

LA DEGRADATION DES PESTICIDES DANS LE SOL ASPECTS MICROBIENS ET CINÉTIQUES

G. SOULAS ⁽¹⁾

RÉSUMÉ

Dans une première partie de cet article, nous rappelons les mécanismes génétiques par lesquels les microorganismes sont capables d'acquérir des fonctions biochimiques nouvelles et les principales théories de l'évolution des microorganismes à la formulation desquelles ces mécanismes ont contribué. Suit une définition des deux principales catégories de microorganismes dégradant les pesticides que les expérimentations de laboratoire ont permis de mettre en évidence.

Dans la deuxième partie, nous montrons comment la cinétique de dégradation d'un pesticide est en relation avec la présence, dans la microflore du sol, de microorganismes capables d'utiliser le pesticide comme substrat nutritif. Nous présentons ensuite les deux principales catégories de modèles utilisés à la description des cinétiques de dégradation en soulignant l'utilisation pratique qui peut en être faite.

INTRODUCTION

La cinétique de la biodégradation d'un composé carboné dans le sol dépend très étroitement de l'aptitude plus ou moins grande de la population microbienne du sol à transformer ce substrat et, éventuellement, à l'utiliser comme de source de carbone et d'énergie. En d'autres termes, les cinétiques de dégradation reflètent le comportement dynamique des populations microbiennes responsables de la dégradation. Or, pour les composés xénobiotiques organiques, ce comportement dynamique est en liaison étroite avec les possibilités qu'ont les microorganismes du sol de mobiliser des fonctions catalytiques appropriées. Compte tenu de l'introduction relativement récente des composés de synthèse dans le milieu naturel (les premières utilisations de 2,4-D datent de 1946), on peut supposer que l'acquisition de ces fonctions fait partie d'un processus d'adaptation actuellement en cours. Les cinétiques de dégradation correspondantes peuvent donc être considérées comme indicatives d'un état d'évolution de la microflore du sol dans sa capacité à utiliser comme substrats carbonés des composés auxquels elle n'avait probablement jamais été confrontée jusqu'alors, au moins sous une configuration moléculaire identique.

I. LA BIODEGRADATION DES XENOBIOTIQUES

A) Les mécanismes de l'adaptation

La spécificité enzymatique, quoique parfois très étroite, est rarement absolue. Ainsi, un produit chimique de synthèse pourrait être dégradé par des voies métaboliques déjà existantes et normalement affectées à la dégradation de composés

(1) INRA - Laboratoire de Microbiologie des Sols, 17, rue Sully, 21034 Dijon-Cedex.

naturels. Ceci semble plus particulièrement envisageable lorsqu'une certaine identité de structure entre l'analogue de synthèse et le produit naturel leur permet d'être indifféremment acceptés comme substrats par certains enzymes. Or, certains pesticides sont des répliques synthétiques de substances naturelles à activité biologique ; c'est le cas des acides phénoxyacétiques herbicides (2,4-D et MCPA par exemple) dont la structure simule celle d'une hormone végétale (auxine ou acide indoléacétique) et dont ils possèdent l'activité biologique (fig. 1, A). C'est aussi le cas des pyréthroïdes de synthèse insecticides qui sont des substances synthétiques plus stables que leurs analogues naturels pyréthrines et cinérines (fig. 1, B).

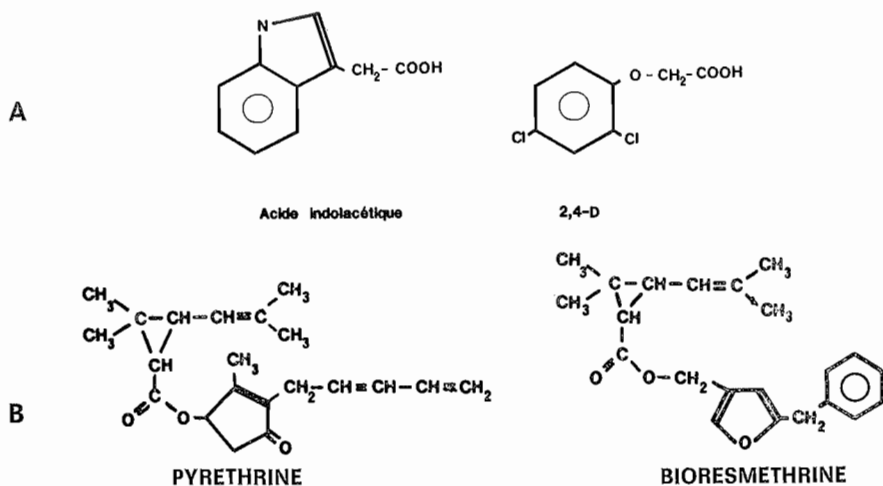


Figure 1 :
Exemple de pesticides analogues de composés naturels.

Examples of pesticides that are structurally related to some natural compounds.

