28 °C et 10 à 17 % à 4 °C et pour le métazachlore, ils varient entre 36 et 44 % à 28 °C et entre 22 et 28 % à 4 °C. La dégradation de la trifluraline conduit aux quantités de résidus liés les plus faibles parmi les cinq herbicides étudiés, en particulier à 4 °C où ils restent inférieurs à 6 %.

Dans la majeure partie des cas, sauf pour le glyphosate, la quantité de résidus non extractibles semble corrélée à la minéralisation (les deux diminuent en parallèle). En effet, les résidus non extractibles sont en partie formés par l'activité des microorganismes (Barriuso *et al.*, 2008). Ainsi, le ralentissement de l'activité biologique en raison de la baisse de la température provoque une diminution de la minéralisation et de la quantité de résidus non extractibles. Cette diminution peut aussi résulter de la limitation de la diffusion des herbicides dans la matière organique dont la densité et la rigidité augmentent à faible température (Hulscher et Cornelissen, 1996).

La formation des résidus non extractibles est généralement considérée comme une voie de dissipation des herbicides mais ils sont toujours présents dans le sol et peuvent représenter un risque de contamination à plus long terme. A faible température, ce risque diminue pour la trifluraline, le métazachlore et la sulcotrione, mais comme parallèlement les quantités extractibles augmentent, les risques de dispersion à court terme des herbicides et de leurs métabolites augmentent.

## CONCLUSION

Dans le contexte de l'introduction de cultures génétiquement modifiées résistantes au glyphosate, le devenir du glyphosate dans trois sols (Rendzine, Cambisol calcaire, Cambisol désaturé) et à trois températures (28 °C, 18 °C, 4 °C) a été comparé au devenir de quatre herbicides fréquemment utilisés dans les mêmes cultures non génétiquement modifiées. Les résultats ont montré que lorsque la température diminue, la minéralisation, qui est essentiellement un processus microbien, décroît en raison de la réduction de l'activité des microorganismes. Le glyphosate reste néanmoins l'herbicide le plus fortement minéralisé sauf

dans le Cambisol calcaire à 4°C où la minéralisation de la métamitronne est supérieure. La quantité de CO<sub>2</sub> formé varie en fonction des caractéristiques des sols, pH et teneur en carbone organique notamment, et de l'intensité de l'adsorption des herbicides la biodisponibilité des herbicides est réduite quand l'adsorption est élevée.

D'autre part, lorsque la température diminue, la proportion de résidus d'herbicides restant extractibles augmente parce que la dégradation des herbicides ralentit. A 4°C, après 5 mois d'incubation, tous les herbicides, sauf la sulcotrione, ont été détectés. En particulier, jusqu'à 18% du glyphosate initialement apporté ont été extraits du Cambisol désaturé. Cet herbicide est donc susceptible de persister longtemps dans les sols. En fin d'incubation, les quantités résiduelles des métabolites majeurs du glyphosate (AMPA), de la sulcotrione (CMBA) et du métazachlore (non identifié) sont largement supérieures à 4°C qu'à 18°C et 28°C. La disponibilité des herbicides et de leurs métabolites, estimée par les quantités extractibles, est directement reliée aux risques de lixiviation. Ainsi, ces derniers augmentent à basse température.

La formation de résidus non extractibles augmente lorsque la température diminue dans les cas du glyphosate et de la métamitronne. Or, ces résidus peuvent conduire à des risques différés de contamination de l'environnement. Pour la trifluraline, le métazachlore et la sulcotrione, les quantités de résidus non extractibles décroissent avec la température mais l'augmentation parallèle des résidus extractibles accroît le risque à court terme de dispersion de ces herbicides et de leurs métabolites.

La volatilisation de la trifluraline diminue avec la température de même que le risque de contamination de l'air. Mais, par conséquent, les quantités de cet herbicide restant dans les sols, et en particulier les quantités extractibles, augmentent.

Ainsi, les risques de contamination de l'environnement par les herbicides augmentent fortement lorsque la température du sol diminue. Comparé aux herbicides sélectifs, le glyphosate est rapidement minéralisé, même à basse température, et présente donc moins de risques. Cependant, l'augmentation des quantités de résidus liés à faible température et la persistance de son métabolite (AMPA) dans les sols restreignent les bénéfices liés aux cultures résistantes au glyphosate, d'autant que ce métabolite est déjà fréquemment détecté dans les eaux (Commissariat général au développement durable, 2011).

## REMERCIEMENTS

Ces recherches ont été financées par l'INRA et le CETIOM ainsi que par les programmes «Organismes génétiquement modifiés et environnement» de l'INRA et «Impact des biotechnologies dans les agroécosystèmes» du CNRS. Les auteurs remercient également Dr Lionel Alletto (Institut National

Polytechnique de Toulouse - Ecole d'Ingénieurs de Purpan) pour ses commentaires constructifs.

