
LISTE DES ABREVIATIONS

2,4-D : Acide 2,4-Dinitrophénol

AFNOR : Association Française de Normalisation

CAS : Chemical Abstracts Service

CILSS : Comité permanent des Inter-états de Lutte contre la Sécheresse dans le Sahel

COM : Commission des Communautés Européennes

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

DDD : Dichloro-Diphényl-Dichloroéthane

DDT : Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane

DPV : Direction de Protection des Végétaux

DT 50 : Durée de demie vie

FAO : Food and Agricultural Organization

HCH : Hexachlorocyclohexane

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

IFEN : Institut Français de l'Environnement

INRA : Institut Nationale de Recherche Agronomique

ISO : International Organization for Standardization

IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry

Koc : Coefficient de partage carbone/eau

LMR : Limite Maximale de Résidus

m.a : matière active

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OP : Organophosphorés

PAN : Pesticide Action Network

PCB : Polychlorobiphényles

PCP : Pentachlorophénol

PNUE : Programme des nations Unis pour l'Environnement

ppm : partie par million

SCyp : Sol incubé en présence de Cyperméthrine

SEndo : Sol incubé en présence d'Endosulfan

SMal : Sol incubé en présence de Malathion

LISTE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : Structure chimique des organochlorés : DDT et DDD

Figure 2 : Structure chimique d'un pesticide organophosphoré : le Fenthion

Figure 3 : Structure chimique d'un pyréthrinoïde : le Deltaméthrine

Figure 4 : Répartition des pesticides dans les Niayes en fonction des familles chimiques

Figure 5 : Processus impliqués dans le devenir des pesticides dans le sol

Figure 6 : Situation de la zone des Niayes de Dakar (Fall *et al*, 2004)

Figure 7 : Structure des pesticides retenus pour l'étude : a) endosulfan, b) cyperméthrine et c) malathion

Figure 8 : Schéma globaux de l'extraction des résidus de pesticides dans le sol

Figure 9 : Effet des pesticides sur la minéralisation du carbone.

Figure 10 : Flux de CO₂ libéré pendant une période d'incubation de 30 jours.

Figure 11 : Quantité CO₂ totale libérée par la minéralisation du carbone des pesticides à 30 jours d'incubation.

Figure 12 : Effet des pesticides sur l'activité de la déshydrogénase pendant 30 jours d'incubation.

Figure 13 : Effets des pesticides sur l'activité de la fluorescéine diacétate

Figure 14 : Quantités des pesticides aux concentrations initiales de 15 mg.l⁻¹ (T0j) en comparaison avec les quantités de pesticides extraits après 30 jours (T30j) d'incubation dans le sol par HPLC.

Figure 15 : Relation entre le C-CO₂ minéralisé, l'activité de la déshydrogénase (DHA) et l'activité de la fluorescéine diacétate (FDA) durant une période d'incubation de 30 jours.

TABLEAU

Tableau I : Guide de la classification selon leur niveau de toxicité

Tableau II : Inventaire des pesticides utilisés au niveau de la zone d'étude.

Tableau III : Caractéristiques physico-chimiques des sols des Niayes de Pikine : horizon 0-20cm.

Tableau IV : Dispositif de la minéralisation du carbone en présence de substrats exogènes carbonés

Tableau V : Effet de l'apport de substrats carbonés sur la minéralisation du carbone des pesticides.

PLANCHES

Planche 1: Le site de la zone des Niayes de Pikine

Planche 2: Prélèvement d'échantillons composites de sol dans les horizons 0-20 cm

Planche 3 : Dispositif du suivi de la décomposition des pesticides. Constitution de microcosmes dans des bocaux placés à l'étuve 28°C.

Planche 4 : Dispositif de la minéralisation du carbone

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	5
1. Généralités sur les pesticides.....	6
1.1. Historique.....	6
1.2. Définition	6
1.3. Composition d'un pesticide.....	7
1.3.1. La matière active (m.a).....	8
1.3.2. La formulation.....	8
1.4. Classification.....	9
1.4.1. Classification selon l'ennemi ciblé.....	9
1.4.1.1. Les insecticides	9
1.4.1.2. Les herbicides	10
1.4.1.3. Les fongicides	10
1.4.1.4. Les nématicides.....	11
1.4.2. Classification selon la famille chimique.....	12
1.4.2.1. Les organochlorés	12
1.4.2.2. Les organophosphorés	13
1.4.2.3. Les Pyréthrinoïdes	14
1.4.3. Classification selon le niveau de toxicité.....	14
1.4.3.1. Cas des polluants organiques persistants (POPs).....	15
1.4.3.2. Cas des pesticides dits de consentement préalables en connaissances de cause (PIC) ...	16
1.5. L'utilisation des pesticides dans l'agriculture au Sénégal.....	16
1.5.1. Répartition selon la formulation et la nature chimique.....	17
1.5.2. Répartition selon la cible visée	18
2. Impact des pesticides sur la santé et l'environnement	18
2.1. Impact des pesticides sur la santé.....	18
2.2. Impact des pesticides sur l'environnement.....	19
2.3. Devenir des pesticides dans les sols	20
2.3.1. Les caractéristiques déterminant la dynamique des pesticides dans le sol et dans les eaux....	21
2.3.2. La dégradation des pesticides	24
2.3.2.1. La dégradation abiotique des pesticides.....	24
2.3.2.2. La biodégradation des pesticides	26
2.3.2.3. Les voies de la dégradation des pesticides par les microorganismes	28
2.3.3. L'effet des pesticides sur la microflore du sol.....	29
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES	31
1. Matériel	32
1.1. Zone d'étude	32
1.1.1. Présentation du site	32
1.1.2. Choix du site	32
1.1.3. Le sol.....	35
1.2. Caractérisation des pesticides retenus	35
1.2.1. L'endosulfan : (Endosulfan 350 EC ou calisulfan)	36
1.2.2. Cyperméthrine (Cysoft).....	36
1.2.3. Malathion	37
2. Méthode	38
2.1. Échantillonnage des sols	38
2.2. Dispositifs expérimentaux	40
2.2.1. Dispositif 1 : Suivi de la décomposition des pesticides	40

2.2.2. Dispositif 2 : Minéralisation du carbone.....	40
2.3. Analyses.....	41
2.3.1. Extraction des résidus de pesticides du sol.....	41
2.3.2. Analyse des pesticides résiduels.....	43
2.3.3. Mesure de la Minéralisation du carbone	43
2.3.4. Mesure des activités enzymatiques	44
2.3.4.1. L'activité de la déshydrogénase.....	44
2.3.4.2. L'activité de la fluorescéine diacétate (FDA).....	45
2.4. Analyses statistiques	45
CHAPITRE 3 : RESULTATS.....	46
1.1. Minéralisation du carbone	47
1.1.1. Minéralisation du carbone en présence de Pesticides	47
1.1.2. Minéralisation du carbone des pesticides en présence d'un substrat carboné exogène	50
1.2. Activités enzymatiques	53
1.2.1. Activité de la déshydrogénase	53
1.2.2. Activité de la Fluorescéine Diacétate	54
1.3. Dosage des pesticides par HPLC	55
1.4. Relation entre la minéralisation du carbone et les activités enzymatiques.....	55
CHAPITRE 4 : DISCUSSION	57
1.1. Dégradation des pesticides dans le sol	58
1.2. Impact des pesticides sur l'activité enzymatique	63
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	66
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	69
ANNEXES	81
Annexe 1 : méthode d'extraction des résidus de pesticides du sol	82
Annexe 2 : Activité de la Déshydrogénase	84
Annexe 3 : Protocole de la Fluorescéine Diacétate (FDA).....	85

INTRODUCTION

La zone des Niayes du Sénégal se caractérise par des conditions physiques et un contexte socio-économique favorables à des activités agropastorales intenses. Elle joue un rôle important dans la production horticole et polarise 80% de la production nationale (Cissé *et al.*, 2000). La seule région périurbaine de Dakar produit annuellement 35 000 à 40 000 tonnes de légumes représentant le quart de la production nationale (Diao, 2004).

La modernisation et l'intensification de la production agricole induisent une forte utilisation d'intrants chimiques et de pesticides comme facteur d'amélioration et de protection des rendements. Les pesticides utilisés dans la zone des Niayes sont très diversifiés tant sur les cibles visées que sur les familles chimiques. Des études récentes ont permis de répertorier plus de 122 noms commerciaux appartenant à 67 matières actives différentes avec des modes d'utilisation non maîtrisées (Ngom 1992 ; Cissé *et al.*, 2003 ; Fall *et al.*, 2004). L'usage abusif et incontrôlé des pesticides suscite de nombreuses inquiétudes sur l'environnement et la santé des populations. De nombreux travaux mettent en évidence une pollution réelle des eaux de surface et de la nappe phréatique entretenu par les phénomènes de lessivage et des infiltrations. Cela s'explique par le caractère très sableux des sols et la faible profondeur de la nappe. Le niveau de la contamination est tel que les concentrations moyennes en matières actives enregistrées sont très supérieures aux normes édictées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 1994). Les risques sur la santé humaine et animale sont élevés. Ils sont en général induits par contact direct des substances lors de l'épandage ou par la contamination des produits alimentaires (Camper *et al.*, 1990 ; Day *et al.*, 1990 ; PAN, 2003).

Le sol constitue un compartiment clef de l'environnement. Il est le lieu de passage obligé du contaminant lors de son transfert vers la nappe phréatique. Il occupe une position centrale dans la régulation de la pollution par son double rôle d'épuration et de stockage des polluants (Kersanté, 2003 ; Barriuso, 1996).

Les mécanismes de dégradation des pesticides dans le sol, tout comme pour la décomposition des composés organiques, sont en général très complexes. Ils dépendent à la fois de facteurs abiotiques (température, pH, humidité...) et biotiques (organismes vivants du sol). La biodégradation des pesticides est fortement liée à la présence et à l'abondance de la microfaune et macrofaune dans le sol (Day, 1991 ; Meharg, 1996 ; Kersanté, 2003).

Pour la plupart des molécules utilisées, la dégradation par les microorganismes semble être le phénomène principal conduisant à la décomposition plus ou moins complète des pesticides

dans les sols agricoles (Caots, 1991). Les processus de dégradation des pesticides par les microorganismes peuvent être réalisés par des mécanismes d'oxydation, d'hydrolyse, de déhalogénéation, de conjugaison et de réduction (Camper, 1990 ; Coats, 1991 ; Topp *et al.*, 2004). Somasundaram et Coats (1991) ont étudié une succession de consortiums microbiens capables de réaliser la dégradation complète des pesticides en composés minéraux : H₂O, CO₂, NH₃. Certains auteurs ont pu démontrer le rôle des bactéries et des champignons dans l'élimination des polluants organiques (Camper, 1991 ; Gianfreda *et al.*, 2004 ; Kim *et al.*, 2005). Les produits de la dégradation des pesticides peuvent avoir plusieurs effets sur les activités microbiennes du sol. Ces effets incluent une augmentation ou une diminution de la biomasse microbienne entraînant une inhibition ou une stimulation de la respiration ou de la nitrification (Okamoto *et al.*, 2000, Katayama *et al.*, 2001). Plus récemment les techniques de la biologie moléculaire ont permis de caractériser la diversité et la structure des communautés microbiennes dégradantes (Topp *et al.*, 2004; Martin-Laurent *et al.*, 2004).

La plupart des travaux menés en Afrique sub-saharienne sur la pollution par les pesticides ont été principalement perçus à travers leur présence dans les denrées alimentaires, dans les eaux souterraines et les eaux de surfaces (Biao *et al.*, 2003 ; Wade, 2003 ; Lombo, 2004). Ces travaux s'articulent autour de la détermination des résidus de pesticides. Cependant, très peu de travaux sur le sol ont fait l'objet d'étude. De sorte qu'il existe peu de données concernant le devenir des pesticides et leur influence sur les organismes du sol.

Le présent travail s'inscrit dans le contexte de la contamination des sols par l'utilisation abusive de pesticides en agriculture périurbaine. Cette pollution multiple des sols représente des risques pour les cycles biogéochimiques. Elle affecte ainsi l'évolution de la microflore qui est à la base du pouvoir épurateur du sol.

Par conséquent, nous nous intéressons à l'étude de la décomposition des pesticides : Endosulfan, Cyperméthrine, Malathion utilisés en agriculture dans la zone des Niayes de Dakar.

Les objectifs de cette étude sont de :

- Tester l'aptitude des sols des Niayes de Pikine à la biodégradation des pesticides utilisés dans cette zone maraîchère.
- Étudier les interactions pesticides et microflore de ces sols.

Il s'agira dans ce travail de :

Introduction

- Suivre la décomposition des pesticides en conditions contrôlées de laboratoire.
- Évaluer l'impact des pesticides sur l'activité microbienne des sols agricoles des Niayes.

Ce mémoire est divisé en quatre parties :

Dans la première partie, une synthèse bibliographique sur la biodégradation des pesticides est effectuée. Dans la deuxième partie, nous présenterons le matériel et les méthodes utilisés. La troisième partie concerne les résultats et les discussions. Enfin une dernière partie est consacrée aux conclusions et les perspectives qui découlent de ce travail.

CHAPITRE 1: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur les pesticides

1.1. Historique

L'introduction des pesticides dans les cultures remonte à l'Antiquité. L'usage du soufre paraît remonter à 1000 ans avant J.C., l'arsenic était déjà recommandé par Pline et les produits arsenicaux sont connus en Chine au 16^{ième} siècle ; c'est vers la fin de celui-ci que sont signalées les propriétés insecticides du tabac et des racines de Derris et de Lonchocarpus. L'utilisation plus généralisée des pesticides a suivi les progrès de la chimie minérale. Au 19^{ième} siècle, les traitements fongicides sont à base de sulfate de cuivre (dont la célèbre bouillie bordelaise) ou à base de mercure. Les insecticides tels l'arsénite de cuivre, l'acétoarsénite de cuivre, l'arséniate de plomb font leur apparition. Le pyrèthre, une poudre provenant de fleurs du genre chrysanthemus est introduit comme insecticide à cette époque. Ensuite, les pesticides profitent très largement du développement de la chimie organique particulièrement après la guerre 39-45 avec la naissance d'un nombre élevé de molécules. Les recherches militaires avaient déjà perfectionné des gaz de combat qui, à défaut d'être utilisés pendant les hostilités, le furent contre les insectes. Dans les années 50, des insecticides comme le DDD et le DDT sont utilisés en grandes quantités en médecine préventive (pour détruire le moustique responsable de la malaria) et en agriculture (élimination du doryphore). D'autres biocides sont mis au point pour l'industrie textile et du bois, pour l'usage domestique (aérosols tue-mouches), pour l'entretien des routes et pour une utilisation en médecine. L'usage de ces produits a connu un très fort développement au cours des décennies passées, les rendant quasiment indispensables à la plupart des pratiques agricoles, quel que soit le niveau de développement économique des pays. De 1945 à 1985, la consommation de pesticides a doublé tous les dix ans (Servais, 2000).

1.2. Définition

Les pesticides, étymologiquement “tueurs de fléaux”, sont des produits obtenus le plus souvent par synthèse chimique, dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre les organismes nuisibles. D'un point de vue réglementaire, les pesticides font l'objet de plusieurs appellations. On distingue les pesticides utilisés principalement pour la protection des végétaux que l'on appelle produits phytopharmaceutiques (CEE, 1991) ou plus communément produits phytosanitaires et d'autres que l'on appelle biocides. Par exemple, un

insecticide sera un produit phytosanitaire s'il est utilisé sur du blé mais un biocide dès lors qu'il est utilisé sur du bois de charpentes (IFEN, 2002).

Plusieurs définitions sont données aux pesticides parmi lesquelles on peut en citer :

- Celle de Mouillet et Luquet (1981) «est pesticide toute substance ou préparation utilisée pour lutter contre les êtres vivants nuisibles directement ou indirectement à l'homme et à tout ce qui utile à son existence»
- On appelle pesticide, toute substance naturelle ou synthétique utilisée pour prévenir, détruire, repousser ou inhiber les pestes, ou utilisé comme régulateur de plant, défoliant ou dessiccatif (Middlekanf, 1986).
- Selon le CILSS et le comité mixte de la FAO/OMS, un pesticide désigne toute substance ou association de substances qui est destinée à :
 - Repousser, maîtriser ou contrôler les organismes nuisibles y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires, des produits agricoles, du bois et des produits ligneux, ou des aliments pour animaux ;
 - Être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et les autres ectoparasites ;
 - Être utilisée comme régulateur de croissance des plantes, défoliants, agents de dessiccation, agents d'éclaircissement des fruits ou pour empêcher leur chute prématurée.
- Selon l'AFNOR : un pesticide est une substance ou une préparation permettant de lutter contre les ennemis des cultures.

Globalement, toutes ces définitions se recoupent et retiennent que, les pesticides sont des substances chimiques, biologiques destinées à limiter ou à détruire un organisme que l'on considère comme nuisible.

1.3. Composition d'un pesticide

Un pesticide est presque toujours un mélange de deux types de constituants :

- Une ou plusieurs substances traitantes (matière active) qui confèrent son activité (effet de poison désiré) au produit.
- Les formulants qui sont des substances d'appoint destinés à accroître l'efficacité de la matière active.

Les formulants sont soit des charges ou des solvants qui n'ont qu'un rôle de dilution des matières actives, soit des produits qui améliorent la préparation pour sa qualité. Ils sont en général constitués d'une substance qui sert de support à la matière active et les adjuvants qui complètent la formulation.

Les substances d'appoint les plus connues sont :

- les solvants qui servent à dissoudre la substance active
- les émulsifiants pour la dilution des liquides concentrés
- Les substances coulantes permettant l'humectation d'une plus grande surface de feuilles
- Les substances portantes pour mieux diluer la substance active d'une formule sèche
- Les dispersantes qui permettent à la poudre de se répartir en fines particules dans l'eau
- Les agglutinants facilitent le maintien du pesticide à la surface des feuilles
- Les colorants et les synergistes

1.3.1. La matière active (m.a)

C'est le constituant auquel est attribué en totalité ou en partie l'activité biologique directe ou indirecte contre le parasite ou la maladie (FAO/OMS, 2002). La teneur en m.a est exprimée en masse par volume (m.a en g/L) ou en pourcentage (%) pour les formulations liquides et en masse par masse (m.a en g/Kg) pour les formulations sèches.

1.3.2. La formulation

La formulation correspond à la forme physique sous laquelle le produit phytopharmaceutique est conditionné et mis sur le marché (CILSS, 2000). Elle constitue un produit prêt à l'emploi contenant un ou plusieurs matières actives et généralement d'autres substances d'appoint. Elle se présente sous plusieurs formes solide ou liquide. Les formules les plus répandues sont :

- Les formulations sèches ou solides sous forme de poudre pour poudrage (code : DP), de granules (G ou GR), de poudres mouillables ou solubles dans l'eau (WG, SP).
- Les formules mouillées ou liquides sous forme de solutions concentrées solubles (SL), les concentrés émulsionnables (EC), les suspensions concentrées (SC).

Le type de formulation a une grande importance dans la manipulation des produits : fabrication, transport, stockage, préparation des bouillies. Par exemple, les suspensions concentrées auront tendance à sédimenter au cours du temps et il sera indispensable de les agiter avant l'emploi (Coulibaly, 2005).

1.4. Classification

Les pesticides constituent un ensemble très vaste et très hétérogène de composés. Ils sont classés selon plusieurs critères notamment, la qualité, la persistance, la toxicité. On distingue ainsi plusieurs types de classifications dont les plus courantes sont faites selon l'ennemie ciblée, la nature chimique, la formulation et la toxicité.

1.4.1. Classification selon l'ennemi ciblé

Les pesticides sont classés en général en différents groupes selon la nature des êtres vivants nuisibles. On distingue ainsi :

- Insecticides : Acaricides inclus (produits de lutte contre les insectes)
- Herbicides (produits de lutte contre les mauvaises herbes)
- Fongicides (maladies fongiques)
- Molluscicides et Nématicides (respectivement contre les escargots, les limaces et les nématodes), Algicides (contre les algues), Bactéricides (contre les bactéries : antibiotiques), Rodenticides et taupicides (rats et les souris), Avicides (contre les oiseaux), Piscicides (contre les poissons) et enfin les Miticides (contre les mites).

1.4.1.1. Les insecticides

C'est un groupe très vaste et hétérogène tant sur la nature chimique que sur les cibles en particulier avec l'avènement des molécules organiques de synthèses. Les insecticides sont des agents chimiques ou biologiques capables de contrôler les insectes. Le contrôle peut consister à tuer, empêcher ou perturber l'insecte à s'engager dans les comportements considérés comme destructeurs. Le mode d'action des insecticides peut être fondé sur la perturbation du système nerveux, la respiration cellulaire, la mise en place de la cuticule ou la perturbation de la mue. Ce groupe renferme les familles chimiques suivantes:

- Organochlorés

- Organophosphorés
- Carbamates
- Foramides
- Pyréthrinoïdes

Des quantités énormes d'insecticides sont utilisées dans la lutte contre les criquets migrateurs notamment dans le Sahel (Ramade, 1991).

1.4.1.2. Les herbicides

Encore appelés désherbants, notamment en horticulture, les herbicides sont des matières actives ou des produits formulés ayant la propriété de tuer les végétaux. Les herbicides sont soit sélectifs soit totaux. Les herbicides sélectifs sont utilisés en agriculture pour lutter contre un type de végétation particulier (mauvaises herbes) pendant que les cultures sont restées intactes. Tandis que les totaux sont susceptibles de détruire ou d'empêcher le développement de toute la végétation avec des persistances d'actions, variables. Les herbicides se distinguent par leur voie de pénétration dans les végétaux et leur mode de déplacement dans la plante (herbicides à pénétration racinaire, foliaire et herbicides de contact). Les herbicides agissent sur différents processus de la croissance et du développement des plantes. Ils perturbent le fonctionnement de la photosynthèse ou la perméabilité membranaire, la croissance et la biosynthèse des constituants cellulaires : lipides, pigments caroténoïdes, acides aminés (Coulibaly, 2005).

Dans ce groupe en rencontre :

- Les dinitrophénols ou huiles jaunes : DNOC (dinitro-ortho-crésol)
- Les Aryloxyacides ou phytohormones comme le 2,4-D (dinitrophénol)
- Les Triazines : Atrazine, simazine, aminotriazole
- Les Aminophosphonates : Glyphosate, glufosinate.