Cependant, l'existence dans la cellule microbienne de systèmes enzymatiques potentiellement efficaces n'entraîne pas obligatoirement une dégradation. En effet, la synthèse de nombreux enzymes des voies cataboliques est étroitement dépendante de la concentration en substrat (appelé aussi inducteur) qui en détermine le niveau de production. Or, la capacité pour un produit « étranger » à être accepté comme substrat accessoire ne se double pas forcément d'une capacité à induire la synthèse des enzymes appropriés, surtout lorsque ces enzymes sont empruntés à des voies métaboliques distinctes, donc séparément régulées. Les mécanismes qui permettent de débloquer (déréprimer) cette synthèse sont de deux sortes — i : la duplication des gènes codant pour la synthèse des enzymes correspondants. L'expression simultanée de plusieurs gènes identiques entraîne, même sans induction, un relèvement du niveau de base de synthèse enzymatique tel que la transformation peut devenir possible. La duplication des gènes est un phénomène fréquemment observé, qui a probablement joué un rôle déterminant dans l'évolution génétique des microorganismes (MORTLOCK, 1981) — ii : une mutation dans les gènes (dits régulateurs) qui contrôlent la transcription et l'expression de gènes (dits structuraux) codant pour la production de certains enzymes. Les mutants « constitutifs » issus de telles mutations se caractérisent par une production continue d'enzymes à des niveaux élevés (HEGEMAN et ROSENBERG, 1970 ; MORTLOCK, 1981 ; DAGLEY, 1975).

Une solution alternative au problème de l'adaptation des microorganismes à des composés de synthèse proches de substances naturelles consiste à produire des

enzymes dont la modification des propriétés catalytiques entraîne une meilleure efficacité à l'égard du xénobiotique (CLARKE, 1984 ; HALL, 1984). De telles modifications sont le résultat de mutations affectant les gènes structuraux. Elles peuvent ou non s'accompagner de la perte de la spécificité initiale de substrat (fig. 2). Lorsque ce n'est pas le cas, il est probable qu'une duplication des gènes correspondants a précédé la mutation de l'un d'eux. C'est ainsi que PEMBERTON *et al.* (1979) expliquent l'acquisition par certains microorganismes, dont *Alcaligenes paradoxus*, de la capacité à dégrader le 2,4-D. La première étape (la désalkylation) est codée par un gène localisé sur un plasmide transmissible. Ce plasmide aurait porté un gène codant pour la désalkylation de l'acide phénoxyacétique. Ce gène se serait dupliqué et la modification par mutation de l'une des copies aurait permis l'acquisition de la capacité à dégrader le 2,4-D. Ces phénomènes de duplication-mutation sont d'ailleurs à la base de la théorie d'HOROWITZ (in DAGLEY, 1975) sur la mise en place, par évolution rétrograde, des voies métaboliques chez les microorganismes. En effet, suivant cet auteur, on peut supposer que la « soupe » prébiotique contenait tout les éléments nutritifs de base nécessaires à la formation de matériel cellulaire. Après que l'un de ces éléments ait été épuisé, ceux des microorganismes qui, à la suite d'une duplication de certains gènes et d'une mutation de l'une des copies, ont acquis une activité catalytique qui leur permet de produire cet élément à partir d'un précurseur immédiat ont un avantage sélectif. En se renouvelant, un tel processus aurait contribué à la mise en place de façon rétrograde des diverses étapes d'une séquence métabolique.

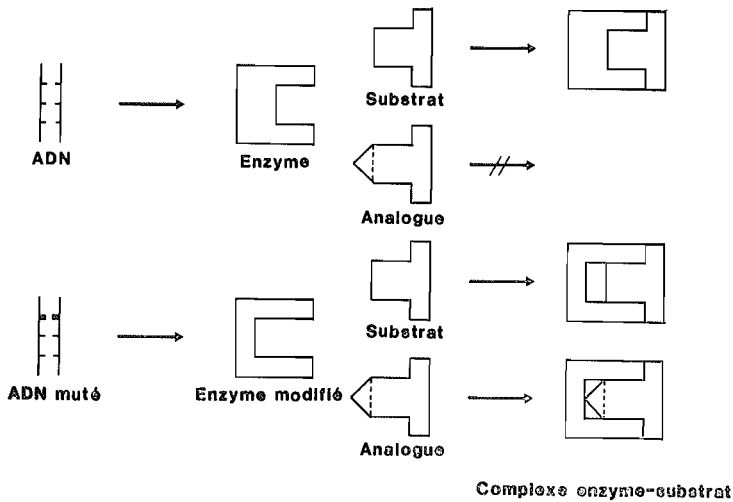


Figure 2 :

Schéma montrant comment une mutation peut affecter la spécificité enzymatique

How a mutation may affect enzymatic specificity

La seconde caractéristique essentielle de l'évolution des microorganismes est une transmissibilité relativement aisée d'information génétique interspécifique et même intergénérique. Cette transmissibilité est liée à l'existence chez les microorganismes de matériel génétique extra-chromosomique (REANNEY, 1976) qui a pour propriétés essentielles — i : de stocker une information génétique propre (résistance à certains antibiotiques, transformations cataboliques diverses, etc.), éventuellement partageable avec le chromosome — ii : d'être facilement transmissible entre individus d'espèces

ou même de genres différents, permettant ainsi la dispersion dans une population microbienne composite de caractères récemment acquis d'une façon plus rapide que ne le permet un simple processus de reproduction.