## BIBLIOGRAPHIE

- Abdelhafid R., Houot S. et Barriuso E., 2000 - Dependence of atrazine degradation on C and N availability in adapted and non-adapted soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 389-401.
- Alexander M., 1981 - Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science*, 211, 132-138.
- Arbeli Z. et Fuentes C.L., 2007 - Accelerated biodegradation of pesticides an overview of the phenomenon, its basis and possible solutions ; and a discussion on the tropical dimension. *Crop Protection*, 26, 1733-1746.
- Aubin A.J. et Smith A.E., 1992 - Extraction of [14C]glyphosate from Saskatchewan soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1163-1165.
- Baer U. et Calvet R., 1999 - Fate of soil applied herbicides experimental data and prediction of dissipation kinetics. *Journal of Environmental Quality*, 28, 1765-1777.
- Barriuso E., Calvet R., Schiavon M. et Soulas G., 1996 - Les pesticides et les polluants organiques des sols. Transformations et dissipation. *Etude et Gestion des Sols*, 3 (4), 279-295 (Numéro spécial).
- Barriuso E., Houot S. et Serra-Witting C., 1997 - Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pesticide Science*, 49, 65-75.
- Barriuso E., Benoit P. et Dubus I.G., 2008 - Formation of pesticide nonextractable (bound) residues in soil magnitude, controlling factors and reversibility. *Environmental Science and Technology*, 42, 1845-1854.
- Bedos C., Rousseau-Djabri M.-F., Gabrielle B., Flura D., Durand B., Barriuso E. et Cellier P., 2006 - Measurement of trifluralin volatilization in the field relation to soil residue and effect of soil incorporation. *Environmental Pollution*, 144, 958-966.
- Bellinaso M. de L., Henriques J.A.P., Gaylarde C.C. et Greer C.W., 2004 - Genes similar to naphthalene dioxygenase genes in trifluralin-degrading bacteria. *Pest Management Science*, 60, 474-478.
- Benoit P. et Barriuso E., 1997 - Fate of <sup>14</sup>C-ring-labeled 2,4-D, 2,4-dichlorophenol and 4-chlorophenol during straw composting. *Biology and Fertility of Soils*, 25, 53-59.
- Beulke S. et Malkomes H.-P., 2001 - Effects of the herbicides metazachlor and dinoterb on the soil microflora and the degradation and sorption of metazachlor under different environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 33, 467-471.
- Borggaard O.K. et Gimsing A.L., 2008 - Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters a review. *Pest Management Science*, 64, 441-456.
- Bromilow R.H., Evans A.A. et Nicholls P.H., 1999 - Factors affecting degradation rates of five triazole fungicides in two soil types 1. Laboratory incubations. *Pesticide Science*, 55, 1129-1134.
- Calvet R., Barriuso E., Benoit P., Bedos C., Charnay M.P. et Coquet Y., 2005 - Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricoles, Paris, 637 p.
- Cerdeira A.L. et Duke S.O., 2006 - The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops a review. *Journal of Environmental Quality*, 35, 1633-1658.