1.4.1.3. Les fongicides

Ils désignent les produits qui s'attaquent aux champignons parasites des cultures à l'exclusion des parasites animaux et de l'homme. Il faut distinguer les substances fongicides qui tuent les champignons, de celles fongistatiques qui arrêtent la croissance des champignons (Ngom, 1992). Le mode d'action des fongicides est exprimé par une inhibition de la germination de la spore ou par une inhibition de la croissance du champignon. La plupart des fongicides empêchent la germination de la spore ou tuent la spore juste après la

germination. Certains de ces produits chimiques toxiques ou inhibiteurs empêchent ou retardent également la croissance fongique lorsqu'ils sont appliqués après la phase infectieuse (Ware et Whitacre, 2004). Les molécules les plus répandues dans ce groupe sont : benomyl, maneb, captofol, dithane, Thiazole.

1.4.1.4. Les nématicides

Ils sont surtout utilisés dans le traitement des sols pour détruire les vers parasites des parties souterraines des végétaux ou celles qui sont au contact du sol (Ngom, 1992). Les nématicides appartiennent à des classes chimiques des organophosphorés et carbamate. Ils sont en général répartis en deux groupes principaux en fonction de leurs caractéristiques physiques et chimiques : les nématicides fumigènes et les nématicides non-fumigènes ou de contact.

- Les nématicides fumigènes : ce groupe concerne en général les fumigènes du sol.

Leur caractéristique principale résulte du fait qu'ils sont localement redistribués dans le sol par diffusion comme un gaz. Ce sont des produits chimiques qui, une fois appliqués au sol, produisent des vapeurs qui se diffusent dans le sol pour traiter de manière uniforme un volume considérable de sol. Dans ce groupe, on rencontre des produits tels que : le methyl bromure, le dazomet (DMTT) qui sont des fumigènes universels (à large spectre d'action) c'est-à-dire efficaces contre une panoplie de cibles (nématodes, champignons, bactéries, insectes, et des mauvaises herbes) ; 1,3-dichloropropene, metam sodium qui sont spécifiques aux nématodes.

- Les nématicides non-fumigènes ou de contact : ils ont été développés dans les années soixante. La plupart de ces molécules sont extrêmement toxiques aux humains (toxicités orales et cutanées aiguës). Contrairement aux fumigènes, ces produits chimiques dépendent fortement du mélange initial avec le sol et de la redistribution locale en solution dans l'eau du sol. Ils sont généralement formulés, en granules à l'intérieur desquelles la substance active a été fixée sur une particule de sable, d'argile, ou d'une granulation organique ; le tout occupant 5% à 20% du poids du produit formulé (Dunn et Noling, 2003). On peut citer des principes actifs comme l'alicarbe et le carbofurane.

1.4.2. Classification selon la famille chimique

La classification selon la nature chimique rend compte d'une grande diversité de familles. Rien que pour les insecticides, qui constituent le groupe qui présente le plus de risques pour l'homme et son environnement, on compte aujourd'hui des centaines de molécules notamment avec l'avènement de nouvelles molécules (pesticides organiques de synthèses) sur le marché. Les plus grandes familles sont : les organochlorés, les organophosphorés, les pyréthrinoïdes.

1.4.2.1. Les organochlorés

Les organochlorés sont des insecticides qui contiennent des atomes de carbone, d'hydrogène, et de chlore. Ils sont également appelés : hydrocarbures chlorés, produits organiques chlorés, insecticides chlorés et synthétiques chlorés (Ware et Whitacre, 2004). Ce sont des composés apolaires (non-ioniques) donc très peu solubles, dans les eaux, fortement solubles dans les lipides et les substances organiques. Les pesticides organochlorés sont chimiquement très stables dans l'air, la lumière et la chaleur, de sorte qu'ils persistent de nombreuses années dans les eaux, les sols, les végétaux mais également au niveau des tissus humains. En effet, l'accumulation des organochlorés chez les animaux et chez l'Homme est notamment importante dans le tissu graisseux mais aussi dans le foie et dans les muscles (Coly, 2000 ; Cissé, 2000). Ils sont caractérisés par leur toxicité, leur persistance dans les milieux, leur tendance à la bioaccumulation dans les chaînes alimentaires (PAN-CTA, 1990), leur capacité à se déplacer jusqu'à des milliers de kilomètres de leur point origine (Ramade, 1991 ; Greenpeace, 1995). Ce qui fait que de nombreux représentants de cette catégorie font l'objet d'une réglementation ou d'une interdiction formelle dans plusieurs pays du monde. Aujourd'hui une campagne accrue est menée un peu partout sous l'égide d'organismes internationaux (FAO, PNUE, OMS, PAN) pour l'élimination de toute forme d'utilisation de ces produits également appelés polluants organiques persistants (POPs). Selon la structure des molécules, on distingue quatre groupes : chlorobenzène ou diphényles aliphatiques, l'Hexachlorohexane (HCH), le chlordane ou cyclodiènes et le groupe des polychloroterpènes.

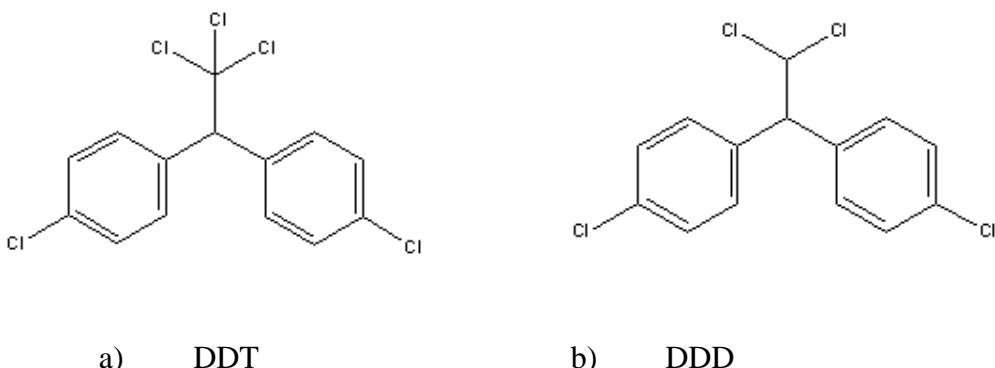


Figure 1 : Structure chimique des organochlorés : le DDT (a) et le DDD (b)

1.4.2.2. Les organophosphorés

Les organophosphorés sont des composés chimiquement similaires, caractérisés par la présence d'un atome de phosphore. Ces dérivés de l'acide phosphorique constituent la classe des insecticides la plus毒ique pour les vertébrés. Ils sont très peu persistants dans l'environnement et se dégradent rapidement sous climat tropical (Coly, 2000). Ce qui justifie leur préférence en agriculture par rapport aux organochlorés. On dénombre six groupes facilement identifiables par leurs noms chimiques : phosphates, phosphanates, phosphorothioates, phosphorodithioates, phosphorothiolates et phosphoramidates. Les organophosphorés sont en générale subdivisés en trois groupes suivant leur structure : les aliphatiques, les dérivés phényles et les hétérocycles. Les organophosphorés sont généralement volatils et solubles dans les hydrocarbures non aliphatiques. Ces composés sont caractérisés par des propriétés chimiques très variées. Ils sont susceptibles d'induire des réactions d'isomérisation liées à la pentavalence du phosphophore et de s'hydrolyser facilement en milieu alcalin notamment avec l'accroissement de la température. Les insecticides organophosphorés inhibent certaines enzymes (cholinestérases) du système nerveux chez les insectes et chez les mammifères. (Ngom, 1992 ; Savadogo, 2001).

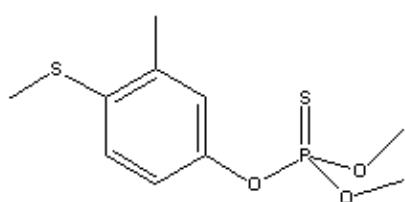


Figure 2 : Structure d'un pesticide organophosphoré : le Fenthion

1.4.2.3. Les Pyréthrinoïdes

Ce sont des insecticides de synthèse dérivés des pyréthrides. Ces derniers sont des composés naturels extraits à partir des fleurs du pyréthre (*chrysanthémus*). Les pyréthrinoïdes sont stables à la lumière et sont en général efficaces à de faibles doses sur un large spectre d'insectes (Ware et Whitacre, 2004). Ils présentent des toxicités aigues faibles chez l'homme, mais demeurent écologiquement dangereux particulièrement pour les abeilles et pour certains organismes aquatiques (Coly, 2000). Cette toxicité faible couplée à une faible solubilité de la matière active dans l'eau et à une métabolisation rapide chez les mammifères expliqueraient leur recommandation dans la lutte antiacridienne (Seck, 2001 ; Ramade, 1991). Suite à leur évolution, les pyréthrinoïdes sont subdivisés en quatre générations depuis l'allethrine aux derniers composés de la quatrième génération avec : le bifenthrine, la lamda-cyhalothrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine (figure 3), l'esfenvalate,

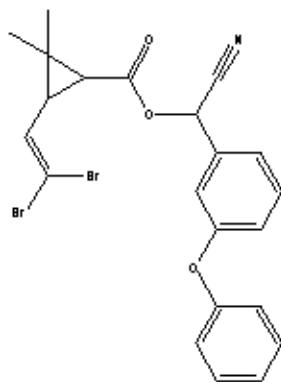


Figure 3 : Structure chimique d'un pyréthrinoïde : la Deltaméthrine

1.4.3. Classification selon le niveau de toxicité

La toxicité d'un pesticide est un élément fondamental dans l'évaluation des risques sanitaires et écologiques durant son emploi. La classification des pesticides selon la toxicité demeure complexe et les résultats scientifiques insuffisants (Cissé, 2000). L'OMS est parvenue à déterminer une grille de classification servant de référence au niveau mondial (tableau I). Dans cette catégorie, on distingue les formes plus ou moins dangereuses de chaque pesticide qui résultent de la toxicité de la matière active et de ses formulations. La classification est principalement basée sur la toxicité aiguë orale et cutanée en particulier

chez le rat. La toxicité aiguë exprimée par la DL₅₀¹ (dose léthale), constitue la procédure standard en toxicologie. La DL50 est la dose de substance active suffisante pour tuer 50% de la population d'un lot d'animaux d'expérience. Cette valeur est exprimée en milligramme de matière active par kilogramme du poids corporel de l'animal : rat, souris ou lapin (OMS, 2005). Pour les espèces aquatiques, on parlera de concentration léthale médiane (CL₅₀). Elle indique la concentration léthale médiane du produit antiparasitaire formulé. Plus la valeur CL50 est faible, plus le produit est toxique.

Classes	<i>DL₅₀ (dose léthale) aiguë chez le rat (en mg/kg du poids vif)</i>			
	<i>Orale</i>	<i>Dermale</i>		
	<i>Solide</i>	<i>Liquide</i>	<i>Solide</i>	<i>Liquide</i>
<i>Ia : extrêmement toxique</i>	5 ou moins	20 ou moins	10 ou moins	40 ou moins
<i>Ib : hautement toxique</i>	5 - 50	20 - 200	10-100	40 - 400
<i>II : modérément toxique</i>	50 - 500	200 - 2000	100-1000	400 - 4000

Tableau I : guide de la classification selon leur niveau de toxicité

Source: the WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2004/2005.

Une substance est qualifiée de toxique lorsque après pénétration dans l'organisme, provoque de façon passagère ou permanente des dommages dans les fonctions et pouvant conduire même à la mort.

1.4.3.1. Cas des polluants organiques persistants (POPs)

En 1995, plus de cent pays se réunissant à Washington sous l'égide du PNUE ont accepté d'adopter légalement un instrument commun obligatoire pour interdire : la décharge, l'émission, la fabrication, l'utilisation et le commerce des 12 POPs encore connus sous le nom des « dirty dozen ou sales douzaines ». Ce traité a été révisé en 1997 et finalement ratifié pour

¹ DL50 est une évaluation statistique du nombre exprimé en milligramme de m.a par kilogramme de corps de l'animal, exigée pour tuer 50% d'une grande population des animaux d'essai (OMS, 2005).

la première fois et après trois ans de négociations² par 120 pays dans la ville baltique de Stockholm. La convention de Stockholm adoptée les 22 et 23 mai 2001 sur les POPs, reconnaît que les polluants organiques persistants possèdent des propriétés toxiques. Ils résistent à la dégradation, s'accumulent dans les organismes vivants et sont propagés par l'air, l'eau et les espèces migratrices par delà les frontières internationales et déposés loin de leur site d'origine, où ils s'accumulent dans les écosystèmes terrestres et aquatiques (Greenpeace, 2001 ; PNUE, 2001). Les POPs sont caractérisés par trois propriétés principales qui les rendent extrêmement dangereux : leur toxicité, leur persistance et leur bioaccumulation. Les POPs sont constitués de huit pesticides ; de produits chimiques industriels (PCB) et enfin de sous-produits industriels non désirées.

1.4.3.2. Cas des pesticides dits de consentement préalables en connaissance de cause (PIC)

Soutenue conjointement par la FAO et le PNUE, la Convention de Rotterdam du 12 septembre 1998 sur la procédure d'information et de consentement préalable en connaissance de cause (PIC) applicable à certains produits chimiques et pesticides dangereux qui font l'objet du commerce international ; a pris effet le 24 février 2004.

Elle démarre avec 27 produits chimiques soumis à la procédure PIC, mais quinze autres pesticides et produits chimiques, identifiés durant la procédure PIC, vont s'y ajouter. Cela inclut plusieurs pesticides très toxiques, notamment le monocrotophos et le parathion ainsi que cinq formes supplémentaires d'amiante dont la chrysolite qui représente 90% d'amiante actuellement utilisé ou commercialisé ; soit un taux total de quarante-deux produits chimiques (PAN-Africa, 2004). Les produits PIC sont constitués de 27 pesticides dont les 22 sont des pesticides dangereux ; de cinq autres soumis à la procédure PIC provisoire et cinq produits chimiques industriels.

1.5. L'utilisation des pesticides dans l'agriculture au Sénégal

Le marché des pesticides au Sénégal oscille normalement autour d'une valeur de 10,5 milliards de francs CFA. Les quantités distribuées sont de l'ordre de 900 000 litres à plus de 1 350 000 litres pour les produits de pulvérisation à ultra-bas volume, 250 000 à 400 000 litres pour les concentrés émulsionnables et 4 000 à 5 000 tonnes pour les poudres pour

² En décembre 2000, sous la pression internationale les pays qui avaient boudés les négociations : les ETATS-UNIS, l'Australie, le Canada, le Japon et la Nouvelle-Zélande, ont finalement accepté de ratifier le projet de texte du premier traité global pour l'élimination des POPs.

poudrage des cultures, traitement des denrées stockées et l'hygiène publique. Ces quantités peuvent s'accroître de façon exceptionnelle en cas de fléaux : invasions acridiennes (PAN Africa, 2003)

Dans la zone périurbaine des Niayes, avec l'intensification et la modernisation de l'agriculture et devant l'impossibilité d'accroître les surfaces horticoles, un véritable dopage des cultures semble s'opérer. L'utilisation d'intrants chimiques (pesticides et engrais chimique) pour accroître les rendements est une pratique très courante (Cissé et Fall, 2003 ; Diao, 2004). Les pesticides utilisés dans ce système de production horticole sont très diversifiés tant sur les familles chimiques, la formulation que sur les cibles visées. Les études de Cissé (2001) ont dénombré 123 produits appartenant à 67 principes actifs. Rien que pour les Niayes de Dakar, on a identifié 55 produits. Cela s'explique par une forte activité maraîchère et la concentration des points de distribution dans cette zone.

1.5.1. Répartition selon la formulation et la nature chimique

Plusieurs types de formulation composent les produits utilisés dans les Niayes de Dakar. Les concentrés émulsifiables (EC) représentent la formulation dominante. Suivent ensuite les poudres mouillables (WP), les poudres sèches (DP) et les granulés (GR). Dans la région de Dakar, les formulations utilisées se présentent comme suit : EC, 56,36% ; WP, 18,18 % ; DP, 10,9 % et GR, 5,4 %. La classification des familles chimiques (figure 8) montre une large dominance des produits organophosphorés avec une utilisation de 43,6 % dans la région de Dakar. Ils sont suivis des pyréthrinoïdes, des carbamates et des organochlorés avec des pourcentages respectifs de 18,1 %, 14,5 % et 10,9% (Cissé et Fall, 2003).

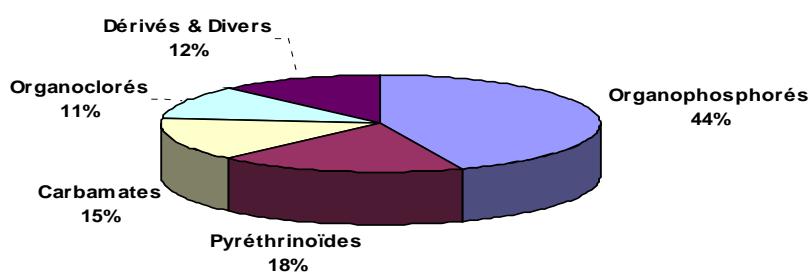


Figure 4 : Répartition des pesticides dans les Niayes en fonction des familles chimiques (Cissé et Fall, 2003)

1.5.2. Répartition selon la cible visée

Les pesticides sont utilisés selon des cibles bien déterminées. Toutefois, il existe des produits spécifiques destinés à l'élimination d'une attaque déterminée ou à large spectre d'action. On remarque ainsi une prédominance des insecticides (large spectre) dans toute la zone des Niayes même si, dans certains points, notamment la région de Dakar, les fongicides et les insecticides acaricides occupent une bonne place (Cissé et Fall, 2003 ; Coly, 2000).

La répartition des pesticides selon les cibles visées s'établie comme suit : insecticides, 34,54 % ; acaricides, 1,8 % ; fongicides, 16,36 % ; herbicides, 1,8 % ; insecticides acaricides, 30,9 % ; insecticides nématicides, 1,8 % ; insecticides acaricides nématicides, 3,6 %.

La zone des Niayes est caractérisée par une diversité et une pléthore des types de produits, un usage incontrôlé des pesticides et des modes d'utilisation non encore maîtrisés. Cela constitue une réelle menace pour l'environnement des Niayes et pour la santé de la population.

2. Impact des pesticides sur la santé et l'environnement

Les pesticides sont des produits chimiques qui nécessitent une attention particulière, dans la mesure où les propriétés inhérentes à la plupart d'entre eux les rendent dangereux pour la santé des populations et l'environnement (COM, 2002).

2.1. Impact des pesticides sur la santé

Les problèmes liés aux pesticides ont trait d'une part à leur utilisation en grosses quantités et d'autre part à leur toxicité (Servais, 2000). Les risques pour la santé humaine peuvent survenir à la suite d'une exposition directe aux molécules (chez les maraîchers par exemple) ou indirecte due à la présence de quantités résiduelles de pesticides dans les produits agricoles (COM, 2002). Cette exposition indirecte peut aussi se faire via la consommation de l'eau et des denrées alimentaires contaminées. En tant que xénobiotiques³, les pesticides sont indésirables dans les produits alimentaires. Dans ce cadre, des normes

³ **Xénobiotique** : substance chimique possédant des propriétés toxiques même si elle est présente à de très faibles concentrations dans les milieux. « Xeno » : étranger ; molécule de nature chimique ou biologique qui n'est pas naturellement présente dans un organisme ou dans un milieu.

(LMR, DJA, CMA)⁴ de concentration ont été fixées pour l'eau de boissons (OMS, 1994) et pour les denrées alimentaires par le comité mixte de la FAO/OMS (codex alimentarius de la FAO/OMS). Dans tous les cas de figures, les pesticides présentent des risques pour la santé humaine animale avec des impacts immédiats ou à long terme, variables dans la nature et l'intensité des préjudices portés (Kersanté, 2003). L'intoxication aiguë ou à court terme se produit immédiatement après une forte exposition aux toxiques. Pour les populations exposées, les risques sanitaires sont de nature cancérigène, affectant la reproduction (malformation congénitale, stérilité), le développement ou sont d'ordre neurologique (déficience mentale). Les effets chroniques sont également susceptibles de compromettre la santé des populations exposées. Ils sont notamment liés à la bioaccumulation et à la persistance de certaines substances (organochlorés) et à leurs effets irréversibles comme la cancérogénicité, la mutagénicité, la génotoxicité ou à leurs effets néfastes sur le système immunitaire ou endocrinien des mammifères, des poissons ou des oiseaux. Plusieurs cas d'intoxication ont été décrits dans la littérature scientifique (Ramade, 1991 ; PAN 2003). Des enquêtes menées dans la zone des Niayes, dénombrent près 25% d'individus ayant été victimes d'intoxication (Cissé, 2001). Plusieurs auteurs ont montré que les pesticides peuvent être aussi bien toxiques pour l'homme, les animaux et les plantes (Martins *et al*, 2003 ; Sunderram *et al*, 1992).

2.2. Impact des pesticides sur l'environnement

L'utilisation abusive des pesticides dans la zone des Niayes de Dakar conduit à la dégradation des écosystèmes en particulier par la pollution des eaux et des sols. Plusieurs travaux mettent en évidence la pollution des eaux de surfaces et des eaux souterraines. En effet, lors des traitements phytosanitaires, une bonne partie des pesticides se dépose sur le sol. Les produits chimiques peuvent ensuite soumis à des processus de transport, liés principalement à l'écoulement des eaux. Ces processus de transport en surface (ruissellement) ou en profondeur (lixiviation) entraînent la pollution des eaux. La zone des Niayes de Dakar caractérisée par des sols très sableux, les produits chimiques ont tendance à

⁴LMR (limite maximale de résidus) : concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable pour que les denrées restent commerciables. Elle s'exprime en mg/kg (ou en ppm) (MCE, 2003)

DJA ou DJT (dose journalière acceptable ou tolérée) : quantité de produits pouvant être quotidiennement avalée par une personne d'un poids donné, durant toute sa vie sans que cela lui pose des problèmes de santé. Elle s'exprime en mg/ jour.