Cette dernière propriété a amené FARREL et CHAKRABARTY (1979) à proposer une alternative moins déterministe au schéma d'évolution séquentielle d'HOROWITZ : les gènes correspondants à différentes étapes d'une voie catabolique d'un composé xénobiotique pourraient apparaître de façon indépendante dans les chromosomes de plusieurs microorganismes. Ce pool génétique, au départ partagé par plusieurs microorganismes, pourrait, au hasard des échanges, se rassembler chez un même individu qui deviendrait capable d'utiliser le composé xénobiotique comme substrat carboné et énergétique. L'émergence de telles souches microbiennes a été démontrée au laboratoire, en particulier par KELLOG *et al.* (1981) et KILBANE *et al.* (1982), pour le 2,4,5-T, par REINECKE et KNACKMUSS (1979) pour différents benzoates chloro-substitués et par SCHWIEN et SCHMIDT (1982) pour des mono-chlorophénols. La figure 3 illustre un tel schéma d'évolution par échange de matériel génétique. Ce processus peut conduire à la coexistence d'individus rassemblant tout ou partie du système enzymatique nécessaire à la minéralisation d'un substrat carboné étranger.

B) Les principales catégories de microorganismes dégradants

La conséquence la plus immédiate de la théorie précédente est que les microorganismes dégradant un xénobiotique pourraient se regrouper en deux catégories principales — i : ceux, probablement les plus nombreux, qui seraient capables d'entamer la séquence réactionnelle sans pouvoir la mener à son terme en raison d'un équipement enzymatique incomplet — ii : ceux qui, au contraire, rassembleraient l'intégralité du génôme [organisme [7], fig. 3], permettant ainsi la transformation du

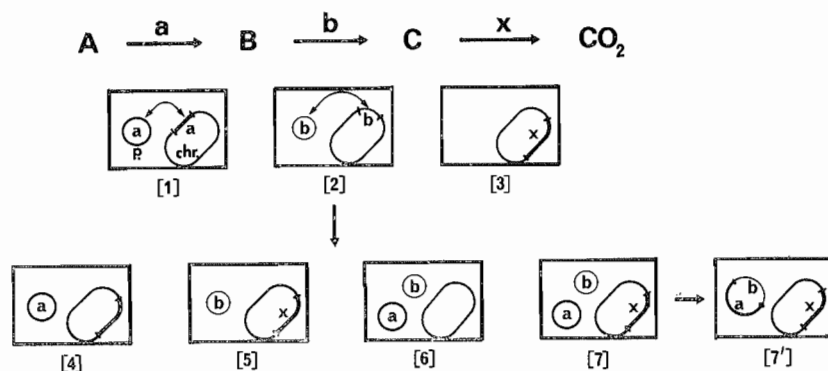


Figure 3 :

Adaptation par échange de matériel génétique

La souche [1] a acquis la possibilité de transformer A en B ; les gènes responsables de cette dégradation (a) peuvent être situés soit sur le chromosome (chr.), soit sur un plasmide (p), supposé transmissible. De même, la souche [2] a acquis la possibilité de transformer B en C. Le plasmide portant les gènes responsables de cette transformation (b) est également supposé transmissible. La souche [3] utilise le composé C comme source de C et d'énergie grâce à la séquence génique x.

Un échange de plasmides entre ces diverses souches conduit à la coexistence d'individus ayant des capacités biochimiques différentes : [4] transforme A, accumule B et utilise C comme source de C et d'énergie, [5] utilise B comme source de C et d'énergie, [6] transforme A et accumule C [7] et [7'] utilisent A comme source de C et d'énergie.

Adaptation by exchange of genetic material

Strain (1) has acquired the ability to transform A into B. Responsible genes (a)

Association Française pour l'Etude du Sol - www.afes.fr - 2010

DÉGRADATION DES PESTICIDES

are coded either on the chromosome (*chr*) or on a transmissible plasmid (*p*). Strain (2) is able to transform B into C. Corresponding genes are located on a plasmid supposed to be transmissible. Strain (3) uses compound C as carbon and energy source due to the genes *x*.