- Champolivier J. et Messéan A., 1997 - Impact du colza transgénique dans les systèmes de culture étude du flux de gènes. *Oléagineux Corps gras Lipides*, 4, 111-113.
- Commissariat général au développement durable, 2011 - Bilan de présence des micropolluants dans les milieux aquatiques continentaux, période 2007-2009. *Études & documents*, 54, octobre 2011, 56 p.
- Cupples A.M., Sims G.K., Hultgren R.P. et Hart S.E., 2000 - Effect of soil conditions on the degradation of cloransulam-methyl. *Journal of Environmental Quality*, 29, 786-794.
- Darmency H., 2010 - Conséquences de l'utilisation des OGM sur l'usage des pesticides. *Oléagineux Corps gras Lipides*, 17, 1-5.
- Eberbach P., 1998 - Applying non-steady-state compartmental analysis to investigate the simultaneous degradation of soluble and sorbed glyphosate (N-(phosphonomethyl)glycine) in four soils. *Pesticide Science*, 52, 229-240.
- Eberbach P.L., 1999 - Influence of incubation temperature on the behavior of triethylamine-extractable glyphosate (N-phosphonomethylglycine) in four soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2459-2467.
- FAO, ISRIC, IUSS, 1998 - World Reference Base for Soil Resources. FAO, Rome, 161 p.
- Forlani G., Mangiagalli A., Nielsen E. et Suardi C.M., 1999 - Degradation of the phosphonate herbicide glyphosate in soil evidence for a possible involvement of unculturable microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 991-997.
- Gianessi L.P., 2005. Economic and herbicide use impacts of glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, 61, 241-245.
- Hollingsworth E.B., 1980 - Volatility of trifluralin from field soil. *Weed Science*, 28, pp. 224-228.
- Hollist R.L. et Foy C.L., 1971 - Trifluralin interactions with soil constituents. *Weed Science*, 19, 11-16.
- Höllrigl-Rosta A., Kreuzig R. et Bahadir M., 1999 - Investigations on the metabolic fate of prochloraz in soil under field and laboratory conditions. *Pesticide Science*, 55, 531-538.
- Hulscher T.E.M. et Cornelissen G., 1996 - Effect of temperature on sorption equilibrium and sorption kinetics of organic micropollutants - a review. *Chemosphere*, 32, 609-626.
- Jolley A.V., Johnstone P.K. et Bos J.A., 1990 - Factors influencing trifluralin persistence in soil a review. Proceedings of the 9<sup>th</sup> Australian Weeds Conference, Adelaide, South Australia, 6-10 August 1990.
- Jolley A.V. et Johnstone P.K., 1994 - Degradation of trifluralin in three Victorian soils under field and laboratory conditions. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 34, 57-65.
- Kleter G.A., Bhula R., Bodnaruk K., Carazo E., Felsot A.S., Harris C.A., Katayama A., Kuiper H.A., Racke K.D., Rubin B., Shevah Y., Stephenson G.R., Tanaka K., Unsworth J., Wauchope R.D. et Wong S.-S., 2007 - Review. Altered pesticide use on transgenic crops and the associated general impact from an environmental perspective. *Pest Management Science*, 63, 1107-1115.
- Loiseau L. et Barriuso E., 2002 - Characterization of the atrazine's bound (nonextractable) residues using fractionation techniques for soil organic matter. *Environmental Science and Technology*, 36, 683-689.
- Mamy L. et Barriuso E., 2005 - Glyphosate adsorption in soils compared to herbicides replaced with the introduction of glyphosate resistant crops. *Chemosphere*, 61, 844-855.
- Mamy L., Barriuso E. et Gabrielle B., 2005 - Environmental fate of herbicides trifluralin, metazachlor, metamitron and sulcotrione compared with that of glyphosate, a substitute broad spectrum herbicide for different glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, 61, 905-916.
- Mervosh T.L., Sims G.K. et Stoller E.W., 1995 - Clomazone fate in soil as affected by microbial activity, temperature, and soil moisture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 537-543.
- Morillo E., Undabeytia T., Maqueda C. et Ramos A., 2000 - Glyphosate adsorption on soils of different characteristics. Influence of copper addition. *Chemosphere*, 40, 103-107.
- Moshier L.J. et Penner D., 1978 - Factors influencing microbial degradation of <sup>14</sup>C-glyphosate to <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> in soil. *Weed Science*, 26, 686-691.
- Nomura N.S. et Hilton, H.W., 1977 - The adsorption and degradation of glyphosate in five Hawaiian sugarcane soils. *Weed Research*, 17, 113-121.
- Owen M.D.K. et Zelaya I.A., 2005 - Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Management Science*, 61, 301-311.
- Savage K.E. et Barrentine W.L., 1969 - Trifluralin persistence as affected by depth of soil incorporation. *Weed Science*, 17, 349-352.
- Shaner D.L., 2000 - The impact of glyphosate-tolerant crops on the use of other herbicides and on resistance management. *Pest Management Science*, 56, 320-326.
- Shelton D.R. et Doherty M.A., 1997 - A model describing pesticide bioavailability and biodegradation in soil. *Soil Science Society of America Journal*, 61, 1078-1084.
- Soulas G. et Fournier J.C., 1978 - La dégradation microbienne des pesticides. *Cultivar*, 107, 7-9.
- Sprankle P., Meggit W.F. et Penner D., 1975 - Adsorption, mobility and microbial degradation of glyphosate in the soil. *Weed Science*, 23, 229-234.
- Stenrod M., Eklo, O.M., Charnay M.-P. et Benoit P., 2005. Effect of freezing and thawing on microbial activity and glyphosate degradation in two Norwegian soils. *Pest Management Science*, 61, 887-898.
- Swann C.W. et Behrens R., 1972 - Phytotoxicity of trifluralin vapors from soil. *Weed Science*, 20, 143-146.
- Tavares M.C.H. et Rezende de O. M.O., 1998 - Effect of humic acid on the sorption of trifluralin by soils. *Journal of Environmental Science and Health*, B33, 749-767.
- Turner R., 2004 - The field-scale evaluation of herbicide-tolerant genetically modified crops conducted in the UK (1998-2003). *Journal of Commercial Biotechnology*, 10, 224-233.
- Vink J.P.M. et Van der Zee S.E.A.T.M., 1996 - Some physicochemical and environmental factors affecting transformation rates and sorption of the herbicide metamitron in soil. *Pesticide Science*, 46, pp. 113-119.
- Vischetti C., Marucchini C., Leita L., Ceccon P. et Giovanardi, R., 1997 - Soil behaviour of metamitron in laboratory and lysimeter studies. *Agronomie*, 17 (8), 367-373.
- Walker A. et Brown, P.A., 1985 - The relative persistence in soil of five acetanilide herbicides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 34, 143-149.
- Zimdahl R.L. et Gwynn S.M., 1977 - Soil degradation of three dinitroanilines. *Weed Science*, 25, 247-251.