DES (dose sans effet) : c'est la dose la plus élevée d'une m.a qui ne provoque aucun effet décelable chez deux générations d'animaux soumis à une expérimentation (souris, rat, lapin...).

contaminer facilement la nappe phréatique (Fall *et al*, 2003). Aussi, les mauvaises pratiques agricoles la vulnérabilité des milieux et la faible profondeur de la nappe concourent à augmenter les risques de contamination. Les travaux de Cissé *et al* (2003) montrent un niveau de pollution très élevé avec des concentrations (CMA⁵) en matière active largement supérieures aux normes de références admises par l'OMS (1994), qui sont de 0.1 µg.l⁻¹ pour l'eau de boisson. Les concentrations moyennes de résidus dans la nappe en particulier pour les organophosphorés (malathion, chlopyrifos-méthyle et chlopyrifos-éthyle) sont souvent 30 à 700 fois supérieures à la norme. Toutefois, la présence de ces produits à durée de vie très courte dans les milieux, traduit une pollution ponctuelle de la nappe phréatique consécutive à une utilisation répétée de ces substances (Diao, 2004). Pour les organochlorés, des études ont montré des teneurs atteignant des seuils élevés au niveau de la nappe (endosulfan, lindane). La contamination des sols par les organochlorés est très importante notamment par le DDT et ses dérivés, l'heptachllore, l'endrine le HCH, etc (Cissé, 2001). Ce qui est inquiétant dans la mesure où ces pesticides sont caractérisés par leur stabilité dans les milieux et par conséquent sont capables d'entretenir une pollution permanente de la nappe et des sols.

2.3. Devenir des pesticides dans les sols

Le caractère polluant des pesticides est étroitement liée à leur dynamique dans le sol. Ainsi pour un xénobiotique agricole donné, le sol est le compartiment obligatoire précédant son transfert vers les zones aquatiques connexes (eaux de surface, eaux souterraines). Il occupe une position centrale dans régulation de la pollution par son double rôle d'épuration et de stockage des polluants (Barriuso, 1996 ; Kersanté, 2003). Le comportement des pesticides dans le sol dépend de quatre groupes de facteurs : les quantités appliquées au départ, les caractéristiques propres aux molécules (solubilité, toxicité...), les propriétés physico-chimiques et de la qualité du sol (teneur en MO, structure et texture,...) mais aussi du fonctionnement du milieu avec ses facteurs environnementaux tels : le climat, les pratiques agricoles, la pluviométrie et l'activité biologique (Coast, 1991 ; Lombo, 2004).

⁵ CMA (concentration maximale admise) pour les eaux destinée à la consommation humaine (ou eau de boisson) est concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable. Elle est de 0,1 µg/L pour la substance active et de 0,5 µg/L pour l'ensembles de substances dans l'eau et 2 et 5µg/L dans les eaux brutes pour la production d'eau potable (80/778/CEE).

2.3.1. Les caractéristiques déterminant la dynamique des pesticides dans le sol et dans les eaux.

Le comportement global du polluant dans le sol est très complexe. Cette complexité est liée à la multiplicité de processus interconnectés et à la diversité des molécules utilisées. Après l'épandage sur les sols agricoles, une partie des pesticides rejoint l'atmosphère par volatilisation (émission des composés les plus volatils), les eaux de surfaces par ruissellement superficiel, ou encore les eaux souterraines par lixiviation (entraînement en profondeur). Une autre partie va subir des processus de photodécomposition sous l'action des rayons solaires. Tandis que la majeure partie des produits phytosanitaires séjourne dans le sol (INRA, 2000 ; Kersanté, 2003). Dès leur arrivée au sol, les pesticides se distribuent dans les phases liquide- solide -gaz selon leur constante d'équilibre d'adsorption, de désorption et de volatilisation (figure 5).

Les processus qui vont conditionner le devenir des pesticides dans le sol et dans les eaux sont donc :

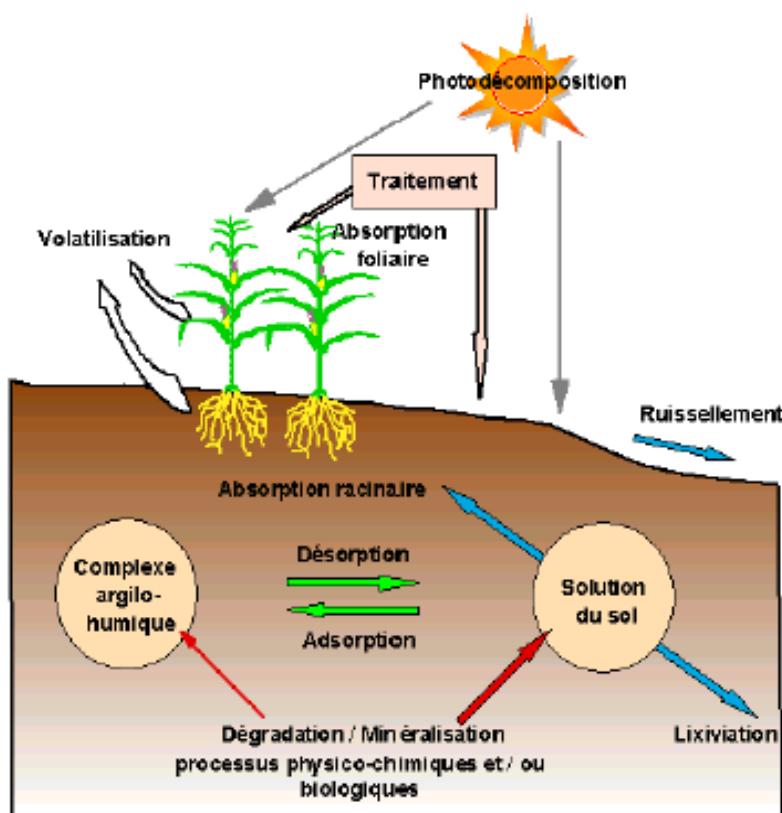
- **La mise en solution** des molécules : cette phase est très importante puisqu'elle correspond à la forme dissoute (libre) du polluant, la plus susceptible d'être mobilisée et biodisponible pour les végétaux et les microorganismes. Cette phase de dissolution dépend du type de formulation et de la solubilité du produit qui peuvent elles mêmes dépendre de l'ambiance (température et pH...).

- **L'adsorption** : c'est le passage du pesticide de la phase en solution et à sa fixation sur la phase solide organo-minérale (complexe argilo humique) du sol. Elle est fonction de la constante d'équilibre d'adsorption-désorption caractéristique de chaque produit et des conditions pédoclimatiques.

- **La désorption** correspond au mécanisme inverse c'est-à-dire le passage en solution de la molécule absorbée. Ainsi la concentration du polluant dans chacune de ces phases n'est pas figée dans le temps.

L'adsorption est probablement le mode d'interaction le plus important entre le sol et les pesticides et contrôle la concentration des produits chimiques dans la phase liquide. L'adsorption des pesticides sur les substances humiques met en jeu des liaisons ioniques, hydrogènes et covalentes, des transferts de charges, des forces de Van Der Waals etc. (Kersanté, 2003). Elle détermine la persistance du produit dans le sol, exprimée en durée de

demi-vie (DT50)⁶ alors que la rétention est classiquement caractérisée à laide du Koc⁷. La DT 50 est un bon indicateur de la cinétique de la dégradation des pesticides. D'une manière générale, plus un produit est retenu dans le sol, moins il est mobile et moins il va présenter des risques pour la contamination des nappes.



Source : Jamet et Deleu, (1993).

Figure 5 : processus impliqués dans le devenir des pesticides dans le sol

- L'**absorption** par les organismes du sol ou par les végétaux dans le cas de produits

⁶ DT50 : elle correspond à la période nécessaire à la dégradation de la moitié du produit appliqué.

⁷ Koc : c'est le coefficient de partage carbone organique/eau. Il définit le rapport entre la quantité d'un composé absorbé (exprimée en quantité de carbone contenu dans sol ou le sédiment) et la concentration du même composé en solution aqueuse à l'équilibre

systémiques c'est-à-dire capables de pénétrer dans les organismes et agir de façon spécifique sur une de leurs fonctions métaboliques (Kersanté, 2003 ; Lompo, 2004).

- La **dégradation** biotique ou abiotique des pesticides qui conduisent à l'atténuation ou même l'épuration naturelle des produits chimiques dans le sol.

Concept de biodisponibilité et de résidus liés

Le concept de disponibilité est très important car les produits vont être **biodisponibles** pour être dégradés par les microorganismes qui sont à la base du potentiel épurateur du sol. Cette notion de disponibilité inclut aussi la disponibilité des produits phytosanitaires pour être entraînés en profondeur. Il en résulte la contamination des eaux de drainage et la nappe phréatique. En ce qui concerne les pesticides appliqués au sol, cette disponibilité va conditionner leur absorption par les organismes vivants (la faune et les végétaux), étape qui conditionne leur efficacité phytosanitaire (Barriuso *et al*, 1996). En général la formation de résidus liés réduit significativement la bioaccessibilité et la biodisponibilité des molécules pour les organismes vivants (Kersanté, 2003).

Le concept de **résidus liés** ou **résidus non extractibles** dans le sol et dans les plantes a été défini par l'IUPAC. Ce sont des produits chimiques (ingrédients actifs, métabolites) provenant de la décomposition de pesticides et qui ne sont pas extractibles par les techniques classiques ne changeant pas significativement la nature chimique de ces résidus (Loiseau *et al*, 2000). En effet, quand les pesticides ne sont pas dégradés, ou qu'ils ne le sont que partiellement, ils se stabilisent dans les sols, en se liant à certains de leurs constituants (essentiellement la matière organique). Ces liaisons sont plus ou moins fortes et évoluent dans le temps. Les pesticides ont de plus en plus de mal à revenir en solution dans l'eau du sol et une fraction de ces pesticides n'est plus extractible. Ces composés fortement stables, peuvent ainsi constituer des formes d'accumulation de résidus organiques dans les sols. Ils peuvent être considérés comme de véritables «bombes à retardement» vis-à-vis de l'environnement puisque leur évolution à court terme est mal connue. Ce qui peut expliquer les phénomènes de pollution chronique suite à une utilisation répétée de pesticides (Loiseau *et al.*, 2000 ; Benoît *et al* , 2000).

2.3.2. La dégradation des pesticides

Les mécanismes de dégradation des composés organiques, en particulier des pesticides dans le sol sont en général très complexes. Ils dépendent de facteurs abiotiques (température, pH, humidité...) et biotiques (organismes vivants du sol) intimement liés. En effet, la frontière entre la dégradation biotique et abiotique est difficile à définir même au laboratoire. Afin de différencier les processus abiotiques de ceux qui sont biologiques, on procède à la stérilisation du sol par amendement avec les inhibiteurs microbiens, par la chaleur humide ou par rayonnement gamma. Dans la dégradation des pesticides, beaucoup de processus peuvent être réalisés aussi bien par les facteurs abiotiques que par les organismes vivants. C'est le cas du processus hydrolytique de la déchloration de l'atrazine en hydroxyatrazine (Pedersen, 2000 ; Kersanté, 2003). Cependant, pour la plupart des molécules utilisées, la dégradation par les agents biologiques du sol (microorganismes en particulier) semble être le phénomène principal conduisant à la décomposition plus ou moins complète des pesticides dans les sols agricoles (Caots, 1991). La minéralisation constitue l'étape ultime de la décomposition complète des pesticides. La dégradation des pesticides s'accompagne de l'apparition de molécules partiellement dégradées ou métabolites (résidus). Ces métabolites peuvent présenter des changements dans leur structure chimique. Ce qui entraîne des modifications de leurs propriétés physico-chimiques (toxicité) et de leur comportement dans les sols par rapport à celui du produit d'origine. Les métabolites sont en général moins toxiques que la molécule mère. Cependant de nombreux travaux ont mis en évidence la présence de résidus très persistants voire même plus toxiques que la molécule mère (Coats, 1991 ; Barriuso, 1996). Tous les pesticides sont plus ou moins rapidement dégradés dans les sols. La rapidité de cette dégradation d'origine microbienne dépend avant tout de la nature chimique du pesticide. Très souvent, elle dépend aussi du l'historique de traitement des sols avec ce pesticide. Cette biodégradation est fortement liée à la présence et à l'abondance de la microfaune, de la macrofaune et des végétaux dans les sols (Day, 1991 ; Meharg, 1996).

2.3.2.1. La dégradation abiotique des pesticides

Certains auteurs ont défini la décomposition abiotique des pesticides comme étant toutes les réactions initiées par des composés chimiques réactifs, des fonctions moléculaires du sol ou catalysées par des substances comme les surfaces organiques ou minérales (Scheunert, 1992). La dégradation abiotique des pesticides est assurée à la fois par des

processus physiques et chimiques. Les principaux facteurs impliqués dans la dégradation abiotique des produits phytopharmaceutiques sont : la lumière notamment les rayons ultra-violet U.V, la température, la volatilité du pesticide, la structure du sol, la présence de certains ions, le pH, l'humidité du sol et de l'air (Coulibaly et Smith 1990 ; Coats, 1991).

La photolyse est un phénomène crucial dans la dégradation des résidus de pesticides au niveau des végétaux, à la surface des sols, des eaux et de l'atmosphère (Coats, 1991). La photodécomposition est un processus de dégradation purement abiotique qui n'est possible que lorsque la molécule est capable d'absorber les rayons UV. Ainsi les radiations solaires vont agir sur la dégradation selon deux aspects : décomposition thermique et la photodécomposition (Scheunert, 1992 ; Pehuen et Zhang, 2002).

Les organophosphorés sont des composés très volatils ce qui justifie leur rapide dégradation. Ils sont aussi caractérisés par des propriétés chimiques très variées, susceptibles d'induire des réactions d'isomérisation liées à la pentavalence du phosphore et de s'hydrolyser facilement en milieu alcalin notamment avec l'accroissement de la température. L'hydrolyse constitue le principal mécanisme dans les processus de décomposition des esters organophosphorés (Racket, 1992).

La dissipation de certains insecticides à demi-vie entre 100 à 120 jours comme l'endosulfan dépend d'une multitude de facteurs tels que la volatilisation, l'hydrolyse alcaline et la photodécomposition (Goeben *et al.*, 1982). L'humidité et la température sont des facteurs importants dans de la dégradation des polluants en solution en particulier aux pH extrêmes (Coats, 1991). La dégradation des pesticides des pesticides fait souvent appel à des réactions d'oxydation et d'hydrolyse, qui sont fortement influencées par le pH. Certaines études ont démontré que les vitesses d'hydrolyse sont plus élevées en milieu alcalin. Ainsi l'hydrolyse de l'endosulfan en endosulfan diol augmente considérablement quand le pH varie de 3 à 9 (Day, 1991 ; Awasthi *et al.*, 2000).

Certains auteurs ont montré qu'en plus de la présence des substances humiques, et de la structure du sol, les métaux oxydés tels que les oxydes ferreux ou alumineux et certains ions minéraux peuvent augmenter la vitesse d'hydrolyse des pesticides organophosphorés. Ils fournissent des sites nucléophiles aux H_2O , OH^- et OP^8 par une augmentation des charges positives (Pehkonen et Zhang, 2002).

⁸ OP : Organophosphorés

2.3.2.2. La biodégradation des pesticides

La biodégradation est un processus de décomposition biologique de certaines substances, en des molécules plus simples dans des conditions aérobie ou anaérobio. Ces réactions biotiques correspondent à des transformations qui se produisent dans les organismes vivants du sol ou catalysées par des enzymes à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules (Scheunert, 1992). La microflore du sol joue un rôle primordial dans la décomposition des pesticides en minéraux utilisables par les plantes. Ainsi, ils contribuent à la dépollution de l'environnement. Dans le cas des produits phytosanitaires, cette dégradation diminue leur efficacité. Ce qui est à la base du pouvoir épurateur du sol (Slaoui *et al*, 2001). Beaucoup de travaux ont mis en évidence le rôle des bactéries et champignons dans l'élimination des polluants organiques (Camper, 1991 ; Gianfreda *et al* 2004 ; Kim *et al* 2005). Les mécanismes de dégradation des pesticides par les microorganismes peuvent être réalisés par des processus d'oxydation, d'hydrolyse, de déhalogénéation, de conjugaison et de réduction (Kwon *et al*, 2002 ; Topp *et al*, 2004).

La biodégradation des molécules organiques polluantes par la microflore tellurique peut être partielle ou totale. Lorsque la dégradation est complète, le pesticide est décomposé en produits inorganiques de faibles poids moléculaires : c'est la **minéralisation**. Cette minéralisation des produits chimiques dépend très souvent du type métabolisme suivi. En effet dans le cas de la biodégradation anaérobiose totale les produits inorganiques sont constitués par le CO₂, le CH₄, le NH₄, S²⁻ et l'H₂O alors que la biodégradation aérobie donne du CO₂, de l'H₂O , du NO₃⁻ et du SO₄²⁻ (Savadogo, 2001). Lorsque que la dégradation est incomplète, les produits issus de cette transformation biotique ou **métabolites** peuvent avoir un impact négatif sur l'environnement. Ces métabolites sont des intermédiaires dans la séquence de minéralisation. La minéralisation est le seul processus conduisant à l'élimination totale d'un pesticide dans l'environnement. La formation de métabolites entraîne l'apparition de nouveaux xénobiotiques plus ou moins toxique par rapport à la molécule mère et s'inscrivent dans des processus d'activation ou de détoxicification des sols (Scheunert, 1992).

Plusieurs auteurs ont rapporté le processus de la **biodégradation accélérée**, lié à une application répétée d'un même type de pesticide. Ce qui conduit à une adaptation de la microflore du sol qui devient apte à la dégradation du polluant agricole (Loiseau *et al.*, 2002, Martin-Laurent, 2004). Ainsi on a comparé la dégradation de l'atrazine, pesticide utilisé pour désherber le maïs, dans deux sols qui ne diffèrent que par leur usage les années antérieures :

un sol sous monoculture de maïs, traité chaque année à l'atrazine, un sol sous monoculture de blé, où l'on n'utilise pas cet herbicide. Le résultat est très contrasté : dans le sol ayant porté une monoculture de maïs, 85% de l'atrazine est complètement dégradée (minéralisée) par les microorganismes du sol en moins de 15 jours, contre moins de 5% dans le sol sous monoculture de blé. Le pH est un élément déterminant dans le processus de la dégradation accélérée. Des études ont montré une minéralisation accélérée de l'atrazine atteignant environ 80% dans les sols à pH supérieur à 7. En général, un pH faible va à l'encontre du développement d'une microflore spécifique adaptée à la minéralisation du noyau triazinique de l'atrazine (Loiseau *et al*, 2002).

La biodégradation complète des pesticides comporte plusieurs étapes successives, sous les dépendances d'autant de gènes portés par les microorganismes du sol. Une espèce bactérienne ou fongique, n'est pas nécessairement capable à elle seule d'effectuer toutes ces étapes. En effet, plusieurs études ont permis de mettre en évidence, des consortiums bactériens capables de réaliser la dégradation plus ou moins complète des produits phytosanitaires. Chacune de ces communautés microbiennes dégradantes effectue une ou des étapes données de la biodégradation (Topp *et al* 2004).). De nos jours, les méthodes moléculaire permettent de caractériser la diversité, la structure, et le fonctionnement des communautés microbiennes dégradantes (Calvaca *et al*, 1999 ; Soulard, 2003 ; Martin-Laurent *et al*, 2004). Ces populations microbiennes dégradantes sont en général très hétérogènes au niveau taxonomique. En effet, des bactéries très différentes sont capables de réaliser la dégradation de la même molécule. C'est le cas par exemple du carbofurane où l'un des gènes impliqués dans l'hydrolyse de la liaison methyl carbamate : le gène mcd, est retrouvé dans un grand nombre de bactéries très variées au niveau taxonomique. Dans la plupart des cas ces gènes dégradants sont localisés dans des plasmides et sont transférables d'un microorganisme à un autre (transfert horizontal). Les connaissances acquises sur la structure et le fonctionnement de ces populations dégradantes peuvent faciliter la biorémédiation des xénobiotiques agricoles (Topp *et al*, 2004).

La **biorémédiation** consiste à l'utilisation des microorganismes endogènes ou apportés dans la décontamination des sites pollués (Awasthi *et al*, 2000). Elle s'applique aux sols contaminés montrant une absence ou une insuffisance de cellules actives, ou encore une insuffisance de l'activité métabolique de ces enzymes cellulaires. L'inoculation de souches préalablement sélectionnées pour leur capacité de biodégradation des molécules de pesticides et de survie dans les sols correspond à la **bioaugmentation**. La **biostimulation** quant à elle

consiste à la stimulation l'activité dégradante des microorganismes endogènes du sol (Soulas, 1999 ; Topp *et al* 2004).

2.3.2.3. Les voies de la dégradation des pesticides par les microorganismes

Les bactéries et les champignons principaux acteurs impliqués dans la biodégradation des pesticides. Ceci est lié à la prévalence de ces microorganismes dans le sol et l'eau mais à la tendance de ces microorganismes à s'accumuler dans ces milieux. Le métabolisme des pesticides consiste à l'utilisation du carbone pour la biosynthèse biologique et à des mécanismes respiratoires libérant l'énergie. Les microorganismes utilisent trois stratégies majeures dans la dégradation des pesticides :

- **Le cométabolisme** correspond à la biotransformation de la molécule de pesticide concomitamment avec le métabolisme d'un substrat normal permettant la croissance du microorganisme (Coats, 1991). Les microorganismes provoquent la transformation des pesticides en utilisant une autre source de carbone et d'énergie pour leur croissance (Scheunert, 1992).
- **Le catabolisme** consiste à l'utilisation de la molécule organique (pesticide) comme un substrat (nutriment) ou une source d'énergie. Certains pesticides sont susceptibles d'augmenter la biodégradation par la sélection une population spécifique capable d'utiliser le pesticide comme source de carbone et d'azote (Coats, 1991).

D'une manière générale, les premières étapes de la transformation des polluants organiques sont pour leurs plupart catalysées par des exo-enzymes et des enzymes membranaires (oxydoréductases, hydrolases) produites par les microorganismes dans leur milieu proche (Gianfreda *et al*, 2004). Les microorganismes sécrètent des **enzymes** stables qui peuvent fournir au sol des propriétés biochimiques et des capacités catalytiques importantes pour la digestion de substances étrangères (Coats, 1991 ; Vig *et al.*, 2000 ; Gianfreda *et al.*, 2004). Ils sont en général des acteurs primordiaux dans la biotransformation des polluants organiques. Ce qui est justifié par le pouvoir catalytique de leurs systèmes enzymatiques à modifier la structure et la toxicité du contaminant voire même, à minéraliser complètement la molécule en un composé inorganique (Gianfreda *et al*, 2004). Les enzymes du sol sont en général d'origine bactérienne ou fongique. Seulement une petite fraction est produite par les plantes et/ou la faune Les enzymes qui sont le plus souvent

retrouvées dans le sol sont : déshydrogénase, catalase, phosphatase, amylase, cellulase, xylanase, pectinase, saccharase, protéase et uréase (Coats, 1991 ; Vig *et al.*, 2000).