Exchange of plasmids between these strains gives individuals with different biochemical capacities : (4) transforms A, accumulates B and uses C as carbon and energy source ; (6) transforms A and accumulates C ; (7) and (7') use A as carbon and energy source.

nouveau substrat de progresser jusqu'à un stade où il peut intégrer les voies du métabolisme central énergétique et biosynthétique (KILBANE *et al.*, 1982 ; CHATTERJEE *et al.*, 1982). Or, expérimentalement, ces deux catégories de micro-organismes ont été mises en évidence. Certains microorganismes, en effet, dégradent un pesticide donné avec accumulation concomitante d'un métabolite qui, souvent, contient encore une proportion importante du carbone et de l'énergie du composé de départ. Un tel microorganisme ne peut donc se développer que dans la mesure où il trouve dans le milieu un autre substrat plus facilement accessible. On dit qu'il y a dégradation par CO-METABOLISME (fig. 4, B). Au contraire, certains microorganismes sont capables de se développer à partir de la seule molécule de pesticide. On dit qu'il y a dégradation par METABOLISME (fig. 4, A).

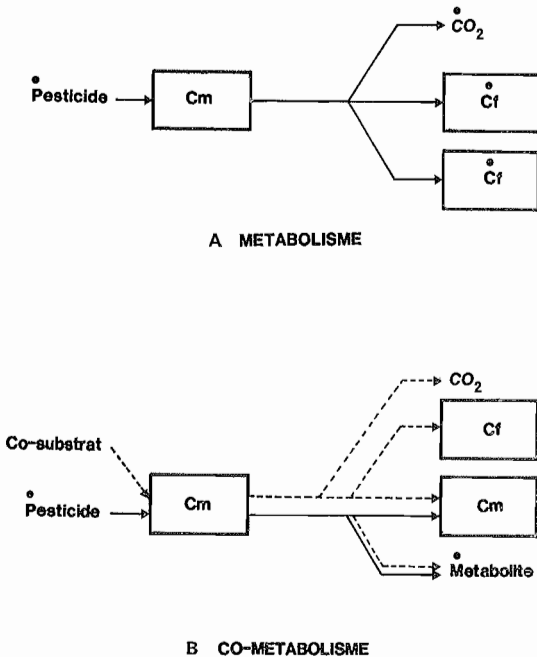


Figure 4 :

Les deux voies de dégradation des pesticides.

A : la cellule-mère Cm utilise le pesticide comme source de C et d'énergie. Les « produits » de la dégradation sont du CO₂ et du « matériel » cellulaire (cellule-fille Cf.).

B : la cellule Cm transforme le pesticide en métabolite sans possibilité de croissance. Celle-ci est normalement assurée par un co-substrat, source de C et d'énergie. (Les flèches en trait plein sont relatives aux transferts du pesticide et de ses métabolites. Celles en pointillé sont relatives au co-substrat).

The two ways of the degradation of pesticides.

A : Cell Cm (mother-cell) uses the pesticide as carbon and energy source. The « products » of the transformation are CO₂ and new biomass (Cf : daughter-cell).

B : Cell Cm transforms the pesti-

icide into metabolite without growing. Growth is only possible with a co-substrate as carbon and energy source. (Solid arrows correspond to pesticide and related compounds flows. Dashed arrows correspond to co-substrate flow).

Est-ce à dire que seuls les produits qui se dégradent par métabolisme sont susceptibles d'être minéralisés dans le sol? La réponse est négative car, dans le sol, la dégradation d'un pesticide est un phénomène communautaire associant toutes les souches susceptibles d'intervenir à un stade quelconque de la séquence réaction-

nelle qui conduit à la dégradation ultime du produit. La figure 5 schématise les deux voies, celle du métabolisme direct et du cométabolisme concerté qui contribuent, parfois de façon simultanée, comme c'est le cas pour 2,4,-D (FOURNIER *et al.*, 1981), à la dégradation ultime d'un pesticide.

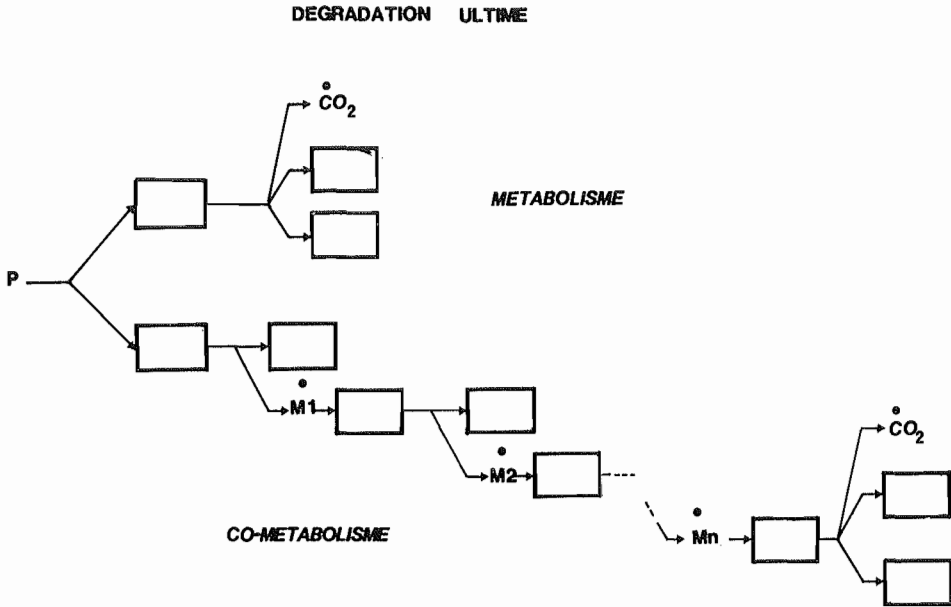


Figure 5 : La dégradation ultime.

Elle peut être le fait — 1 : d'espèces isolées utilisant le pesticide comme source de C et d'énergie [souches [7] et [7'] de la figure 3] — 2 : de communautés microbiennes associant des souches aux capacités biochimiques complémentaires) c'est le cas des associations [1] [2] [3] ou [4] ou [5] [6] de la figure 3). (Les rectangles représentent des cellules microbiennes et M1, M2... Mn des métabolites successifs).

Ultimate degradation

Ultimate degradation may result from — 1 : catabolic activity of isolated species that use pesticide as carbon and energy source (strains [7] and [7'] of Fig. 3) — 2 : the activity of microbial communities associating species with complementary biochemical capacities (associations [1], [2] and [3] or [4] [5] or [5] [6] of Fig. 3).

II. CINETIQUES ET DEGRADATION

A) Aspects qualitatifs : principaux types de courbes de dégradation

Puisque les cinétiques de dégradation d'un substrat donné sont conditionnées par les aptitudes métaboliques des organismes dégradants, aux deux catégories de micro-organismes dont il vient d'être question correspondent deux types de courbes de dégradation.

Lorsqu'il y a dégradation par métabolisme, il y a interdépendance entre dégradation et croissance microbienne. La dégradation s'apparente à une transformation de type autocatalytique puisque l'un des produits de la transformation, la biomasse dégradante

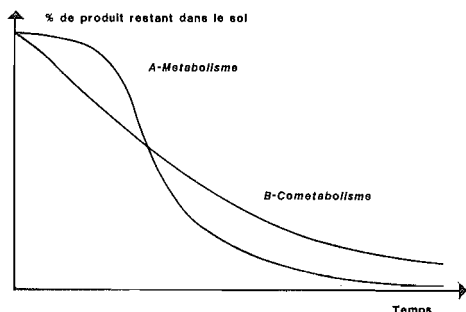


Figure 6 :

Les principaux types de cinétique de dégradation des pesticides dans le sol.

Main types of breakdown kinetics of pesticides in the soil.

néoformée, contribue à son accélération au moins jusqu'à ce que la concentration du pesticide devienne limitante. Expérimentalement, cette phase d'accélération ne se manifeste souvent qu'après une phase de latence initiale dont la durée peut varier de quelques jours à quelques semaines (fig. 6). Cette phase de latence peut recouvrir trois phénomènes biologiques — i : une période d'induction enzymatique d'autant plus longue à se manifester que la concentration du pesticide dans le milieu environnant est faible — ii : une période de multiplication de microorganismes — iii : une toxicité du pesticide ou d'un métabolite précoce qui entraînerait une inhibition de la microflore dégradante qui ne pourrait être levée que par apparition d'un organisme résistant ou, plus vraisemblablement, après qu'un niveau critique de population ait été atteint lui permettant de surpasser l'effet inhibiteur initial. Parmi les produits pour lesquels ce type de courbe de dégradation a été décrit, on trouve classiquement certains acides phénoxyacétiques, essentiellement le 2,4-D et le MCPA, ainsi que d'autres composés tels que l'IPC (prophame), le DNOC, l'endothal et la pyrazone. Ils sont, d'une façon générale, relativement peu nombreux, mais leur nombre devrait progressivement augmenter ainsi peuvent le laisser prévoir les exemples d'hybridation par échanges de plasmides en milieu artificiel rapportés au-dessus et dont une étude récente (KAUFMAN, 1984) montrerait la réalité dans les conditions naturelles.

Lorsque, au contraire, la dégradation du pesticide se fait par cométabolisme, les espèces microbiennes dégradantes ne peuvent effectuer qu'une série trop limitée de transformations et ne peuvent accéder qu'à un fragment trop réduit de la molécule de xénobiotique pour en retirer un gain énergétique appréciable. Parfois même, la dégradation peut nécessiter un investissement énergétique initial, notamment lorsque l'oxydation du produit fait intervenir des monoxygénases qui agissent en présence d'un réducteur tel que NADH, H^+ ou NADPH, H^+ . Ces microorganismes, qui contrôlent le déroulement du processus de dégradation, trouvent dans la matière organique du sol la source carbonée et énergétique qui leur est indispensable mais qui, sans apports exogènes, ne peut vraisemblablement couvrir que leur consommation de maintenance. La constance du nombre de microorganismes dégradants qui en résulte apparente la dégradation à une transformation chimique catalysée dont elle a les caractéristiques cinétiques, en particulier l'absence de point d'inflexion (fig. 6).