2.3.3. L'effet des pesticides sur la microflore du sol

Si les microorganismes influencent le devenir du pesticide dans le sol, son application peut également affecter la population microbienne tellurique. Cet impact sur la microflore se réalise selon deux voies principales : soit directement à travers l'effet toxique de la molécule ou indirectement en favorisant la sélection d'une population spécifique dégradante capable d'utiliser la molécule comme source de carbone et par conséquent modifiant l'équilibre entre les communautés microbiennes du sol (Vieublé Gonod *et al.*, 2005). Les produits de la dégradation des pesticides peuvent avoir plusieurs effets sur les activités de la microflore du sol. Ces effets incluent une augmentation ou une diminution de la biomasse microbienne entraînant une inhibition ou une stimulation de la respiration, de l'ammonification ou de la nitrification (Okamoto *et al.*, 2000 ; Katayama *et al.*, 2001). Ils sont observés aussi bien en culture pure que dans le sol lui-même. Les effets peuvent être entre autre dus à une inhibition ou une stimulation qui affecte la population d'une espèce donnée ou appartenant à une panoplie d'espèces différentes. Lorsque les pesticides sont appliqués à doses recommandées, ils ne montrent pas en général d'effets significatifs sur la population endogène cultivable. Cependant ils peuvent entraîner des effets temporaires sur certains composants de la microflore tellurique. De même, l'application répétée du même pesticide peut entraîner des modifications de la biomasse et des activités microbiennes.

De nombreux travaux ont rapporté l'effet des pesticides sur la biomasse microbienne. C'est le cas par exemple du turbofos sulfoxide qui est un produit de la dégradation du turbofos qui stimule le nombre de bactéries à plus de 55% après deux semaines d'incubation sur un sol argileux. Les mêmes résultats ont été montrés sur une population fongique avec le turbofos (Camper, 1991). Sutherland *et al.*, 2000 ont démontré l'effet de l'endosulfan monoaldehyde, produit de l'hydrolyse de l'endosulfan, sur la croissance d'une culture mixte de bactérie utilisant le souffre libéré lors de la réaction. Des effets inhibiteurs de pesticides tels que l'endosulfan, la diclchlorofurane, le fosalone ont été observés sur la croissance d'un champignon du genre *Hirtsuella nodulosa* (Taczuk *et al.*, 2004). Slaoui *et al.*, 2001 ont montré une augmentation de la biomasse de la souche *Pseudomonas sp* (Fsv) sur un milieu contenant 200 g/ml de carbofurane. Ceci suggère que la souche F_{sv} présente une tendance à utiliser fortement le N-méthylcarbamate, produit de l'hydrolyse du carbamate comme source

d'azote et faiblement comme source de carbone. Une étude récente sur l'impact d'un fongicide (métalaxyl) sur l'activité microbienne, montre une réduction significative des teneurs en azote total en carbone organique. À l'exception de l'uréase, toutes les activités enzymatiques (déshydrogénase, phosphatase, arylsulfatase et β -glucosidase augmentent significativement et diminuent par la suite (Sukul, 2005). Des effets de stimulation ou d'inhibition des activités déshydrogénase arginine, diminase sont observés après traitement d'insecticides : cyperméthrine, endosulfan, diméthoate, deltaméthrine, thiazophos, monotrocofos (Vig *et al.*, 2000).

Des études récentes ont mis en évidence l'influence des pesticides, sur le fonctionnement, la structure et la diversité des populations microbiennes dégradantes (Fließbach et Mäder, 2004 ; Martin-Laurent *et al.*, 2004 ; Wechert *et al.*, 2004). Les travaux de Vieublé Gonod *et al.* (2005) révèlent une modification significative de la structure génétique des communautés microbiennes du sol en réponse à l'application du 2,4-D.

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Zone d'étude

1.1.1. Présentation du site

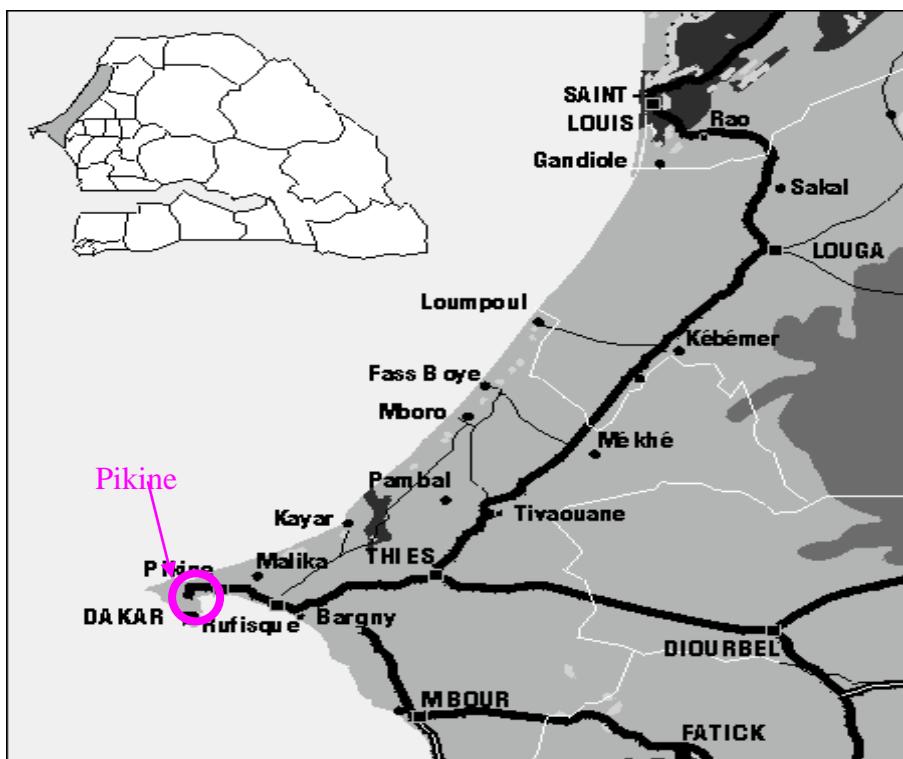


Figure 6: Situation de la zone des Niayes (Fall *et al.*, 2004)

La zone des Niayes s'étend sur une bande côtière de 180 Km de long entre Dakar et Saint-Louis. Les Niayes sont avant tout une zone écologique particulière constituée d'un ensemble de dunes et de dépressions d'âge, de texture et de couleurs différentes reposant sur une nappe peu profonde parfois même affleurante. Cette zone bénéficiant d'un microclimat assez particulier par rapport aux autres parties du pays, a permis le développement d'une végétation luxuriante (Diao, 2003).

Notre site d'étude est situé au niveau de la zone des **Niayes de Pikine Nord** localisé au centre de l'agglomération de Dakar (planche 1).

1.1.2. Choix du site

Les critères suivants ont guidé le choix de la zone des Niayes de Pikine :

- La fréquence d’application des pesticides lors du traitement des cultures.
- L’importance de l’activité maraîchère
- Située en plein cœur de l’agglomération urbaine de Dakar, elle demeure la mieux conservée malgré les agressions dont elle est encore victime (Mengue, 2000).

Des enquêtes menées auprès des responsables maraîchers et d’une étudiante en thèse de sociologie ont permis de répertorier les pesticides utilisés dans la zone d’étude (tableau II).

Famille chimique	Nom commercial	Synonymes de la matière active
Organochlorés	Dicofol	Dicofol ; carbax; Carbox, Acarin
	Moca	Methylenebis,Boca ;Cyanaset
Organophosphorés	Dimethoate	Dimethoate ;Dimethyl phosphorodithioate,
	Malathion	Calmathion ; carbetox ;carbofos; carbophos; celthion; fosfothion; karbofos ; malacide
	Tamaron	Amidophos; Dimethyl phosphoramidothioate; Filitox;; Tamanox
	Sumithion	Fenitrothion ; Nitrophos; Novathion; Nuvanol ; Cyfen; Cytel; Fenitox; Folithion;
	Mocap	Prophos ; Holdem;
	Metafos	nitrox; Metaphor ; Methyl parathion
Pyréthrinoïdes	Dursban	Pyrinex ; Chlorpyrifos ; Brodan ; danusban; chlorpyriphos-ethyl
	Decis	Deltamethrin; esbectyhrin;decamethrin;
	Cypermethrine	Cyperator; Cynoff; Cypercure; Cypercopal; Cyperkill; Cypermart; Cyrux;
	Akares	-Aminohexane; 1-Hexanamine; Hexylamine; n-Hexylamine;
Carbamides	Lannate	Lanox ; Mesomile; Methomyl
Fongicide	Fongex	Thiophanate-méthyl
	furandam	Carbofuran; Carbosip; Chinufur; Crisfuran;
	maneb	Tubothane; Unicrop Maneb; Akzo Chemie Maneb; Manex; Manex 80; Manganous ethylenebis[
	pyradon	amidazofen; piridol; piromidina; polinalin; pyradone; pyramidone

Tableau II : Inventaire des pesticides utilisés au niveau de la zone d'étude

1.1.3. Le sol

La zone des Niayes de Pikine est caractérisée par une succession de dunes et de dépressions souvent inondées par l'affleurement de la nappe phréatique. Cette zone est constituée en général par des sols ferrugineux tropicaux non lessivés. Ces sols dunaires rouges sont très pauvres en matière organique et sont sujets à l'érosion éolienne et aux eaux de ruissellement. Ils sont le plus souvent très humifères et de faible profondeur. On note aussi, la présence de sols hydromorphes organiques, des sols minéraux à pseudo gley et des sols sulfatés acides salés (Fall *et al.*, 2004).

Les sols des Niayes de Pikine sont caractérisés dans l'ensemble par une texture sableuse. Les pourcentages en sable sont élevés (supérieures à 95%) avec une prédominance des sables grossiers pouvant atteindre un taux de 60%. Les teneurs en argile et en limon sont relativement faibles (tableau III)

	Texture			pH (H ₂ O)	CEC	Phosphore total	C total	N total		
	argile		limon							
	fin	grossier	fin							
		% %				P meq% (ppm)	%			
Sol	2,68	0,90	1,40	34,28	60,79	6,36	1,32	509,78	0,55	0,05

Tableau 1III : Caractéristiques physico-chimiques des sols des Niayes de Pikine : horizon 0-20cm

Source : N'dour N.Y.B., 2004

Les caractéristiques physico-chimiques de ces sols sont fonction de la qualité des eaux irrigations (N'dour, 2004).

1.2. Caractérisation des pesticides retenus

Les pesticides utilisés pour cette étude sont : l'Endosulfan (organochloré), la Cyperméthrine (pyréthrinoïde) et le Malathion (organophosphoré). La cyperméthrine et le malathion sont respectivement les plus utilisés chez les pyréthrinoïdes et les organophosphorés au niveau de la zone maraîchère des Niayes de Pikine. L'endosulfan quant à elle est très utilisée en production cotonnière. Cependant son application en maraîchage n'est pas recommandée.

1.2.1. L'endosulfan : (Endosulfan 350 EC ou calisulfan)

Encore appelé: thiosulfan, thiordan, thiomul, thionex, acide sulfurique, malix, ect.

Matière active : 350g/l

ISO : endosulfan

CEE : 602-052-00-5 ;

Nom chimique (IUPAC) : 3-Oxyde de 6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepine

Formule brute : C₉H₆Cl₆O₃S

Poids moléculaire : 406.96

Solubilité dans l'eau : 0.32 mg/l insoluble à 22 °C

DJA = 0.006 mg/kg/j ; DT50 (exprimé en jours) - Min : 36 - Max : 93

C'est un insecticide du groupe des cyclodiènes utilisé sur une large variété de cultures.

L'endosulfan a été réintroduit en culture du coton à partir de 1998, suite semble-t-il à la résistance des noctuelles (*Helicoverpa armigera*) aux organophosphorés et aux pyréthrinoïdes. Il comporte deux isomères α et β ou communément l'endosulfan I ou II dans les proportions 7: 3.

1.2.2. Cyperméthrine (Cysoft)

Egalement appelé ; Cymperator; Cynoff; Cypercot; Cypercopal; Cyperkill; Cypermart ;

Cyrux.

Matière active : 100 g/l

ISO : cypermethrin

CEE : 257-842-9

Composition isomérique : cis/trans=40/60

Formule brute : C₂₂H₁₉Cl₂NO₃

Nom chimique (IUPAC) : (1RS, 3RS; 1RS, 3SR)-3-(2,2-Dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate-(RS)- alpha -cyano(3-phenoxyphenyl)]methyle

Poids moléculaire : 416.31

Solubilité dans l'eau < 9 µg/l à 20 °C

La cyperméthrine est une pyréthrinoïde de synthèse largement utilisée en agriculture pour lutter contre des variétés d'insectes en particulier les parasites des feuilles. Cependant du fait de sa toxicité faible, elle n'est pas recommandée dans la lutte contre les parasites terrestres.

Elle peut être utilisée de très faibles doses. La matière active est en général pure à 90% et comporte huit isomères optiques dont deux isomères Cis-Trans (60 :40).

1.2.3. Malathion

Synonymes : calamathion, carbotex, carbofos, celthion, fosfothion, karbofos, malacide, sadofos.

Matière active : 500 g/l

ISO : malathion

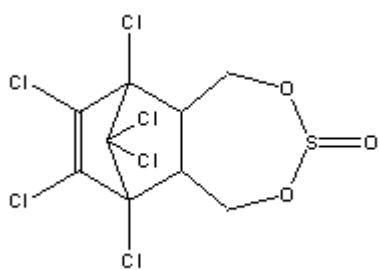
CEE : 015-041-00-X

Nom chimique (IUPAC) : Phosphorodithioate de S-[1,2-bis-(ethoxycarbonyl)]éthyle et de O,O-diméthyle

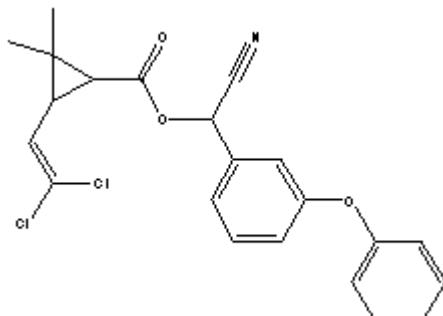
Poids moléculaire : 330.36

Formule brute : C₁₀ H₁₉ O₆ P S₂

La principale utilisation du malathion est en tant que produit antiparasitaire (insecticide organophosphoré et acaricide), plus particulièrement dans la lutte contre les insectes suceurs, brouteurs.



a) Endosulfan



b) Cyperméthrine

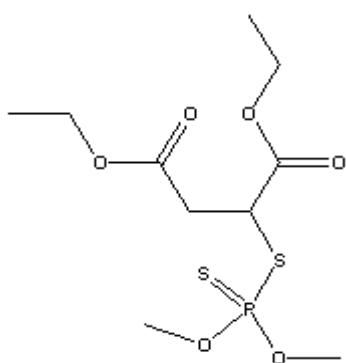


Figure 7 : structure des pesticides retenus pour l'étude : a) endosulfan, b) cyperméthrine et c) malathion

2. Méthode

2.1. Échantillonnage des sols

Un échantillonnage des sols en vue de caractériser les résidus de pesticides dans le sol et pour la mise en place de microcosmes au laboratoire a été effectué. Les prélèvements de sol ont été réalisés par carottage à l'aide d'une tarière sur les horizons 0-20 cm (planche 2). Des échantillons composites sont obtenus par un mélange de trois prélèvements suivant la longueur sur trois niveaux d'une parcelle de 7m x 5m.

Une quantité de 30 kg de sol est ramenée au laboratoire pour la constitution de dispositifs expérimentaux en conditions contrôlées. Le sol est séché à l'air ambiant puis tamisé à 2 mm de maillage et conservé à la température ordinaire.



Planche 1 : le site de la zone des Niayes de Pikine



Planche 2 : prélèvement d'échantillons composites de sol dans les horizons 0-20 cm

2.2. Dispositifs expérimentaux

Au début de chaque expérience, le sol est réactivé afin de restaurer son activité biotique. Le sol est humidifié à 50% de la capacité au champ qui correspond à 3ml d'eau pour 100g de sol. Les échantillons humidifiés sont alors incubés dans une étuve ventilée à 28°C pendant 72 heures.

2.2.1. Dispositif 1 : Suivi de la décomposition des pesticides

Le dispositif expérimental est basé sur le suivi de la décomposition des pesticides résiduels (planche 3). Ce dispositif permet d'analyser les pesticides résiduels dans le sol par HPLC et déterminer les activités enzymatiques de la FDA et de la DHA.

Les pesticides (endosulfan, cyperméthrine, malathion) sont apportés dans le sol à raison de 15 ppm. L'humidité du sol est complétée à 100% de sa capacité au champ. Le sol amendé avec les pesticides est placé dans 120 flacons pour la constitution de microcosmes. Ces flacons sont disposés ensuite dans des bocaux hermétiquement fermés contenant de la soude pour le piégeage du CO₂ libéré par les microorganismes. L'ensemble est incubé à 28°C pendant 30 jours. Tous les deux jours, les bocaux sont aérés. Durant la période d'incubation, des échantillons sont prélevés à 0, 5, 10, 20 et 30 (jours). Pour chaque échantillon prélevé, l'humidité est déterminée et les échantillons sont conservés -20°C en attendant les analyses.

2.2.2. Dispositif 2 : Minéralisation du carbone

Dans ce dispositif (planche 4), il s'agit d'une part d'étudier la minéralisation du carbone en présence de pesticides et d'autres par de mesurer cette minéralisation en présence d'un substrat carboné apporté au sol. Ces substrats servent de source de carbone et d'azote pour la croissance des microorganismes. Les mêmes traitements que ceux du dispositif 1, ont été effectués ; c'est-à-dire :

- 35g de sol des Niayes intact (Témoin)
- 35g de sol des Niayes + 15 ppm Endosulfan
- 35g de sol des Niayes + 15 ppm Cyperméthrine
- 35g de sol des Niayes + 15 ppm Malathion

La minéralisation du pesticide en présence d'un substrat carboné exogène, a été faite en ajoutant une quantité de $100 \mu\text{g C.g}^{-1}$ sol de substrat au présent traitement. Ainsi nous avons retenu quatre types de substrats

- Un carbohydrate simple et son polymère : Glucose et Cellulose
- Un acide aminé et une protéine : la Caséine peptone et l'acide glutamique.

		Substrats			
Traitements	Répétition	Glucose	Cellulose	Acide glutamique	Casamino-acide
Sol Témoin	3				
Sol + Substrat	3	SGlu	SCell	SaG	SCasa
Sol + Substrat + Endosulfan	3	SGluEndo	SCelEndo	SaGEndo	SCasaEndo
Sol + Substrat + Cyperméthrine	3	SGluCyp	SCellCyp	SaGCyp	SCasaCyp
Sol + Substrat + Malathion	3	SGluMal	SCellMal	SaGMal	SCasaMal

Tableau IV : Dispositif de la minéralisation du carbone en présence de substrats exogènes carboné

2.3. Analyses

2.3.1. Extraction des résidus de pesticides du sol

L'extraction a été adaptée selon la méthode de Malin Akerblom (1995). Cette procédure est applicable à l'extraction de la plupart des pesticides non ioniques des échantillons de sol (Figure 8).

Une solution de chlorure d'ammonium est ajoutée à l'échantillon afin de faciliter l'accès du solvant d'extraction aux résidus de pesticides. L'extraction des résidus est réalisée avec une solution de cyclohexane/acétone. Concernant les modifications, la prise d'essai est ramenée au 1/4 alors que le solvant d'extraction est ajusté au 1/2 de son volume. L'extraction comporte trois étapes principaux :

-Solubilisation/dissolution : par le chlorure d'ammonium (NH_4Cl 0,2 M)

-Extraction/séparation : avec une solution de cyclohexane-acétone (v/v)

-Séchage/évaporation : avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4)

L'extraction des pesticides est réalisée en agitant 5 g de sol avec 14 ml d'une solution de chlorure d'ammonium pendant 4 mn. Après une période de décantation de 15 mn, l'ensemble est encore agité pendant au moins une heure avec 50 ml d'une solution de cyclohexane-acétone (1 :1) et laissé au repos toute la nuit. Le mélange est agité toutes les 30 mn pendant deux heures et décanté. On procède à la séparation des phases (organiques et de démixtion) par addition d'eau. La phase organique est transférée (séchée) dans un Erlen contenant 20 g de sulfate de sodium. L'extraction est encore reprise avec 15 ml d'une solution de cyclohexane-acétone. Les phases organiques récupérées sont filtrées (filtre millipore de 0,2 μm) puis concentrées par évaporation au rotavapore à 45°C jusqu'à un volume de 2 ml grâce à un mélange acétonitrile-eau (60- 40%). L'extrait ainsi obtenu est analysé au chromatographe liquide haute performance.