B) Aspects quantitatifs :

les principaux modèles mathématiques de la dégradation des pesticides dans le sol

La description théorique des cinétiques de dégradation des pesticides dans le sol fait appel à deux catégories de modèles que l'on appelle biologiques ou abiotiques, suivant qu'ils prennent ou non en compte des dynamiques d'évolution des populations microbiennes dégradantes.

1 - Les modèles abiotiques

La seule variable explicative retenue est la concentration courante (C(t)) en pesticide. Deux principales relations de dépendance entre la vitesse de dégradation et la variable explicative ont été utilisées. La première est la relation fondamentale de la cinétique chimique en phase homogène limitée à l'ordre 1 :

$$v = \frac{dC(t)}{dt} = -k C(t) \quad (1)$$

dans laquelle C(t), la concentration en pesticide, est exprimée en mg de pesticide par g de sol, et k, la constante de vitesse, est exprimée en jour⁻¹. Il convient de signaler que ce paramètre est essentiellement un paramètre ajustable. Certains auteurs, en particulier ZIMDHAL *et al.* (1970), ont cependant tenté d'utiliser sa valeur pour en déduire un ordre de grandeur de l'énergie d'activation de la dégradation et en tirer des indications sur son caractère abiotique ou biologique prédominant.

Parmi les hypothèses qui conduisent à ce type de formulation, il est intéressant d'examiner celles qui concernent les modalités de fonctionnement de l'agent de transformation. Il apparaît en effet de façon implicite que, compte tenu de la faible quantité de pesticide présente dans le sol, l'agent de transformation (microorganisme ou catalyseur abiotique) opère loin de sa capacité maximale de transformation, d'où la relation de simple proportionnalité avec la concentration en pesticide. D'autre part, le niveau de l'agent de transformation est supposé constant. Ainsi, une relation du type :

$$v = k' C \text{ (A.T.)} \quad (2)$$

du premier ordre par rapport à C et à (A.T.), concentration de l'agent de transformation, et globalement du second ordre, conduit à la formulation (1) (relation de pseudo premier ordre) en posant :

$$k = k' \text{ (A.T.)} \quad (3)$$

De nombreux exemples de ce type de formulation peuvent être trouvés, appliqués à divers produits. Le plus connu, notamment pour l'exploitation auquel il a donné lieu, est probablement le modèle développé depuis 1970 par WALKER (1970 ; 1976 a, b, c), WALKER et BARNES (1981) et WALKER *et al.* (1983), et concernant des produits aussi divers que la napropamide, le linuron, le métolachlor, l'atrazine et la simazine.

Tableau 1

Quelques exemples d'ordres réactionnels utilisés à la description de la dégradation de certains pesticides

Examples of reaction orders applied to the description of the degradation kinetics of some pesticides

ORDRE	PRODUIT	
1/2 (MICHAELIS)	ATRAZINE	HANCE et Mc KONE (1971) WALKER (1976)
	PICLORAME	HAMAKER <i>et al.</i> (1968) MEIKLE <i>et al.</i> (1973)
1	TRIAZINES (ATRAZINE)	SKIPPER <i>et al.</i> (1967) ZIMDAHL <i>et al.</i> (1970)
	DICHLOBENIL	MONTGOMERY <i>et al.</i> (1972)
	AMIDES	WALKER (1970)
	PICLORAME	MEIKLE <i>et al.</i> (1973)
2	ATRAZINE	SOULAS (1975)
	PHENYLPYRIDAZINONE	RAHN et ZIMDAHL (1972)

Afin d'augmenter la valeur descriptive de ces modèles, certains auteurs ont introduit un ordre réactionnel comme second paramètre ajustable. Un certain nombre d'exemples sont rapportés dans le tableau I. Une étude relativement complète a été réalisée par KEMPSON-JONES et HANCE (1979), portant sur 40 « situations » expérimentales correspondant à trois sites de prélèvements, chacun à différentes profondeurs ; les échantillons de sol ont été incubés à différentes températures et humidités. Il s'avère que dans 12 situations seulement l'ordre de la dégradation peut être considéré (à 95 % de chance) comme étant égal à l'unité. Dans les autres situations, il est supérieur et peut même atteindre la valeur 6, ce que les auteurs interprètent comme étant l'indication soit d'un schéma complexe de transformation, soit, plus vraisemblablement, comme le reflet de biais introduits par les systèmes d'incubation de laboratoire.

Le second type de formulation repose sur la relation de MICHAELIS-MENTEN :

$$v = \frac{d C}{dt} = \frac{V_m C}{K_m + C} \quad (4)$$

dans laquelle V_m est la vitesse maximale à saturation de l'agent de transformation et K_m la constante de Michaelis. Une telle relation implique toujours l'invariabilité de la concentration de l'agent de transformation. Par contre, elle introduit la notion de vitesse maximale qui traduit un phénomène de « saturation » des systèmes enzymatiques responsables de la dégradation. Ceci sous-entendrait donc qu'aux concentrations habituelles la capacité maximale de transformation peut être approchée, ce qui serait plus en accord avec le fait, expérimentalement vérifié (J.-C. FOURNIER, 1980), que la population microbienne dégradant un pesticide ne représente qu'une infime partie de la population totale (10^{-4} à 10^{-5}) y compris pour des composés relativement biodégradables comme le 2,4-D.

En raison de la simplicité de leur formulation, de tels modèles ne peuvent prétendre décrire le fonctionnement d'un système tel que le sol. Ils ont en général été développés avec pour objectif pratique une utilisation à la prévision, comme le montre l'exemple de WALKER, appliqué à la dégradation de la simazine dans le sol. Ce modèle repose sur deux équations, l'une exprime la demi-vie de la simazine en fonction de la température :

$$\log \frac{H}{H_{ref}} = \frac{\Delta E}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \quad (5)$$

ou H et H_{ref} sont les demi-vies aux températures T et T_{ref} , ΔE l'énergie d'activation et R la constante des gaz parfaits ; l'autre relation exprime la demi-vie en fonction de l'humidité :

$$H_{ref} = a M^{-b} \quad (6)$$

où M est l'humidité du sol, a et b deux paramètres ajustables. Une expérimentation appropriée au laboratoire permet d'accéder aux valeurs des paramètres ΔE , a et b . Le modèle est alors opérationnel pour peu que l'on ait facilement accès à la connaissance des variations de température et d'humidité du sol pour lesquelles l'auteur propose différentes méthodes d'estimation à partir de données météorologiques facilement accessibles. Les figures 7 et 8 sont une illustration de la valeur prédictive du modèle appliqué à la persistance de la simazine sur une même parcelle culturale dans une expérience de longue durée (WALKER, 1976) (fig. 7) ou dans un essai multilocal (WALKER *et al.*, 1983) (fig. 8).

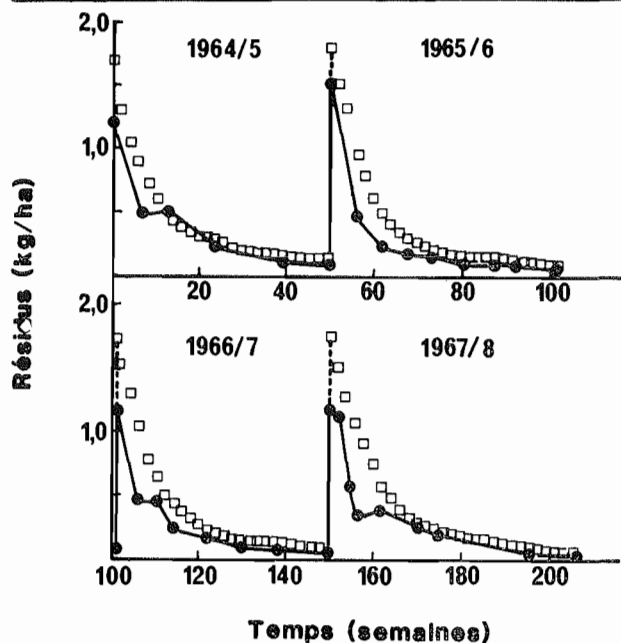


Figure 7 :

Persistence de la simazine en parcelles cultivées. Résultats d'un essai pluriannuel — □ : résultats simulés — ● : résultats observés ((WALKER, 1976).

Simazine persistence in cultivated plots. Pluriannual experiment : (□) simulated and (●) observed results (WALKER, 1976).