Méthode d'extraction des résidus de pesticides (Malin Akerblom, 1995)

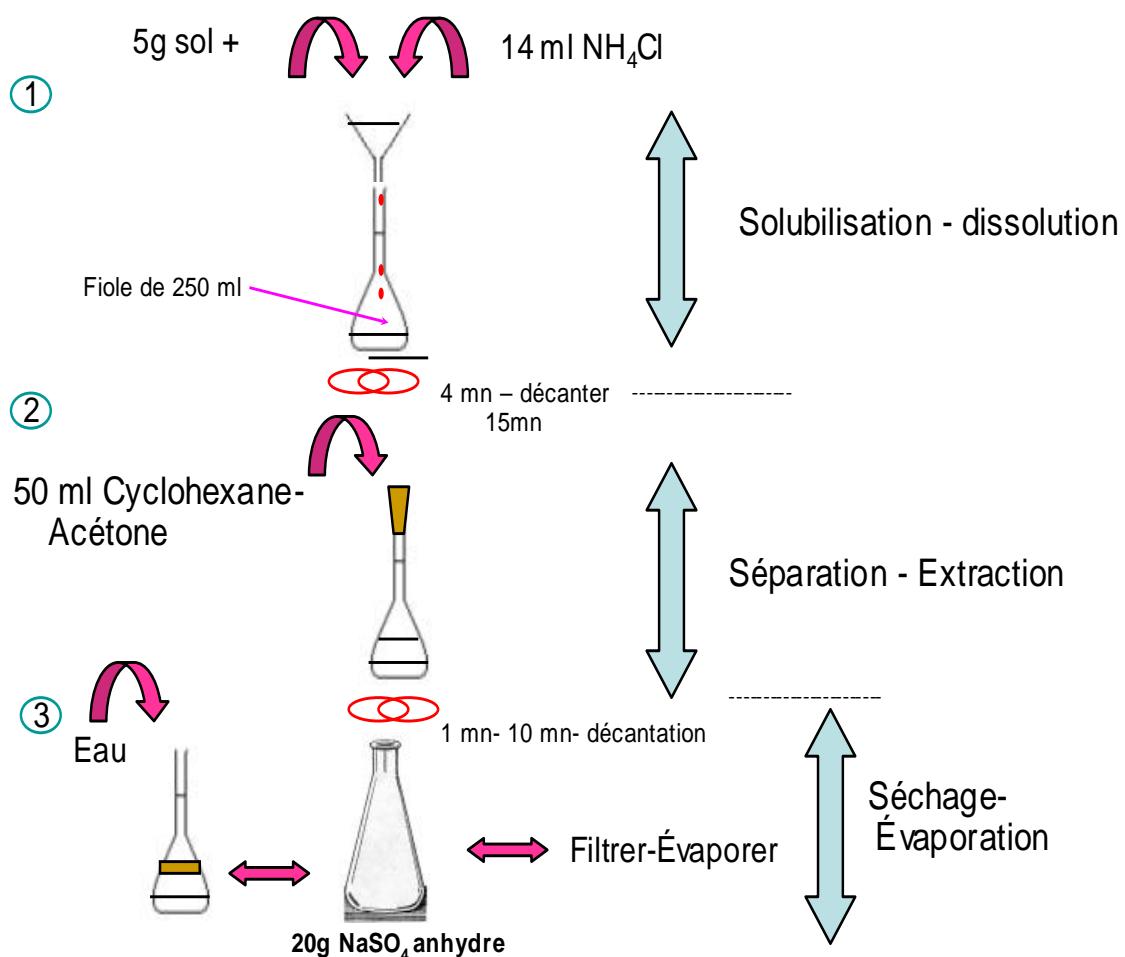


Figure 8 : Schéma global de l'extraction des résidus de pesticides dans le sol

2.3.2. Analyse des pesticides résiduels

L'appareil utilisé pour le dosage des pesticides est un chromatographe HPLC (système LCD analytical ; model : Consta Metric 3200 et 3500) équipé de deux pompes, d'un système d'interface, d'un détecteur (spectrophotomètre UV visible 5000 à barrette d'iode) en sortie de colonne couplé à un intégrateur PC 1000 version 2.5. La colonne analytique utilisée est un RP 18 (250 mm 5 4,6 mm ; BIO RAD).

- Les conditions opératoires sont:

Eluant : mélange Acétonitrile-Eau (60-40%) en isocratique.

Débit de la pompe : 1ml.mn⁻¹

Volume d'injection : 20 µl (injecteur constitué d'une vanne rhéodyne munie d'une boucle d'injection)

La température de la colonne : 30°C

Longueurs d'ondes de détections : scan de 210 nm à 310 nm avec la barrette d'iode

La détermination des teneurs en pesticides dans les échantillons analysés est effectuée à l'aide d'étalons purs (standards). Les échantillons étant analysés dans les mêmes conditions que les étalons. Les pics chromatographiques sont donc identifiés par rapport aux pics standards et des spectres UV sur la gamme 210-310 nm.

2.3.3. Mesure de la Minéralisation du carbone

La minéralisation du carbone est basée sur la mesure des quantités de CO₂ dégagées par rapport au volume total d'air en fonction du temps, par l'échantillon de sol contenu dans un flacon hermétiquement fermé.

Au temps T0 (début de l'incubation), on procède au barbotage des échantillons à l'air comprimé afin de déterminer la quantité initiale de CO₂ dans le flacon. Les échantillons sont ensuite incubés à 28°C pendant 30 jours durant lesquels le flux du CO₂ est mesuré par injection directe au chromatographe en phase gazeuse de type SRA Analytical Instruments (MTI P 200 Microsensor Technology Inc., Fremont, CA, USA) muni d'un détecteur à conductibilité thermique (TCD) et d'une colonne Poraplot et qui utilise l'hélium comme gaz vecteur. L'analyseur est équipé d'un micro-ordinateur muni d'un logiciel EZChrom sous windows qui quantifie le CO₂ par rapport à un étalonnage préalable.

La minéralisation apparente du carbone des substrats apportés a été calculée par la différence entre la quantité de CO₂ enregistré dans les sols amendés avec l'ensemble (pesticide substrat) et la quantité de CO₂ produit dans le sol témoin (sol non amendé). On suppose dans ce cas, que le «priming effect » du à l'apport de substrats sur la matière organique native du sol, est soit négligeable soit comparable pour tous les traitements. Par contre, les variations sont calculées par la différence entre le C-CO₂ libéré par l'ensemble pesticide et substrat et le C-CO₂ produit par le substrat seul.

2.3.4. Mesure des activités enzymatiques

L'influence des pesticides sur la microflore du sol a été aussi déterminée par la mesure des activités enzymatiques. Au cours de notre étude, deux activités enzymatiques ont été étudiées : la déshydrogénase (intracellulaire) et la Fluorescéine diacétate (extracellulaire). La mesure est basée sur le dosage colorimétrique du produit libéré lors de la réaction au spectrophotomètre.

Pour la détermination des activités enzymatiques, des études préliminaires ont été effectuées en vue de l'optimisation de certains paramètres. En effet, la mesure des activités enzymatiques en conditions contrôlées dépend de certains facteurs qui peuvent affecter directement ou indirectement ces dernières. Parmi ces facteurs, on peut citer : la concentration du substrat, le pH, la prise d'essai (poids du sol), la température et le temps d'incubation. On a procédé ainsi pour chaque activité enzymatique à une optimisation de la quantité de sol, du temps et de la température d'incubation. Les mesures des activités enzymatiques vont porter sur les échantillons J0, J5, J10, J20 et J30.

2.3.4.1. L'activité de la déshydrogénase

La mesure de l'activité de la déshydrogénase est effectuée selon la méthode modifiée Thalman (1968). La prise d'essai est ramenée à 1g de sol et le temps de réaction à 24 heures. Le principe est basé sur la réduction du Triphényltétrazolium chloride (TTC) en Triphénylformazan (TPF). Ainsi les échantillons de 1g de sol sont suspendus avec 1 ml de TTC (0,4%) contenu dans une solution tampon Tris-HCl (0,1M) et incubés à l'obscurité à 25°C. A la fin de l'incubation, le TPF (coloration rose) produit est extrait avec une solution de 5ml d'acétone. Après une période d'agitation de 2 heures, la densité optique est lue au

spectrophotomètre (spectronic 401) à 546 nm. L'activité de la déshydrogénase est exprimée en $\mu\text{g TPF produit.g}^{-1} \text{ sol.h}^{-1}$.

2.3.4.2. L'activité de la fluorescéine diacétate (FDA)

L'activité de la fluorescéine diacétate (FDA : 3' 6'-diacetyl-fluorescéine) concerne plusieurs groupes d'enzymes : les estérases non spécifiques, les protéases et les lipases (Adam Duncan, 2001). Le principe de base consiste à mesurer l'hydrolyse de la FDA (incolore) en un produit coloré la fluorescéine visible au spectrophotomètre à 490 nm. L'activité FDA a été mesurée selon la méthode d'Adam et Duncan (2001) modifiée. Ces modifications portent sur la prise d'essai et le temps de réaction. Une quantité de 1g de sol est suspendue dans 200 μl d'une solution de FDA (1mg.ml^{-1}) contenant 15 ml de tampon potassium phosphate (60mM) à pH 7,6. Le mélange ainsi obtenu est homogénéisé pendant 3 mn à 2000 tr/mn et incubé pendant une heure à 30°C. La fluorescéine libérée est extraite avec de l'acétone et la DO est lue aussi spectrophotomètre (spectronic 401). La quantité de fluorescéine est exprimée en $\mu\text{g fl produit.g}^{-1} \text{ sol.h}^{-1}$.

2.4. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel *SuperANOVA* (version 1.01). Ces traitements statistiques des résultats utilisent une méthode de comparaison de moyenne avec le test de Fisher (Fisher's Protected LSD ; $p < 0.05$).

CHAPITRE 3 : RESULTATS

1.1. Minéralisation du carbone

1.1.1. Minéralisation du carbone en présence de Pesticides

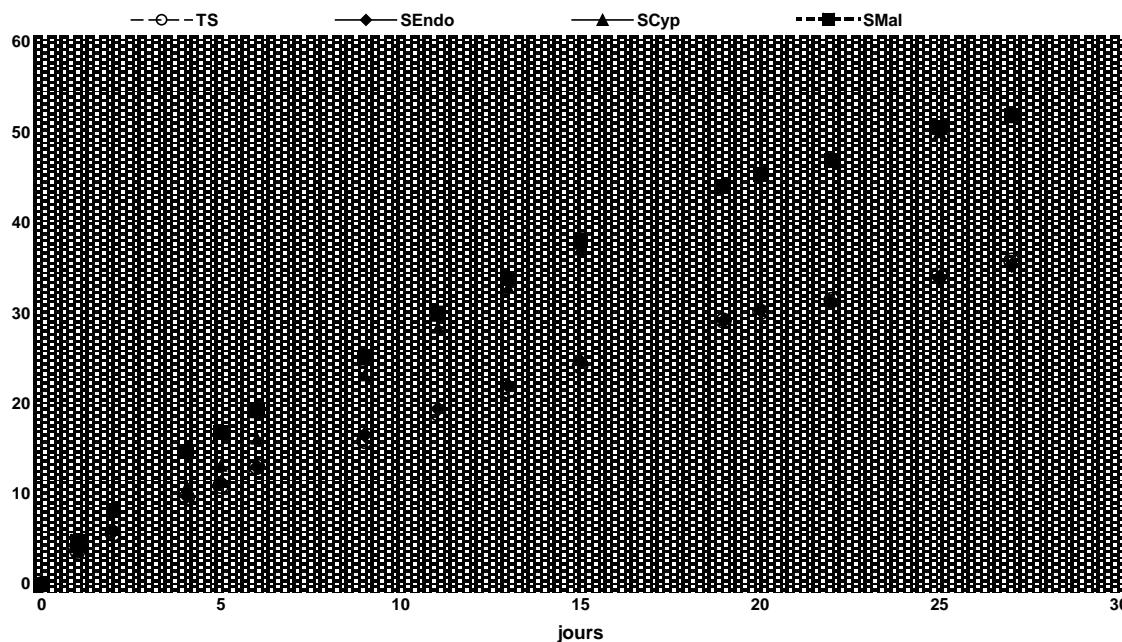


Figure 9: Effet des pesticides sur la minéralisation du carbone. Chaque valeur est une moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les écart-types.

*TS= sol témoin ; SEndo= sol+Endosulfan ; SCyp= sol+ Cyperméthrine ; SMal=sol+Malathion

La figure 9 montre l'évolution des quantités de CO_2 libérées pendant 30 jours par les échantillons incubés en présence de pesticides. Les quantités totales de CO_2 produites varient au cours du temps et selon le type de pesticide.

Pendant les cinq premiers jours, la quantité de CO_2 produite est significativement plus élevée dans le sol traité avec le malathion ($16.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{ sol}$) que dans les sols traités avec l'endosulfan et la cyperméthrine (11.3 et $13.2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{ sol}$). Cela s'explique par le flux élevé de CO_2 ($4.9 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) enregistré au cours de la période 1-2 jours dans le sol incubé en présence du malathion (figure 10). Par la suite, le flux diminue considérablement et devient constant à partir du 10^{ème} jour. Pendant cette période, les flux de CO_2 produits dans les sols traités avec l'endosulfan ($3.8 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) et la cyperméthrine ($3.7 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) sont équivalents. Au cours de la période 5-15 jours, la production de CO_2 augmente fortement dans le sol traité avec la cyperméthrine pour atteindre la quantité CO_2 produite par le malathion par la suite.

Résultats

A la fin de la période d'incubation (figure 11), les quantités de CO₂ enregistrées dans les sols traités avec le malathion et la cyperméthrine sont équivalentes ($51.9 \mu\text{g.g}^{-1}$ et $51.8 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol respectivement). Ces quantités de CO₂ sont significativement plus faibles dans le sol traité avec l'endosulfan ($35,4 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol) et le sol témoin ($35,8 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol).

Les résultats montrent une minéralisation du carbone en présence du malathion et de la cyperméthrine. Cette minéralisation est plus rapide dans le sol traité avec malathion. Comparé au sol témoin, la quantité de carbone minéralisée, indique qu'aucune décomposition n'est observée pour l'endosulfan.

Résultats

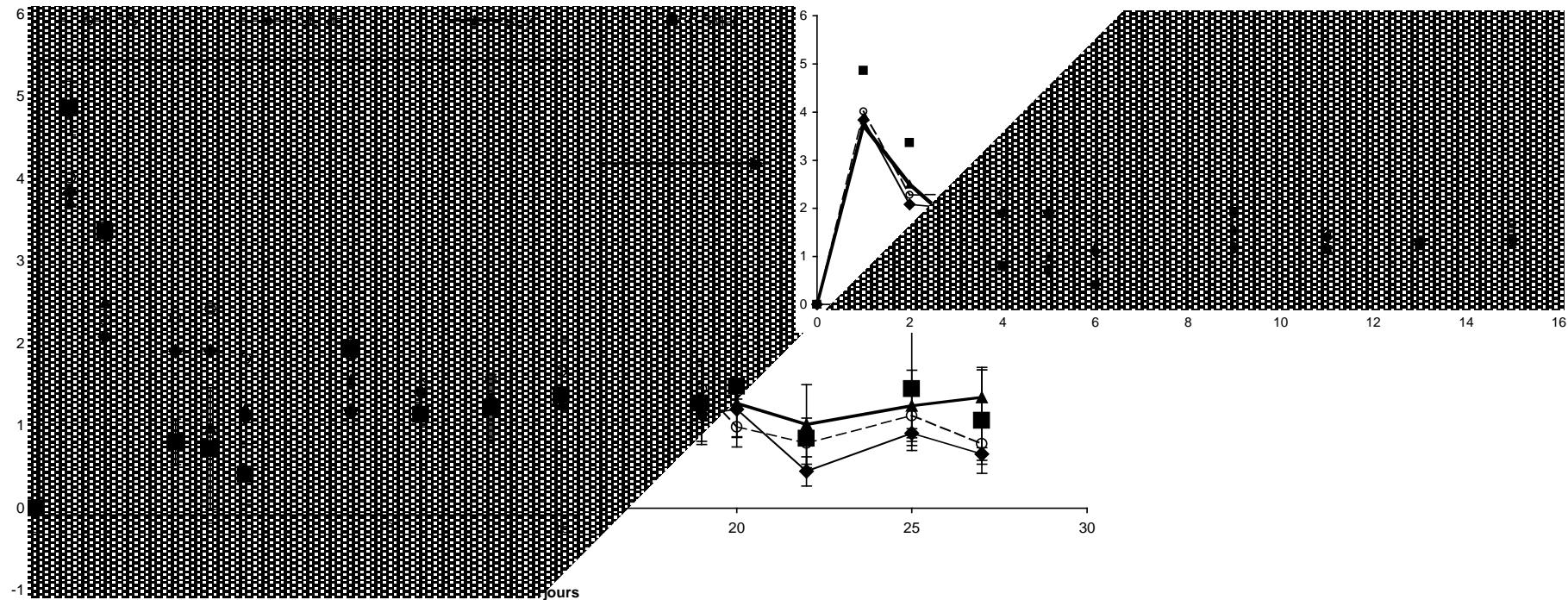


Figure 10: Flux de CO₂ libéré pendant une période d'incubation de 30 jours. Chaque valeur est une moyenne de trois répétitions. Les barres représentent les écart-types.

*TS= sol témoin ; SEndo= sol+Endosulfan ; SCyp= sol+ Cyperméthrine ; SMal=sol+Malathion

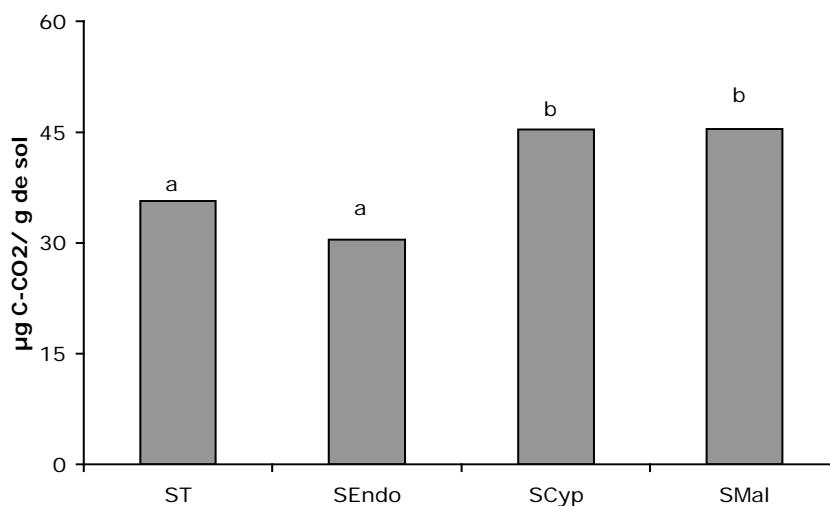


Figure 11 : Quantité CO₂ totale libérée par la minéralisation du carbone des pesticides à 30 jours d’incubation. Chaque histogramme est la moyenne de trois répétitions. Les données qui ont la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher PLSD ($p < 0.05$).

*TS= sol témoin ; SEndo= sol+Endosulfan ; SCyp= sol+ Cyperméthrine ; SMal=sol+Malathion

1.1.2. Minéralisation du carbone des pesticides en présence d'un substrat carboné exogène

Le tableau V montre l’effet de l’ajout de substrats carbonés de qualité différente : glucose, acide glutamique, cellulose et casamino-acide sur la minéralisation du carbone en présence des pesticides : endosulfan, cyperméthrine et malathion. Ces résultats indiquent les quantités de CO₂ totales libérées au bout de 30 jours d’incubation dans les différents traitements.

Après 30 jours d’incubation, les quantités de CO₂ totales enregistrées dans les sols amendés par l’ensemble substrats exogènes et pesticides sont significativement plus élevées que celles libérées dans les sols amendés avec substrats carbonés seuls ou pesticides seuls.

Dans le cas de la minéralisation de l’endosulfan, la production de CO₂ la plus élevée est enregistrée dans le sol amendé avec le mélange endosulfan plus Glucose ($100.6 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Par contre, les quantités CO₂ libérées sont équivalentes dans le cas des sols amendés avec les mélanges endosulfan plus cellulose, endosulfan plus casamino-acide et endosulfan plus acide glutamique (respectivement 72.2 , 77.8 et $85.4 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). La variation ($37.6 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol) calculée par la différence entre le C-CO₂ produit par le mélange pesticide plus substrat carboné et celui produit par le substrat carboné seul (glucose seul), indique une quantité de

Résultats

CO_2 équivalente à celle libérée par le sol traité avec l'endosulfan seul ($35.4 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Cette variation (valeur théorique qui représente en fait la minéralisation potentielle du pesticide) est négative dans le cas de l'acide glutamique ($-3.4 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Par contre, pour la cellulose et le casamino-acide, la variation est inférieure à la quantité de CO_2 produite dans le sol traité avec l'endosulfan seul (témoin). L'analyse de ces résultats, montre une diminution de la quantité de CO_2 minéralisée en présence de l'endosulfan avec l'addition de la cellulose, l'acide glutamique et le casamino-acide. Par contre aucune minéralisation du carbone en présence de l'endosulfan n'est observée avec l'apport du glucose.

Dans le cas de la minéralisation du carbone en présence de la cyperméthrine, la quantité de CO_2 la plus élevée est obtenue dans le sol amendé avec le mélange cyperméthrine plus acide glutamique ($124.6 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Ces quantités sont équivalentes dans les sols amendés avec les mélanges cyperméthrine plus glucose, cyperméthrine plus cellulose et cyperméthrine plus casamino-acide (respectivement 91.54 , 88.5 et $103.9 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Quelque soit le substrat carboné apporté, la variation montre que le C- CO_2 additionnel libéré est significativement inférieur à celui du sol traité avec la cyperméthrine seule ($51.8 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Ce résultat indique que l'ajout de substrats carbonés induit une diminution de la minéralisation du carbone en présence de la cyperméthrine.

Dans le cas de la minéralisation du carbone en présence du malathion, la quantité de CO_2 la plus élevée est obtenue dans le sol amendé avec le mélange malathion plus acide glutamique ($103.6 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Par contre cette quantité est significativement plus faible avec le mélange malathion plus casamino-acide ($72.9 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Les quantités de CO_2 totales enregistrées sont équivalentes dans les sols amendés avec les mélanges malathion plus glucose ($97.8 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol) et malathion plus cellulose ($85.6 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Comme pour la cyperméthrine, les variations de l'activité minéralisatrice du malathion obtenues avec l'apport de substrats carbonés sont significativement plus faibles que le sol traité par le malathion seul ($52.0 \mu\text{g.g}^{-1}$ sol). Ainsi, l'apport de substrats carbonés exogènes induit une diminution de la minéralisation du carbone en présence du malathion.

Résultats

Traitements	sol+ pesticides				sol+pesticides+substrats				sol+ substrats				CO2 Apparent		Variations		
	en $\mu\text{g C-CO}_2\text{g}^{-1}\text{sol}$	Glu	Cellu	acide Glu	Casa	Glu	Cellu	acide Glu	Casa	en $\mu\text{g C-CO}_2\text{g}^{-1}\text{sol}$	pesticide	Glu	Cellu	acide Glu	Casa		
Sol non traité	35,8 a	-	-	-	-	62,7 b	63,5 b	88,8 d	70,6 c	(2,5)	(1,3)	(3,9)	(3,6)	-	-	-	
Endosulfan	35,4 a	100,4 c	72,2 b	85,4 bc	77,8 b	-	-	-	-	-	-0,4	37,6	8,7	-3,4	7,2		
Cyperméthrine	51,78 a	91,5 b	88,5 b	124,6 c	104,0 bc	-	-	-	-	-	15,9	28,8	25,1	35,8	33,4		
Malathion	52,0 a	97,8 cd	85,6 bc	103,6 d	72,9 b	-	-	-	-	-	16,1	35,0	14,8	22,2	2,3		

Tableau V : Effet de l'apport de substrats carbonés sur la minéralisation du carbone des pesticides. Chaque valeur est la moyenne de trois répétitions. Les données qui sont sur la même ligne et qui ont la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher PLSD ($p < 0.05$)

L'analyse des résultats de minéralisation apparente montre une quantité de CO₂ apparent équivalente entre le sol traité avec du malathion (16.1 µg.g⁻¹ sol) et celui traité à la cyperméthrine (15.9 µg.g⁻¹ sol). Ce résultat traduit une minéralisation du malathion et de la cyperméthrine. Par contre aucune minéralisation apparente de l'endosulfan n'est observée (-0.4 µg.g⁻¹ sol).

L'ensemble des résultats montre que la présence de substrats carbonés exogènes, induit une diminution de la minéralisation du carbone en présence des pesticides. Par contre dans le cas de l'endosulfan, l'apport du glucose n'a pas montré d'effet significatif sur la minéralisation du carbone en présence de ce pesticide.

1.2. Activités enzymatiques

1.2.1. Activité de la déshydrogénase

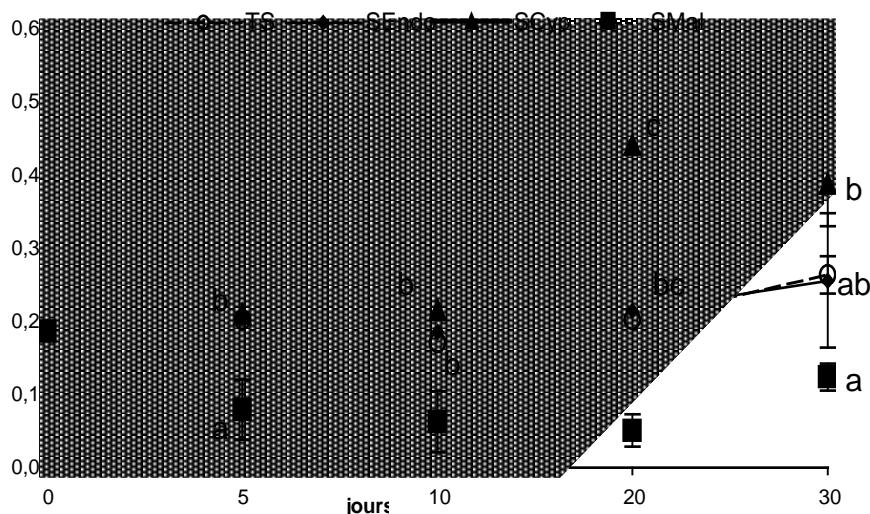


Figure 12: Effet des pesticides sur l'activité de la déshydrogénase pendant 30 jours d'incubation. Chaque donnée est la moyenne de trois répétitions. Les données qui ont la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher PLSD(p<0.05).

*TS= sol témoin ; SEndo= sol+Endosulfan ; SCyp= sol+ Cyperméthrine ; SMal=sol+Malathion

Les résultats du suivi de l'évolution de l'activité de la déshydrogénase varient selon le type de pesticide utilisé (figure 12). Ces résultats montrent que la cyperméthrine induit une augmentation de l'activité microbienne à partir du 10^{ème} jour de l'incubation. Par ailleurs, l'activité de la déshydrogénase la plus faible est obtenue avec le sol traité avec le malathion. Ce dernier induit une forte diminution de l'activité enzymatique dès le début de l'incubation.

Cette réduction de l'activité de la déshydrogénase se poursuit par la suite durant toute la période de l'incubation. Aucune différence significative n'est observée entre le témoin et le sol traité avec l'endosulfan durant toute la durée de l'incubation. Une légère diminution des effets du malathion et de la cyperméthrine sur l'activité de la déshydrogénase est enregistrée à la fin de l'incubation.

1.2.2. Activité de la Fluorescéine Diacétate

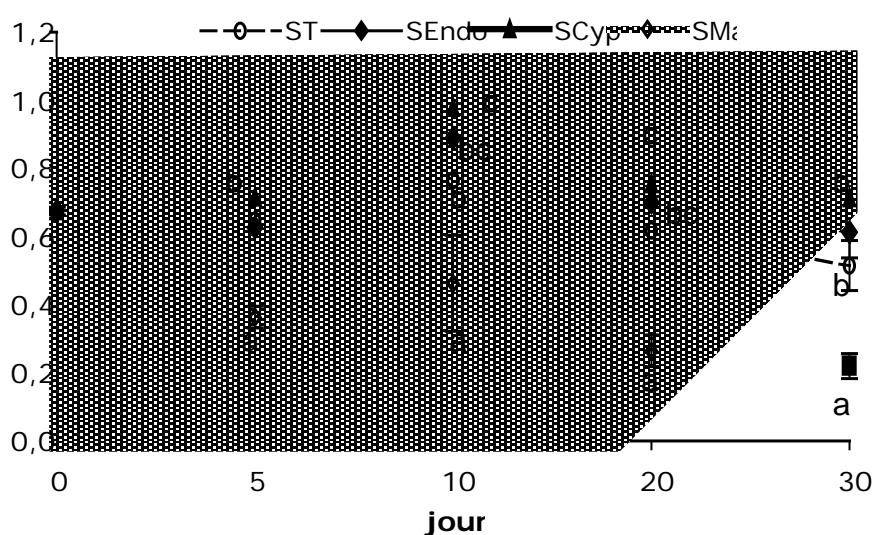


Figure 13: Effets des pesticides sur l'activité de la fluorescéine diacétate exprimée en quantité de fluorescéine produite en $\mu\text{g. g sol sec}^{-1}. \text{h}^{-1}$. Chaque donnée est la moyenne de trois répétitions. Les mêmes lettres correspondent au même seuil de significativité.

*TS= sol témoin ; SEndo= sol+Endosulfan ; SCyp= sol+ Cyperméthrine ; SMal=sol+Malathion

La figure 13 indique l'effet des pesticides sur l'activité de la fluorescéine diacétate (FDA) pendant une période d'incubation de 30 jours. L'activité de la FDA varie en fonction du temps et en fonction du type de pesticide. Cette activité augmente pendant la période d'incubation 5-10 jours et diminue progressivement par la suite jusqu'à la fin de l'incubation. Comparé au sol témoin, l'activité est significativement plus élevée dans le sol traité avec la cyperméthrine. L'endosulfan induit une activité de la FDA supérieure à celle du sol témoin et inférieure à celle de la cyperméthrine. Cependant, les différences ne sont pas significatives. Par contre, le malathion induit une activité FDA significativement inférieure à celle des autres pesticides et le sol témoin pendant toute la durée de l'incubation.

1.3. Dosage des pesticides par HPLC

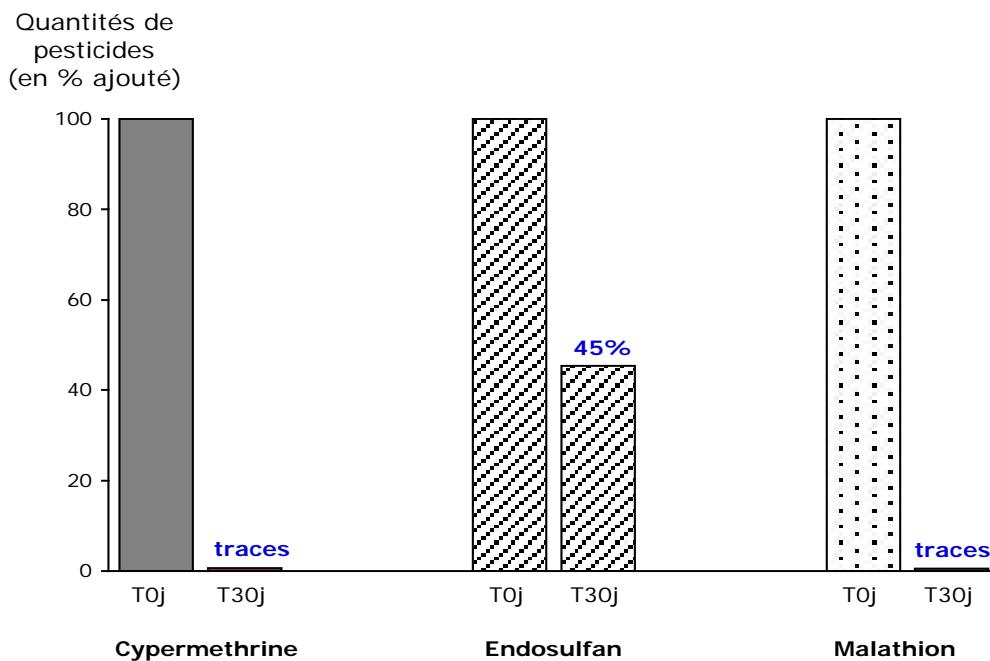


Figure 14 Quantités des pesticides aux concentrations initiales de 15 mg.l^{-1} (T0j) en comparaison avec les quantités de pesticides extraits après 30 jours (T30j) d'incubation dans le sol par HPLC.

Les résultats du dosage des pesticides résiduels dans le sol après 30 jours d'incubation révèlent que le malathion et la cyperméthrine sont presque dégradés à 100%. Par contre l'endosulfan est dégradé à 55% de la quantité initiale ajoutée. Ce résultat montre que l'endosulfan ne s'est pas entièrement dégradé à la différence du malathion et de la cyperméthrine.

1.4. Relation entre la minéralisation du carbone et les activités enzymatiques

La figure 15 monte une représentation de la minéralisation du carbone et des activités enzymatiques. La minéralisation du carbone des pesticides n'est corrélée avec les activités de la déshydrogénase ($r^2 = 0.033$; $P < 0.05$) et de la FDA ($r^2 = 0.075$; $P < 0.05$).

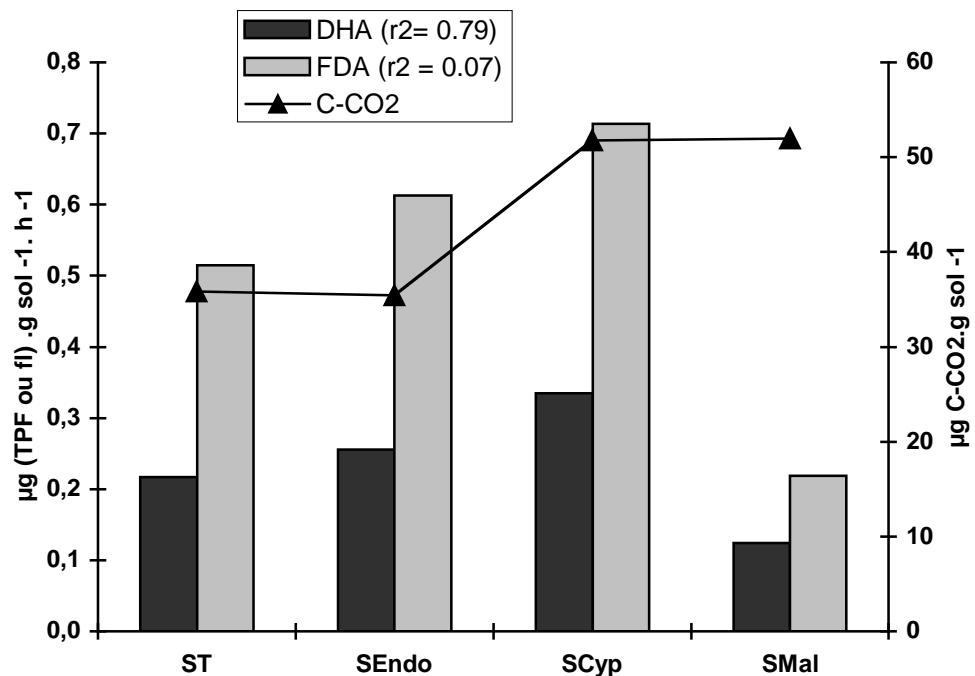


Figure 15: Relation entre le C-CO₂ minéralisé, l'activité de la déshydrogénase (DHA) et l'activité de la fluorescéine diacétate (FDA) durant une période d'incubation de 30 jours. Les valeurs en parenthèse représentent les coefficients de corrélation ($P < 0.05$). Les activités de la DHA et de la FDA sont exprimées respectivement en $\mu\text{g TPF.g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ et en $\mu\text{g fl.g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

*TS= sol témoin ; SEndo= sol+Endosulfan ; SCyp= sol+ Cyperméthrine ; SMal=sol+Malathion

CHAPITRE 4 : DISCUSSION

Au cours de ces travaux, nous avons étudié l'aptitude des microorganismes à la dégradation des pesticides. Il s'agissait de suivre la décomposition des pesticides résiduels pendant toute la durée des expérimentations. Ensuite de déterminer l'impact des pesticides sur les activités microbiennes (activité respiratoire et activités enzymatiques) du sol

1.1. Dégradation des pesticides dans le sol

La respiration du sol estimée par l'évolution du CO₂, est un bon indicateur de l'activité microbienne impliquée dans la décomposition de la matière organique (MO) (Nannipieri *et al.*, 1990). La respiration dépend très souvent des conditions physiologiques des microorganismes mais aussi des paramètres environnementaux comme la température, la lumière et la pollution par les xénobiotiques (Heinonen-Tanskj *et al.*, 1985).

L'évolution des quantités de CO₂ totales produites montre des variations significatives entre les pesticides au cours du temps. Les résultats montrent un profil de minéralisation du carbone similaire entre le malathion et la cyperméthrine. Cependant, les flux de CO₂ indiquent une minéralisation du carbone plus rapide dans le sol traité avec du malathion. Cela signifie que la décomposition du malathion par les organismes est plus rapide. Ce constat s'explique d'une part par la structure chimique du malathion qui est plus simple et d'autre part par le fait que le malathion est utilisé depuis plusieurs années. En effet, le malathion qui est un organophosphoré se dégrade très rapidement sous climat tropical (Racke, 1992). Ce qui peut justifier le flux maximal de CO₂ dès les deux premiers jours de l'incubation. Tandis que pour la cyperméthrine qui est une pyréthrinoïde, donc qui est très peu persistante, la minéralisation du carbone accuse un petit retard au début de l'incubation. Ceci est lié à la structure complexe de la cyperméthrine. La cyperméthrine est caractérisée par la présence de deux noyaux aromatiques conjugués (phénoliques). Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature qui ont montré que la dégradation des pesticides dépend des caractéristiques propres à la molécule (Coats 1991 ; Barruisso, 1996).

Par ailleurs, nos résultats pourraient traduire une bonne adaptation de la microflore du sol à la dégradation du malathion et de la cyperméthrine. Cette aptitude à la biotransformation de ces deux pesticides pourrait être expliquée par la fréquence d'application. Car très souvent, la dégradation d'un pesticide dépend aussi de l'historique de traitement des sols (Martin-Laurent, 2004). Une microflore spécifiquement adaptée à la minéralisation du malathion et de la cyperméthrine serait donc présente dès le début de

l'incubation. En effet, nos enquêtes menées sur la zone d'étude, ont révélé que le malathion et la cyperméthrine sont très fortement utilisés depuis plusieurs années. Des études récentes ont également signalé que ces deux familles chimiques sont les plus représentatives au niveau des Niayes avec respectivement 43,6 % et 18,1 % (Cissé *et al.*, 2003). La zone des Niayes, caractérisée par des applications répétées de pesticides peut entraîner une adaptation de la flore tellurique à la dégradation des pesticides. C'est le processus de la biodégradation accélérée suite à l'utilisation répétée d'un même type de pesticide, rapportée dans plusieurs publications (Loiseau *et al.*, 2002, Martin-Laurent, 2004). En effet, les travaux de Loiseau et al, (2002) ont montré une minéralisation intense, atteignant un taux de 85% après 60 jours d'incubation sur un sol soumis depuis plus de 25 ans à des applications annuelles d'atrazine. Et dans le sol qui n'a jamais été traité à l'atrazine, ils ont obtenu un taux de minéralisation de l'ordre de 8% en fin d'incubation. Les auteurs l'expliquent par le fait que ce dernier ne possède pas une microflore spécifiquement adaptée à la minéralisation de l'atrazine.

En ce qui concerne l'endosulfan, les résultats montrent qu'aucune minéralisation du carbone n'est observée comparé au sol témoin. Ce pesticide ne présente aucun effet significatif sur la respiration du sol. Probablement, ce produit semble avoir subi peu ou pas de dégradation durant toute la durée de l'incubation. Ce résultat pourrait être expliqué par l'appartenance de l'endosulfan à la famille chimique des organochlorés. Ces composés sont chimiquement très stables et peuvent persister pendant plusieurs années dans les sols agricoles (Baiou *et al.*, 2003 ; Ware et Whitacre, 2004). La durée de vie de l'endosulfan est estimée entre 100-120 jours et peut aller jusqu'à quelques mois (Rao et Murty, 1980) voire même plusieurs années dans le sol. Par ailleurs, ce résultat peut traduire le fait que le sol ne comporte pas de communauté microbienne spécifique capable de dégrader l'endosulfan et d'utiliser ce dernier comme source de soufre et de carbone (Guerin, 1999 ; Sutherland *et al.*, 2000). La littérature indique qu'il existe des microorganismes capables de dégrader plus ou moins rapidement l'endosulfan dans le sol. En effet, l'endosulfan est dégradé par des bactéries et des champignons incluant *cyanobacterium sp*, *Nocardia sp*, *Mycobactérium sp*, *Pseudomonas fluorescens*, *Penicillium sp*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Aspergillus sp* (Sutherland *et al.*, 2000 ; Kwon *et al.*, 2002 ; Sidique *et al.*, 2003). Cependant les taux de dégradation sont en général faibles et sont suivis d'un métabolisme aboutissant très souvent à la formation de l'endosulfan sulfate. Ce métabolite produit de l'oxydation de l'endosulfan est également aussi毒ique et persistant que la molécule mère (Kullman et Matsumara 1996 ; Awasthi *et al.*, 2000). Aussi, le pH 6.36 faible du sol des Niayes qui va à l'encontre du développement de la population spécifique dégradante de l'endosulfan peut être aussi pris en compte. Ce

constat est en accord avec celui de Awasthi et al., (2000). Ces auteurs ont montré qu'aucune dégradation de l'endosulfan n'est détectée aux pH acides. Ils ont montré une activité optimum à pH 8.5 où l'endosulfan est le plus dégradé.

L'ensemble de ces résultats sur la minéralisation du carbone va dans le même sens que ceux du dosage des pesticides résiduels par HPLC. Ces derniers révèlent qu'après 30 jours d'incubation, le malathion et la cyperméthrine sont dégradés presque à 100% de la quantité initiale ajoutée. Cependant, comparé à la quantité de CO₂ minéralisée qui montre qu'il n'y a presque aucune dégradation de l'endosulfan, le dosage par HPLC indique une dégradation de 55% du pesticide. Cela montre que l'endosulfan ne s'est pas entièrement dégradé à la différence du malathion et de la cyperméthrine. Ce résultat peut être expliqué par les facteurs biotiques et abiotiques en particulier. En effet, il a été montré que la biodégradation de l'endosulfan dépend des propriétés du sol comme la texture, le pH et la présence de la matière organique (Goebel *et al.*, 1982 ; Sutherland *et al.*, 2002). Les travaux de Awasthi et al. (2000), ont montré que la dégradation de l'endosulfan (2.35 mg.g⁻¹) est estimée à 20% dans un sol à pH 8.7 après 14 semaine d'incubation. Ce même sol donne un taux de 90% après inoculation d'une population bactérienne dégradante. Dans le cas de notre étude, la dégradation rapide de l'endosulfan comparé à la littérature pourrait être due en grande partie à des facteurs abiotiques et non à la microflore endogène du sol. Plusieurs publications ont mis en évidence l'hydrolyse chimique de l'endosulfan en endosulfan diol (Guerin, 1999 ; Sutherland *et al* 2002).

En ce qui concerne le malathion et la cyperméthrine, les hypothèses émises sur la minéralisation du carbone des pesticides restent toujours valables pour le suivi de la dégradation par HPLC. Par ailleurs des études récentes font état d'une dégradation rapide estimée à 60% de la quantité initiale de malathion (500mg.l⁻¹) en moins de 0.5 h. Alors que la dégradation complète du malathion s'effectue après 2 jours (Kim *et al.*, 2005). En plus de la dégradation biotique, la dégradation abiotique doit être pris en compte. Il a été montré que l'hydrolyse (photolyse) est le processus majeur dans la dégradation du malathion (Racke, 1992 ; Pehkonen et Zhang, 2002 ; Bavcon *et al.*, 2003). Dans le cas de la cyperméthrine, l'étude de Maloney *et al.* (1988) a montré que la durée de demi-vie (DT50) d'une quantité initiale de 50 ppm est inférieure à 5 jours.

Le dosage des pesticides par chromatophie en phase gazeuse couplée à la spectro de masse CPG/MS par exemple nous aurait permis de suivre les métabolites issus de la dégradation des

pesticides au cours temps et nous permettrait de mieux appréhender l'impact de ces xénobiotiques sur l'activité microbienne.

Dans le cas des mélanges entre pesticides et substrats carbonés, les résultats montrent que la présence de substrats carbonés exogènes, n'a pas d'effet significatif sur la minéralisation des pesticides. Ce résultat est valable quelque soit le substrat carboné ajouté (simple ou complexe).

Dans le cas de l'endosulfan, l'apport du glucose n'a pas montré d'effet significatif sur la minéralisation du carbone en présence de ce pesticide. La dégradation du malathion et de la cyperméthrine est plus faible en présence des substrats carbonés dans la mesure où ces substrats carbonés induisent une diminution de la minéralisation du carbone en présence de ces pesticides. La source de carbone en plus de la présence du pesticide dans le sol, peut influencer les pourcentages de la dégradation (Awasthi *et al.*, 2000). Plusieurs auteurs ont montré que la présence d'une source de carbone additionnelle entraîne une diminution voir même une inhibition de la dégradation des pesticides (Sahu *et al.*, 1993). Des résultats similaires aux nôtres ont été rapportés par Awasthi *et al.*, (2000) qui ont observée une diminution (inhibition) significative de la dégradation de l'endosulfan avec l'addition de l'acétate de sodium et du succinate de sodium. Par contre, l'addition du glucose n'a pas montré d'effet significatif sur la dégradation de l'endosulfan. Et à l'absence de ces substrats carbonés le sol traité à l'endosulfan seul montre un taux de dégradation élevé de 75% après 7 semaines d'incubation.

Ces résultats peuvent être liés à une préférence des microorganismes à la dégradation des substrats carbonés au détriment des pesticides. Ils révèlent en fait une compétition probable de la microflore endogène pour la dégradation du pesticide et du substrat carboné exogène. Les résultats ont montré que les quantités de CO₂ minéralisées sont significativement plus élevées dans les sols amendés avec les mélanges pesticides plus substrats carbonés. Par ailleurs, comparé au sol traité avec le pesticide seul, la quantité de CO₂ additionnelle dépend du substrat ajouté. Dans le cas des mélanges pesticides plus substrats carbonés, le C-CO₂ additionnel libéré est significativement plus élevé dans les sols amendés avec le glucose et avec l'acide glutamique. Ce résultat peut être expliqué par la structure simple du glucose et de l'acide glutamique. En ce qui concerne l'acide glutamique, la présence d'une source de N organique est à prendre en compte. Ce qui pourrait faciliter leur utilisation par la microflore, contrairement à leurs polymères respectifs plus complexes (cellulose, caséine peptone).

Le mécanisme possible, permettant d'expliquer nos résultats est le co-métabolisme. Kuzyakov et al. (2000) définit le co-métabolisme comme une augmentation de la dégradation de la MO due à une croissance microbienne accompagnée d'une augmentation de la production d'enzymes. Les microorganismes provoquent la dégradation des pesticides en utilisant une autre source de carbone et d'énergie pour leur croissance (Scheunert, 1992). Cependant cette hypothèse est contradictoire avec nos résultats dans la mesure où la variation calculée est inférieure à la minéralisation potentielle (probable) des pesticides. Pour l'endosulfan par exemple, la variation est même inférieure à la minéralisation apparente du pesticide avec l'addition de l'acide glutamique. Ce mécanisme pourrait expliquer le cas du glucose, mais la variation n'est pas significative comparée au sol traité avec l'endosulfan seul. Par ailleurs, le co-métabolisme pourrait être confirmé ou infirmé par le suivi de l'évolution du métabolisme des pesticides par marquage isotopique ou par le suivi par HPLC ou CG/MS des métabolites et des extraits de sol contenant le pesticide et un substrat (en cinétique). Le co-métabolisme est mis en évidence par CG/MS, lors des travaux de Neumann et al. (2003) qui ont montré que la souche *ADP Pseudomonas sp.* est capable de dégrader l'atrazine en l'utilisant comme source de N simultanément avec le métabolisme d'un substrat additionnel (sodium succinate) comme source de carbone et d'énergie pour la croissance. Cette étude serait nécessaire dans la mesure où le sol constitue un milieu complexe dans lequel, plusieurs autres facteurs peuvent expliquer nos résultats.

Par conséquent, il est aussi intéressant de souligner l'effet d'une possible influence de la décomposition de la matière organique native du sol. Cet effet est communément appelé « Priming Effect » (Kuzyakov et al., 2000 ; Fontaine et al., 2003 ; Harmer et Marschner, 2005). D'après ces auteurs, l'addition de certains substrats carbonés peut accélérer ou retarder la minéralisation de la matière organique native du sol. Ce phénomène du « priming Effect » est très souvent réalisé par induction de la respiration microbienne grâce à l'ajout de résidus végétaux et de substrats simples (glucose, fructose, alanine, acide oxalique et le catéchol). De Nobili et al. (2001) suggèrent que certains microorganismes requièrent une faible quantité d'énergie pour maintenir la cellule dans un état d'alerte métabolique. Ainsi ils seront capables de réagir plus rapidement aux substrats que les cellules dormantes. Dans le cas de notre étude, le phénomène résulte d'une disponibilité plus élevée d'énergie pouvant induire un phénomène de priming effect (PE) négative. Dans ce cas précis, l'addition du substrat carboné est toxique aux microorganismes, inhibant ainsi l'activité enzymatique étroitement liée aux modifications la structure de la MO (Fierer et al., 2001). Les travaux de

Harmer et Marschner, (2004) montre un priming Effect négative avec le catéchol estimé à -24%. Ainsi l'étude de l'évolution de la minéralisation nette du carbone par marquage isotopique (^{13}C ou ^{14}C -substrats) permettrait de mieux connaître le C-CO₂ issu de la dégradation nette du pesticide et celui apporté par les substrats exogènes.

En somme, la compréhension de ces facteurs (priming effect, co-métabolisme) est un élément déterminant pour améliorer les conditions de l'utilisation des microorganismes en vue de la biorémédiation des pesticides.

1.2. Impact des pesticides sur l'activité enzymatique

L'impact est similaire entre les activités de la FDA et de la Déshydrogénase et varie différemment selon le type de pesticide au cours du temps.

Dans le cas de l'activité de la déshydrogénase les résultats indiquent une augmentation de l'activité microbienne en présence de la cyperméthrine et une diminution dans le sol traité avec le malathion. Par contre, l'endosulfan ne montre pas d'effet significatif sur l'activité de la déshydrogénase. Les résultats traduisent une stimulation de l'activité de la déshydrogénase par la cyperméthrine et une inhibition par le malathion. La déshydrogénase décrit comme étant un indicateur sensible aux changements environnementaux, peut être employée pour évaluer l'impact des pesticides sur les populations microbiennes du sol (Menon *et al.*, 2005). L'activité de la déshydrogénase est une mesure de l'intensité du métabolisme microbien oxydant ainsi que de l'activité microbiologique du sol. Cette activité est un bon indicateur du potentiel biologique redox du sol. C'est une enzyme intracellulaire de type respiratoire (Camina *et al.*, 1998; Quilchano et Maranòn, 2002). La déshydrogénase est présente dans tous les microorganismes vivants (Dick, 1997). L'effet de stimulation de l'activité de la déshydrogénase par la cyperméthrine peut être attribué à l'augmentation de la biomasse microbienne (Skujins, 1973) ou des nutriments dans le sol (Staddon *et al.*, 2001). Par contre l'effet inhibiteur de l'activité de la déshydrogénase par le malathion peut être attribué à une toxicité des produits de sa dégradation sur la microflore du sol. Ainsi les travaux de Kim et al. (2005) ont montré des effets toxiques du malathion et de ses métabolites incluant le malathion monoacide sur des bactéries bio luminescentes. Ces métabolites causent des dommages sur la membrane et sur les synthèses protéiques des cellules bactériennes (Kim *et al.*, 2005). Ce résultat peut être aussi expliqué par un phénomène de complexation avec le

substrat Triphényltétrazolium chloride (TTC). Les travaux de Quilchano et Maranòn (2002) ont rapporté une relation positive entre la déshydrogénase et les propriétés du sol tels que le pH, la teneur en N, Ca, Mg et l'humidité du sol. Certains auteurs mettent en exergue la relation qui existe entre la réponse de l'enzyme du sol due à la présence du pesticide, les caractéristiques propres aux xénobiotiques et les propriétés du sol (Sannino et Gianfreda, 2001). Plusieurs auteurs ont rapporté des effets de stimulation et d'inhibition de l'activité de la déshydrogénase en présence des pesticides (Fließbach et Mäder, 2004 ; Lin *et al.*, 2005). Les travaux de Vig *et al.* (2001) qui ont porté sur deux sols qui ont subis ou pas un ou plusieurs traitement(s) préalable(s) d'insecticides. Ces travaux ont montré tantôt une stimulation de l'activité de la déshydrogénase dans les sols traités à la cyperméthrine, diméthoate et une inhibition par le monotrocophos. Par contre l'endosulfan et le thiazophos n'ont pas montré d'effet sur l'activité de la déshydrogénase. Au cours de cette même étude des résultats contradictoires aux nôtres ont été observés selon les cas cité précédemment c'est à dire une inhibition par la cyperméthrine ou une stimulation par l'endosulfan.

Dans le cas l'activité de la FDA, les résultats indiquent une augmentation de l'activité dans sol traité avec la cyperméthrine et une diminution au niveau du sol traité avec le malathion. Les résultats révèlent une possible stimulation de l'activité de la FDA par la cyperméthrine et une inhibition par le malathion. Par contre aucun effet significatif n'est obtenu avec le sol traité avec l'endosulfan. L'hydrolyse de la FDA permet une mesure plus globale de l'activité microbienne du sol. Cette hydrolyse est une mesure de l'activité des protéases, lipases et estérases (Dick, 1997 ; Adam Duncan, 2001). Ces enzymes sont capables de fonctionner à l'extérieur des cellules et pouvant ainsi se complexer avec les colloïdes du sol (Schnürer et Rosswall, 1982). La FDA est hydrolysée aussi bien par les enzymes libres (exo-enzymes) et les enzymes membranaires (Stubberfield et Shaw, 1990). Plusieurs études font état de l'utilisation de l'activité de la FDA pour évaluer l'impact des pesticides sur la microlflore du sol (Bjørnlund *et al.*, 2000 ; Lin *et al.*, 2005).

L'effet stimulateur par la cyperméthrine de l'activité de la FDA peut être dû à une augmentation de la biomasse microbienne. En effet, l'activité de la FDA augmente avec la composition de la MO, l'humidité et avec l'augmentation de la biomasse microbienne (Schnürer et Rosswall, 1986). Par contre l'effet inhibiteur du malathion peut être expliqué par l'effet toxique du malathion monoacide comme décrit pour la déshydrogénase. En effet, les travaux de Bjørnlund et al. (2000) signalent que l'effet inhibiteur du pesticide sur l'activité de la FDA peut découler de la combinaison de l'effet du pesticide même et de ses

métabolites. Pendant cette étude, le fenpropimorph (fongicide) montre un effet inhibiteur à long terme sur des populations fongiques et bactériennes saprophytes.

Aucune corrélation positive n'est observée entre la minéralisation du carbone des pesticides et les activités de la déshydrogénase ($r^2 = 0.003$; $P < 0.05$) et de la FDA ($r^2 = 0.075$; $P < 0.05$). Ce constat peut se justifier par l'effet toxique des produits de la dégradation du malathion en particulier le malathion monoacide sur la microflore du sol comme décrit par Kim et al. (2005). Cela se traduit par une inhibition des activités enzymatiques de la déshydrogénase et de la FDA. Des résultats opposés aux nôtres, ont été obtenus par certains auteurs avec d'autres pesticides autre que le malathion. C'est le cas des travaux de Lin et al. (2005) qui révèlent que la minéralisation nette de l'atrazine après 100 jours d'incubation est positivement plus corrélée avec la déshydrogénase ($r^2 = 0.763$) que l'hydrolyse de la FDA ($r^2 = 0.494$).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail nous a permis de suivre la dégradation des pesticides résiduels dans les sols sableux maraîchers de la zone des Niayes de Dakar. Il ressort de cette étude que les trois pesticides utilisés se dégradent de manière différente dans ces sols tropicaux sableux. Elle révèle une bonne aptitude des sols des Niayes à la dégradation du malathion et de la cyperméthrine. Les résultats de nos travaux montrent que ces sols ne possèdent pas une microflore spécifiquement adaptée à la décomposition de l'endosulfan. Nous démontrons par cette étude que l'historique du traitement et la nature chimique du pesticide semble constituer des éléments déterminants dans la biotransformation de la molécule pesticide. Les résultats indiquent également qu'il n'y a pas d'effet significatif de l'ajout de substrats exogènes carbonés sur la cinétique de la dégradation des pesticides. L'addition de ces substrats énergétiques n'a pas amplifier la dégradation des pesticides.

Par ailleurs, l'étude de l'effet des pesticides sur l'activité microbienne du sol (respiration et activités enzymatiques), a permis de mettre en évidence une stimulation par la cyperméthrine et une inhibition par le malathion. Par contre l'endosulfan ne montre pas d'effet significatif sur l'activité microbienne du sol.

Ainsi la connaissance du comportement du pesticide dans le sol et de ses interactions avec la microflore, est un paramètre essentiel pour la biorémédiation. Par conséquent, le sol est un élément incontournable dans les processus de dépollution des sites agricoles soumis à un usage abusif de pesticides. Le sol, par son rôle de récepteur, d'épurateur et d'accumulateur, est le compartiment central de la régulation de ces pollutions.

Pour mieux appréhender l'effet de la dégradation des pesticides sur la microflore du sol des études complémentaires devront être prises en compte :

- Étude des mécanismes de la biodégradation des pesticides, par marquage isotopique afin de vérifier le phénomène du «Priming effect». Cette étude consistera à la détermination de la minéralisation nette, permettant de mieux connaître le C-CO₂ issu de la dégradation du pesticide et celui apporté par les substrats énergétiques exogènes.
- Le dosage des pesticides par chromatographie en phase gazeuse ou en phase liquide couplée à la spectrophotométrie de masse CPG/MS (ou HPLC/MS) par exemple nous aurait permis de suivre les métabolites issus de la dégradation des pesticides au cours

du temps et nous permettrait de mieux préciser l'impact de ces pesticides sur l'activité microbienne.

- La poursuite de l'étude sur l'effet de l'apport de substrats énergétiques C, N, S, P ou de résidus végétaux sur la décomposition des pesticides afin d'évaluer le co-métabolisme entrepris par la flore endogène dans la digestion de la molécule pesticide.
- L'utilisation des techniques de biologie moléculaire nous permettra d'isoler et d'identifier les populations microbiennes impliquées dans la biodégradation des pesticides dans le sol.
- L'étude des phénomènes de transfert des pesticides du sol aux ressources en eau (eaux de surface et eaux souterraines) sont à entreprendre afin de mesurer la pollution par les pesticides dans des sols très sableux tels que les sols des Niayes de Pikine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ADAM, G. and DUNCAN, H.** (2001). Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluoresceine diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33: 943-951.
2. **AFNOR**, (1980). Association Française de normalisation. Pesticides: noms communs des pesticides
3. **AGGANGAN, R. T., O'CONNELL, A. M., MC GRATH, J. F., DELL, B.** (1999). The effects of *Eucalyptus globulus* Labill. leaf litter on C and N mineralization in soils from pasture and native forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 31: 1481-1487.
4. **AKERBLOM, M.** (1995). Environmental Monitoring of Pesticide Residues. Guidelines for the SADC Region. Sweden. 145p.
5. **AWASTHI, N., RAJIV AHUJA, R., KUMAR A.** (2000). Factors influencing the degradation of soil-applied endosulfan isomers. *Soil Biology and, Biochemistry*, 32 : 1697-1705
6. **BARRIUSO E. and CALVET R.** (1992). Soil type and herbicides adsorption. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 46, 117-128.
7. **BARRIUSO E., CALVET R., SCHIAVON M., SOULAS G.** (1996). Les pesticides et les polluants organiques des sols. *Transformations et dissipation*. Etude Gestion Sols, 3, 279-296.
8. **BAVCON, M., TREBSE, P., ZUPANCIC-KRALJ, L.** (2003). Investigation of the determination and transformations of diazon and malathion under environmental conditions using gas chromatography coupled with a flame ionisation detector. *Chemosphere*, 50: 595-601.
9. **BENOIT, P., BARRIUSO, E., BERGHEAUD, V., ETIÉVANT, V.** (2000). Binding capacities of different soil size fractions in the formation of herbicide-bound residues. *In Agriculture and Environment Agronomie* 20 (2000) 505–512 505 ©INRA, EDP Sciences 2000
10. **BIAOU, F. C.** (2003). Utilisation des pesticides dans la culture du coton au Bénin : Analyse des résidus d'endosulfan et thiazophos dans le sol et les végétaux. *Mémoire de DEA à l'ISE, UCAD, Dakar* 39 p.
11. **BJØRNLUND, L., EKELUND, F., CHRISTENSEN, S., JACOBSEN, C.S., KROGH, P.H., JOHNSEN, K.** (2000). Interactions between saprotrophic fungi, bacteria and protozoa on decomposing wheat roots in soil influenced by the

- fungicide fenpropimorph (Corbel): a field study. *Soil Biology and, Biochemistry*, 32 : 967-975
12. C.E.E, (1991). Journal Officiel des Communautés Européennes du 15/7/1991. Directive du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (91/414 : CEE).
13. CAMIÑA, F., TRASAR-CEPEDA, C., GIL-SOTRES F., LEIROS, C. (1998). Measurement of dehydrogenase activity in acid soils rich in organic matter. *Soil Biology and, Biochemistry*, 30:1005–1011
14. CAMPER, N.D. (1991). Effects of pesticide degradation products on soil microflora. In *Pesticide Transformation Products “Fate and Significance in the Environment”* Somasundaram, L., Coats, J.R., Eds. ACS Symposium series 459. *American Chemical Society*, Washington, DC. (Oxford University Press), 205-216.
15. CAVALCA, L., HARTMANN, A., ROUARD, N., SOULAS, G. (1999) Localization and polymorphism of tfdC genes among 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degrading soil bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* 29: 45-58
16. CILSS, (2000). INSTITUT DU SAHEL Comité Sahélien des Pesticides. Composition du dossier d'homologation des pesticides au Sahel Version du 8 décembre 2000.
17. CISSE, I. (2000). Utilisation des pesticides dans le système de production horticole dans la zone des Niayes : les produits et leur impact sur la nappe phréatique. *Thèse de Doctorat en Géographie*, UCAD, Dakar, 136 p.
18. CISSÉ, I., FALL S.T., AKINBAMIJO, O.O., DIOP, Y.MB., ADEDIRAN, S.A. (2001). Agriculture urbaine intensive et santé publique : l'utilisation des pesticides et leurs incidences sur la contamination des nappes phréatiques et les risques sur la santé des populations dans la zone des Niayes au Sénégal. in *Séminaire atelier sur l'agriculture urbaine dans les villes Ouest africaines : impacts des systèmes intégrés de production intensive. 5-8 août 2001, Sénégal*
19. CISSÉ, I., TANDIA, A.A, FALL, S.T., DIOP, E.S. (2003). Usage incontrôlé des pesticides en agriculture périurbaine : cas de la zone des Niayes au Sénégal. Cahiers/Agricultures. Vol12, n° 3, pp181-186
20. COATS, J.R. (1991). Pesticide Degradation Mechanisms and Environmtal Activation. In *Pesticide Transformation Products “Fate and Significance in the Environment”* Somasundaram, L., Coats, J.R., Eds. ACS Symposium series 459. *American Chemical Society*, Washington, DC. (Oxford University Press). pp11-30

21. **COLY, A.** (2000). Recherche et dosage des pesticides organochlorés dans le maternel au niveau de la région de Dakar. *Thèse de doctorat en pharmacie, UCAD, Dakar*, 236 p.
22. **COM**, (2002). Communication de la commission au conseil, au parlement européen et au comité économique et social vers une stratégie thématique concernant l'utilisation durable des pesticides Bruxelles, le 1.7.2002, 45 pp.
23. **COULIBALY, H.** (2005). Le SCV (Semis direct sous Couverture Végétale), un élément stratégique de gestion durable des terres agricoles : une expérience française comme base de réflexion pour le Mali. DEPA (*Diplôme d'Études Professionnelles Approfondies*), Département Gestion de l'Environnement à l'université Senghor Alexandrie/Égypte.
24. **COULIBALY, K. and SMITH, J.S.** (1990). Thermostability of organophosphate pesticides and some of their major metabolites in water and beef muscle. *J. Agric. Food. Chem.* 38:674-677
25. **DAY, K.E.** (1991). Pesticide transformation products in surface waters. In *Pesticide Transformation Products. Fate and Significance in the Environment*. pp 205-216.
26. **DE NOBILI, M., CONTIN, M., MONDINI, C., BROOKES, P.C.** (2001). Soil microbial biomass is triggered into activity by trace amounts of substrate. *Soil Biology and Biochemistry*, 33 : 1163–1170.
27. **DIAO, M.B.** (2004). Situation et contraintes des systèmes urbains et périurbains de production horticole et animale dans la région de Dakar. Cahiers/Agricultures. Vol. 13. N°1 pp39-49
28. **DICK, R.P.** (997). Soil enzyme activities as integrative indicators of oil health. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. ds.), *Biological Indicators of Soil Health*. CAB International, New York, pp. 121–156.
29. **DUNN, R. A. and NOLING, J.W.** (2003). Characteristics of principal nematicides .*One of a series of the Entomology and Nematology Departement, Institute of food and Agricultural Sciences, University of Florida.* <http://edis.ifas.ufl.edu>
30. **FALL, A.S., FALL, S.T., CISSE, I., BADIANE, A.N., DIAO, M.B., FALL, C.A.** (2004). Caractérisation de la zone des Niayes. CRDI. 7 p. http://idrc.ca/en/evidence/27906-201-1-DO_TOPIC.htm

31. **FAO/OMS**, (2002) manual on development and use of FAO and WHO specifications for pesticides first edition prepared by the FAO/WHO joint meeting on pesticide specifications (JMPs) Rome, 2002. 264 pp.
32. **FIERER, N., SCHIMEL, J.P., CATES, R.G., ZOU, J.** (2001). Influence of balsam poplar tannin fractions on carbon and nitrogen dynamics in Alaskan taiga floodplain soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33 : 1827–1839.
33. **FIEßBACH, A. and MÄDER, P.** (2004). Short-long term effects on soil microorganisms of two potatoe pesticide spraying sequences with either glufosinate or dinoseb as defoliant. *Biol. Fertil. Soil*, 40: 268-276
34. **FONTAINE, S., MARIOTTI, A., ABBADIE, L.** (2003). The priming effect of organic matter: a question of microbial competition?. *Soil Biology and Biochemistry*, 35: 837–843.
35. **GIANFREDA, L. and RAO, M.R.** (2004). Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme, Microbial Technology*, 35: 339-354
36. **GOEBEL, H., GORBACH, S., KNAUF, W., RIMPAU, R.H., HUTTENBACH, H.** (1982). Properties, effects, residues and analytics of the insecticide endosulfan. *Residue Reviews* 83, pp. 1–122.
37. **GREENPEACE**, (1995). Rapport sur l'interdiction à l'échelle mondiale des polluants organiques persistants, septembre
38. **GREENPEACE**, (2001). POPs treaty. Briefing paper: First International Treaty to Ban World's most Dangerous Chemicals: Persistent Organic Pollutants to be signed Stockholm, Sweden 22-23 May 2001
39. **GUERIN, T.F.** (1999). The anaerobic degradation of endosulfan by indigenous microorganisms from low-oxygen soils and sediments. *Environmental Pollution*, 106 : 13-21
40. **HARMER, U. and MARSCHNER, B.** (2005). Priming effects in different soil types induced by fructose, alanine, oxalic acid and catechol additions. *Soil Biology and Biochemistry*, 37 : 445-454.
41. **HARTMANN, A.** (2004). Populations microbiennes impliquées dans la dégradation accélérée de quelques molécules modèles : apports de l'écologie moléculaire et perspectives en biorémédiation. In. Produits phytosanitaires : impact environnemental, gestion et traitement .XXXVème congrès du Groupe Français des Pesticides. Session 3, 6p.

42. **HEINONEN-TANSKJ,** (1985). The effects of the manual use of pesticides on soil microorganisms, pesticide residues in the soil and barley yields, *Pestic. Sci.* 16: 341-348 .<http://www.chem.unep.ch/pops/fr/default.htm>
43. **IFEN,** (2002). Les pesticides dans les eaux, bilan annuel. Jacques Le Seigneur V. (Ed.). Études et travaux n°36 IFEN *Orléans*. Les pesticides dans les eaux Cinquième bilan annuel Données 2001
44. **INRA :** Presse Info, mars (2000).Dégradation ou accumulation : que deviennent les pesticides au sein des sols ?
45. **JAMET, P. and DELEU, R.** (1993). Environmental fate of pesticides. Behavior of pesticides in soil. *Agro-Food Industry Hi-Technology, May-June:* 18-21.
46. **KATAYAMA, A., FUNASAKA, K., FUJIE, K.** (2001). Changes in the respiratory quinone profile of a soil treated with pesticides. *Biol. Fertil. Soils*, 33: 454–459
47. **KERSANTE, A.** (2003). Rôle régulateur de la macrofaune lombricienne dans la dynamique de l'herbicide atrazine en sol cultivée en zone tempérée. *Thèse de doctorat en Biologie Végétale*, université de Renne 1, 181 p.
48. **KIM, Y-H., AHN, J-H., MOON, S-H., LEE, J.** (2005). Biodegradation and detoxification of organophosphate insecticide, Malathion by Fusarium oxysporum f. sp. Pisi cutinase. *Chemosphere*, 7p.
49. **KULLMAN, S.W. and MATSUMURA, F.** (1996). Metabolic Pathways Utilized by Phanerochaete chrysosporium for Degradation of the Cyclodiene Pesticide Endosulfan *Applied and Environmental Microbiology*, 62 : 593–600
50. **KUZYAKOV, Y., FRIEDEL, J.K., STAHR, K.** (2000). Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry*, 32: 1485–1498.
51. **KWON G-S., KIM J-E., KIM, T-K., SOHN, H-Y., KOH, S-C., KEE-SUN SHIN, K-S; KIM, D-G.** (2002). *Klebsiella pneumoniae* KE-1 degrades endosulfan without formation of the toxic metabolite, endosulfan sulfate. *FEMS Microbiology Letters*, 215 : 255-259
52. **LIN, C.H., LERCH, R.N., KREMER, R.J., GARRETT, H.E., UDAWATTA, R.P., GEORGE, M.F.** (2005). Soil microbiological activities in vegetative buffer strips and their association with herbicide degradation. pp. 1-10 . In *K.N. Brooks and P.F. Ffolliott (ed.) Moving agroforestry into the mainstream*. The 9 the North American Agroforestry Conference Proceedings, June 12-15, 2005, St. Paul, Minnesota. Dept. of Forest Resources, University of Minnesota

53. LOISEAU, L., BARRIUSO, E., ZEGOUAGH, Y., LARGEAU, C., MARIOTTI, A. (2000). Release of the atrazine non-extractable (bound) residues of two soils using degradative techniques. *Agriculture and Environment Agronomie 20. INRA, EDP Science* 513–524 pp.
54. LOISEAU, L., ZEGOUAGH, Y., BARDOUX, G., BARRIUSO, E., DERENNE, S., MARIOTTI, A., CHENU, C., LARGEAU, C. (2002). Etude du devenir de l'atrazine dans des sols limono-argileux du Bassin parisien par la combinaison de méthodes isotopiques et pyrolytiques. *Bull. Soc. géol. France*, t. 173, n° 3, pp. 271-279
55. LOMPOH, J.E. (2004). Utilisation des pesticides en agriculture urbaine et périurbaine : impact sur la santé et sur l'environnement ; étude menée à Ouagadougou. *Thèse de doctorat en pharmacie*, UCAD, Dakar, 67 p.
56. MALONEY, S.E., MAULE, A., SMITH, A.R.W. (1988) Microbial Transformation of the Pyrethroid Insecticides: Permethrin, Deltamethrin, Fastac, Fenvalerate, and Fluvalinate. *Applied and Environmental Microbiology*, 54 : 2874-2876
57. MARTIN-LAURENT, F., CORNET, L., RANJARD, L., LOPEZ-GUTIERREZA, J.L., PHILIPPOT, L., SCHWARTZ, C., CHAUSSOD, R., CATROUX, G., SOULAS, G. (2004). Estimation of atrazine-degrading genetic potential and activity in three French agricultural soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 48 : 425-435
58. MARTIN-LAURENT, F., PHILIPPOT, L., HALLET S., CHAUSSOD R., GERMON J.C., SOULAS G., CATROUX G. (2001) - DNA extraction from soils: old bias for new microbial diversity analysis methods. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 : 2354-2359.
59. MARTINS, J.D., MADEIRA-ANTUNES, M.C., JURADO, A.S., MADEIRA, V.M.C. (2003). Use of the micro organism bacillus stearothermophils as a model to evaluate toxicity of the lipophilic environmental pollutant Endosulfan. *Toxicology in vitro*. 17 pp 595-601.
60. MBENGUE, A. (2000) Concept de réserve de biosphère et gestion intégrée des milieux urbains : cas de la ville de Dakar, au Sénégal. *Groupe Urbain de MAB UNESCO Paris*, 9 novembre 2000, 6p.
61. MEHARG, A. A. (1996). Bioavailability of atrazine to soil microbes in the presence of the earthworm *Lumbricus terrestris* (L.). *Soil Biology and, Biochemistry*, 28: 555-559.

62. MENON, P., GOPAL, M., PARSAD, R. (2005). Effects of chlorpyrifos and quinalphos on dehydrogenase activities and reduction of Fe³⁺ in the soils of two semi-arid fields of tropical India. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 108 : 73–83
63. MIDDLEKAUF, R. D. (1986). Pesticides residue in food: Legal and scientific issues. *Food Drug Cosmet. Law J.* 42:251-264.
64. NANNIPIRI, P., CIARDI, C., PALAZZI, T., BADALUCCO, L. (1990). Short-term nitrogen reactions following the addition of urea to a grass-legume association. *Soil Biology and Biochemesthry*, 22: 549-553.
65. NDOUR, N. Y.B. (2004). Évaluation de l'impact de l'agriculture péri urbaine dans la zone des Niayes sur quelques fonctions et communautés microbiennes clés des sols et conséquences sur la production végétale Rapport d'étape 37 p.
66. NEUMANN, G., TERAS, R., MONSON, L., KIVISAAR, M., SCHAUER, F., HEIPIEPER, H.J. (2004). Simultaneous Degradation of Atrazine and Phenol by Pseudomonas sp. Strain ADP: Effects of Toxicity and Adaptation. *Applied and Environmental Microbiology*, 30 : 1907–1912
67. NGOM, M.B. (1992). Contribution à la connaissance de l'utilisation des pesticides au Sénégal : enquête auprès de 146 maraîchers dans la zone des Niayes. *Thèse de doctorat de pharmacie*, UCAD, Dakar, 96 p.
68. OKAMOTO, Y., SUYAMA, K., ITOH, K., ITAMOCHI, M., KAGAWA, Y., KAJIHARA, S., IKUSHIMA, T., MIYAMOTO, H., YAMAMOTO, H. (2000) Natural fluctuation of microbial activity related to nitrogen cycle in rice paddy soil as a basis for assessing the side-effect of pesticides on soil ecosystem. *J Pestic Sci.*, 24 : 386–392
69. OMS, (1994). Directive de la qualité pour l'eau de boisson. Recommandation. Genève, Vol 1, 200 pp.
70. OMS, (2005). The WHO (World Health Organization) recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2004/2005. 60 pp.
71. PAN Africa, (2003). Les pesticides au Sénégal. Brochure P.A.N (Pesticides Action Network), 43 p.
72. PAN Africa, (2004). Bulletin de Pesticide Action Network . Pesticides et Alternatives –N °21–Juin

73. **PAN-CTA**, (Pesticide Action Network-Centre technique de coopération agricole et rurale), 1990, Pesticides et agricultures tropicales, dangers et alternatives, CTA, Wageningen (Pays-bas).
74. **PEDERSEN, P.G.** (2000). Pesticide degradability in groundwater: importance of redox conditions. *Thesis of the Ph.D. degree at the Department of Environmental Science and Engineering*, Technical University of Denmark
75. **PEHKONEN, S.O. and ZHANG, Q.** (2002). The degradation of organophosphorus pesticides in natural waters: A critical review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 32 (1), 17–72
76. **PNUE**, (2001). La convention de Stockholm polluant organique persistants. PNUE. Substances chimiques: polluants organiques persistants
77. **QUILCHANO, C. and MARAÑÓN, T.** (2002). Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biol Fertil Soils*, 35:102–107
78. **RACKE, K.D.** (1992). Degradation of organophosphorous insecticides in environmental matrices. In: Chambers, J.E., Levi, P.E. (Eds.), *Organophosphates, Chemistry, Fate, and Effects*. Academic Press, San Diego, pp. 47–73.
79. **RAMADE, F.** (1991). Caractères écotoxicologiques et impact environnemental potentiel des principaux insecticides utilisés dans la lutte anti-acridienne. *Actualité scientifique : lutte antiacridienne*. Ed. John Libbey Eurotext, Paris. pp 179-191.
80. **RAO, D.M.R. and MURTY, A.S.** (1980). Persistence of endosulfan in soils. *J. Agric. Food Chem.* 28 : 1099-1101
81. **SAHU, S.K., PATNAIK, K.K., BHUYAN, S., SETHUNATHAN, N.** (1993). Degradation of soil applied isomers of hexachlorocyclohexane by Pseudomonas sp. *Soil Biology and Biochemistry*, 25 : 387-391.
82. **SANNINO, F., GIANFREDA, L.** (2001). Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere*, 45 : 417-425.
83. **SAVADOGO, P.W.** (2001). Etude de la biodégradation anaérobiose des pesticides utilisés en agriculture au Burkina Fasso : cas particulier du Decis, de l'Ultracide et du Sumithion. *Thèse de Doctorat de sciences biologiques appliquées* de l'université de Ouagadougou, 101 p.
84. **SCHEUNERT, I.** (1992). Transformation and degradation of pesticides in soil. In *Chemistry of plant protection*. Terrestrial behavior of pesticides, W. Ebing Ed., Springer-Verlag, Berlin, 23-75.

85. **SCHNURER, J. and ROSSWALL. T.** (1982). Fluorescein dicetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology* 43 :1256-1261.
86. **SCHNÜRER, J., CLARHOLM, M., BOSTRÖM, S., ROSSWALL, T.** (1986). Effects of moisture on soil microorganisms and nematodes: a field experiment. *Microbial Ecology*, 12 : 217-230.
87. **SECK, M.L.T.** (2001). Perception des risques liés à l'usage des pesticides : enquête menée dans la communauté rurale de M'boro. *Thèse de doctorat en pharmacie à l'université de Dakar.*
88. **SERVAIS, P.** (2000). Pesticides et cancer : dossier réalisé par l'Association belge contre le cancer. <http://www.ful.ac.be/hotes/sandrine/partenaire/acct.htm> - ACC
89. **SIDIQUE, T., OKEKE, B.C., FRANKENBERGER, W.T. JR.** (2003). Enrichment and Isolation of Endosulfan-Degrading Microorganisms in *J. Environ. Qual.* 32:47–54
90. **SKUJINS, J.J.** (1973). Dehydrogenase: an indication of biological activities in arid soils. Modern methods in the study of microbial ecology. *Bull. Ecol. Res. Comm.* (Sweden) 17, 235–241.
91. **SLAOUI, M., OUHSSINE, M., EL M'RABET, M., MASSOUI, M., EL YACHIOUI, M.** (2001) Dégradation du carbofuran par une bactérie du genre *Pseudomonas sp.* isolée à partir du sol. *Science Letters*, Vol. 3, n° 3 : 8 pp.
92. **SOMASUNDARAM, L. and COATS, J.R.** (1991). Pesticide Transformation Products in the environment. In *Pesticide Transformation Products “Fate and Significance in the Environment”* Somasundaram, L., Coats, J.R., Eds. ACS Symposium series 459. *American Chemical Society*, Washington, DC. (Oxford University Press). pp 3-9
93. **SOULAS, G.** (2003). Monitoring of atrazine treatment on soil bacterial, fungus and atrazine-degrading communities by quantitative competitive PCR. *Pest Management Science*, 59: 259-268.
94. **STADDON, W. J., LOCKE, M. A., ZABLOTOWICZ, R. M.** (2001) Microbiological characteristics of a vegetative buffer strip soil and degradation and sorption of metolachlor. *Soil Science Society of America Journal* 65:1136-1142.

95. **STUBBERFIELD, L.C.F., SHAW, P.J.A.**, (1990). A comparison of tetrazolium reduction and FDA hydrolysis with other measurements of microbial activity. *Journal of Microbiological Methods* 12, 151-162.
96. **SUNDERAM, R.I.M., CHENG, D.M.H., THOMPSON, G.B.** (1992). Toxicity of Endosulfan to native and introduced fish in Australia. *Environmental Toxicology and chemistry* 11, pp. 1469–1476.
97. **SUTHERLAND, T.D., HORNE, I., LACEY, M.L., HARCOURT, R.L., RUSSELL, R.J., OAKESHOTT, J.G.** (2000). Enrichment of an Endosulfan-Degrading Mixed Bacterial Culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 28: 22–2828.
98. **SUTHERLAND, T.D., HORNE, I., RUSSELL, R.J., OAKESHOTT, J.G.** (2002). Gene cloning and molecular characterization of a two-Enzyme system catalysing the oxidative detoxification of β endosulfan. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 : 6237-6245.
99. **THALMAN, A.** (1968). Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch Forsch* 21: 249-258
100. **TKACZUK, C., LABANOWSKA, B.H., MIETKIEWSKI, R.** (2004). The influence of pesticides on the growth of fungus *Hirsutella nodulosa* (petch)-Entomopathogen of strawberry mite (*Phytonemus pallidus* ssp. *Fragariae* Zimm.). Departement of plant protection, Institute of Pomology and Floriculture. Pomologiczna 18, 96-100 Skieriewice, Poland.
101. **TOPP, E., MARTIN-LAURENT, F., HARTMANN, A., SOULAS, G.** (2004). Bioremediation of atrazine contaminated soil. In “pesticide decontamination and detoxification” Gan, J. P.C., Aust, SD., Lemley, A.T. Eds. ACS Symposium series 863. *American Chemical Society*, Washington, DC. (Oxford University Press), p 141-154.
102. **VIEUBLE GONOD, L., MARTIN-LAURENT, F., CHENU, C.** (2005). Evolution of the activity and of the genetic potential of 2,4-D degrading communities in aggregates of a silty cultivated soil in response to 2,4-D treatment. *FEMS Microbioly Ecology*, 0162 : 26 pp.
103. **VIG, K., DILEEP, K.S., AGARWAL, H.C., DHAWAN, A.K., DUREJA, P.** (2001). Effect of repeated pesticide applications on soil properties in cotton fields. In insecticide residues in cotton crop soil. *Journal of Environmental Science and*

- Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 36 : 421 – 434
- 104.** WADE, C.S. (2003). L'utilisation des pesticides dans l'agriculture périurbaine et son impact sur l'environnement : étude menée dans la région de Thiès. *Thèse de doctorat en pharmacie*, UCAD, Dakar, 81 p.
- 105.** WARE G.W. and WHITACRE D.M. (2004). An introduction to insecticides, 4th Ed. in *The Pesticide Book*, 6th Ed. Meister Media Worldwide, Willoughby, Ohio, 496pp.
- 106.** WECKERT, M. (2004). The effect of herbicides and permanent swards on soil microbial populations in the vineyard. In Super soil: Program and Abstracts for the 3rd Australian New Zealand Soils Conference, University of Sydney, Australia.

ANNEXES

Annexe 1 : méthode d'extraction des résidus de pesticides du sol

Malin Akerblom, 1995

Principe

Cette procédure est applicable à l'extraction de la plupart des pesticides non-ioniques des échantillons de sol. La solution de chlorure d'ammonium est ajoutée à l'échantillon afin de faciliter l'accès du solvant d'extraction aux résidus de pesticides. L'extraction des résidus est réalisée avec une solution de cyclohexane/acétone.

Appareillage

Fiole jaugée de 250ml et bouchon

Entonnoir

Agitateur et barrot aimanté

Filtre à seringues 0,2 µm (Nalgen)

flacon de 100-250 ml

Erlen 100 ml

évaporateur rotatif (Rotavapor)

coupelles

Etuve à 105°C

Protocole d'extraction modifié

- Prélever deux sous échantillons de 5g, ensuite le reste de l'échantillon, est remis au congélateur -20°C Le sous échantillon de 5g permet de déterminer l'humidité de l'échantillon.
- L'autre sous échantillon de 5g est introduit dans une Fiole jaugée de 250 ml puis ajouter 14 ml d'une solution **chlorure d'ammonium 0,2 M**. Agiter (pendant 4 mm) et laisser décanter pendant 15mn.
- Ajouter 50 ml d'une solution **cyclohexane/acétone** (1:1) Fermer hermétiquement puis agiter vigoureusement pendant 1mn puis remuer lentement tous les 10 mn pendant au moins une heure. Laisser décanter toute la nuit. Agiter chaque 30 mn pendant deux heures et laisser décanter.
- Ajouter ensuite avec précaution de l'eau jusqu'à ce que la phase organique atteigne le trait de jauge.

Annexes

- Transférer la phase organique avec une pipette dans un Erlen contenant 20 g de sulfate de sodium. Agiter et laisser décanter pendant 15mn. Agiter une fois de plus et vérifier que le sulfate de sodium a été bien précipité, sinon ajouter du sulfate de sodium puis répéter l'opération.
 - Rincer le sulfate de sodium avec 15 ml acétone/cyclohexane et transvaser pareillement.
-
- Transvaser en filtrant avec un filtre millipore dans le ballon du rotavapore. Concentrer et ramener au volume approprié (solvant de conservation) puis filtrer et conserver (ou analyser).

Annexe 2 : Activité de la Déshydrogénase

Principe:

Les échantillons de sol sont suspendus dans une solution de Triphényltétrazolium chloride (TTC) et incubé à l'obscurité pendant 24 heures à 25°C. Le triphénylformazan (TPF) produit est extrait par l'acétone et mesuré au spectrophotomètre à 546nm (Thalman 1968, modifié).

Réactifs:

1- Tampon Tris-HCL (0,1M)

Dissoudre 12.11g de Tris dans 600ml d'eau et ajuster avec HCL à pH=7,8 pour un sol acide; pH=7,6 pour un sol neutre et pH=7,4 pour un sol basique. Compléter le volume à 1 litre.

2- Substrat TTC de 0,1 à 2%

Dissoudre pour un essai de sol sableux 0,4% (p/v) de TTC dans le tampon tris et garder à 4°C.

3- Acétone P.A

4- Standard TPF (0,1mg/ml)

5- Calibration des standards

Pipetter 0; 1; 2; 5; 10 ml du standard et diluer les volumes avec 30ml d'acétone.

Ces solutions correspondent à 0 ; 100 ; 200 ; 500 ;1000 µg de TPF.

Dosage:

Le dosage se fait dans des tubes obscures.

TS= 1ml de substrat

TE= 1g de sol, 5ml de tampon tris

Essai= 1g de sol, 5ml de substrat

Fermer les tubes, vortexer et incuber à l'obscurité pendant 24 heures à 25°C.

Après incubation, extraire le TPF par 5ml d'acétone dans tous les tubes.

Vortexer et agiter les tubes pendant 2 heures à l'obscurité.

Centrifuger (ou filtrer PTFE) et mesurer tous les échantillons et les standards à 546nm.

Annexe 3 : Protocole de la Fluorescéine Diacétate (FDA)

Réactifs

1. Tampon Potassium phosphate à pH 7.6 (60 mM)

Dissoudre 8.7g de K₂ HPO₄ et 1.3g de KH₂PO₄ dans 800 ml d'eau déminéralisée

Ajuster le pH à 7,6 avec du NaOH.

Compléter à 1l et garder 4° C.

2. Substrat : Fluorescéine Diacétate : FDA (1mg.ml⁻¹)

Dissoudre 100 mg de FDA (F7378 SIGMA) dans 100ml d'acétone. Garder la solution à -20°C

3. Solution de Chloroforme/Méthanol (2:1) ou Acétone (100%)

Pour le mélange, prélever 666 ml de Chloroforme et ajuster le volume à 1l de méthanol

Dosage

TS: 15 ml de Tampon + **200µl** FDA

TE: 15 ml de Tampon + **200µl** d'eau + 1g de sol

Essai : 15ml de Tampon + **200µl** de FDA + 1g de sol

Fermer les tubes et vortexer.

Incuber pendant 60 mn sous agitation à 30 ° C.

Au bout d'une heure d'incubation, prélever dans des tubes eppendorfs : 1ml de cette solution et ajouter 1ml d'acétone pour arrêter la réaction.

Vortexer et centrifuger pendant 3 mn. (à 2000 tr/min).

Prélever le surnageant et lire la DO au spectro à 490 nm.

NB : pour la lecture, faire l'auto-zéro du spectro avec 0 µg.ml⁻¹ de la fluorescéine standard.

Gamme étalon de la Fluorescéine

• Solution Fluorescéine 1 mg.ml⁻¹

Dissoudre 100 mg de fluorescéine (F7505 SIGMA) dans 100ml d'acétone.

• Préparation d'une solution standard de fluorescéine à 100 µg.ml⁻¹

Prélever 1ml de la solution (1 mg.ml⁻¹) et ajouter 9ml acétone.

• Calibration des standards : faire 6 points de gammes selon :

0µg : 1000µl de tampon + 1000µl d'acétone + 0µl de la solution standard

1µg : 990µl de tampon + 990µl d'acétone + 10µl de la solution standard

Annexes

2 μ g : 980 μ l de tampon + 980 μ l d'acétone + 20 μ l de la solution standard

3 μ g : 970 μ l de tampon + 970 μ l d'acétone + 30 μ l de la solution standard

4 μ g : 960 μ l de tampon + 960 μ l d'acétone + 40 μ l de la solution standard

5 μ g : 950 μ l de tampon + 950 μ l d'acétone + 50 μ l de la solution standard

Vortexer et lire la DO 490 nm.