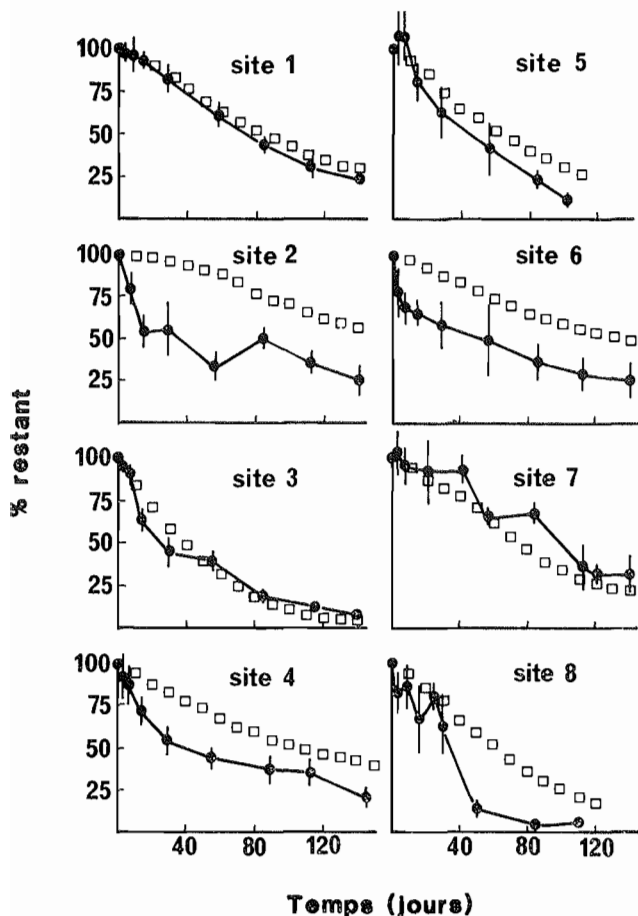


Figure 8 :

Persistence de la simazine au champ. Résultats d'un essai multilocal — □ : résultats simulés — ● : résultats observés (WALKER et al., 1983).

Simazine persistence in the field. Multilocal experiment : (□) simulated and (●) observed results (WALKER et al., 1983).

2 - Les modèles biologiques

Il s'agit de modèles dans lesquels des populations microbiennes interviennent en tant que variables d'état. L'utilisation de tels modèles pour l'étude de phénomènes du sol placés sous contrôle microbien, c'est le cas des transformations de l'azote (Mc LAREN, 1971 ; VAN VEEN, 1977 ; CORMAN, 1982), ou de la décomposition de matériel organique (PARNAS, 1976 ; SMITH, 1979), a pu être faite avec profit. Leur application à la dégradation des pesticides reste très limitée. Nous avons pour notre part (SOULAS, 1982) proposé un tel modèle pour décrire le fonctionnement du système décrit sur la figure 9 et qui résume l'essentiel de ce que l'on connaît de la dégradation des pesticides dans le sol, à savoir :

- la dégradation d'un pesticide peut être le fait de deux catégories de micro-organismes, les métabolisants et les cométabolisants ;
- qu'une fraction de la microflore du sol peut être affectée par la présence du pesticide ou de l'un de ses métabolites ;
- que dans sa grande majorité la microflore du sol est indifférente à la présence du pesticide ;
- qu'enfin, le pesticide existe dans le sol sous plusieurs états, adsorbé, dissous ou éventuellement cristallisé.

Nous avons fait l'hypothèse que seule la fraction en solution était biologiquement accessible.

Pour exprimer l'activité de chacune des populations microbiennes, trois relations sont nécessaires. La première est la loi de croissance qui est classiquement une loi exponentielle :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (7)$$

où X est la « concentration » microbienne et μ le taux de croissance. La seconde relation explicite la variation du taux de croissance en fonction :

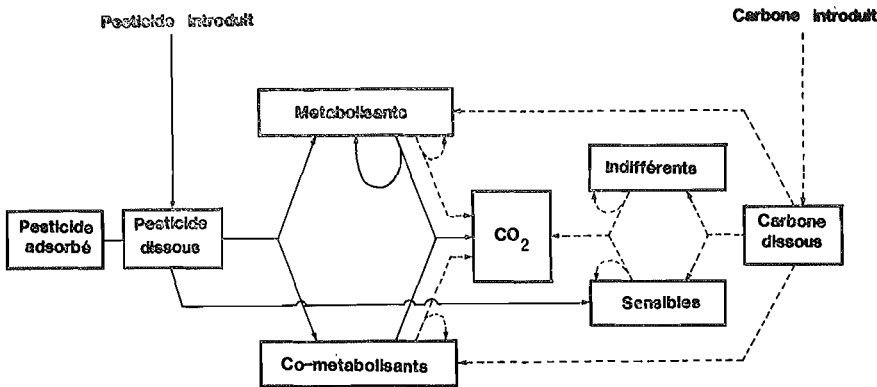


Figure 9 :

La dégradation des pesticides dans le sol. Principales catégories de microorganismes. (Les flèches en trait plein sont relatives aux transferts du pesticide et de ses produits de transformation. Les flèches en pointillé sont relatives aux autres substrats carbonés.)

Degradation of pesticides in the soil. The main microbial groups. (Solid arrows are related to pesticide and metabolites flow. Dashed arrows are related to the flow of other carbon substrates.)

soit de la population microbienne X (loi logistique) :

$$\mu = r (m - X) \tag{8}$$

où r est le taux de croissance spécifique et m la population maximale autorisée ;
soit de la teneur en substrat limitant S (loi de MONOD) :

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_m + S} \tag{9}$$

où μ_m est le taux de croissance spécifique, K_m la constante de saturation. Enfin, la troisième relation lie la disparition du substrat limitant à l'évolution de la biomasse qui se développe à ses dépens :

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{1}{Y} \frac{dX}{dt} \tag{10}$$

où Y est le rendement de la croissance, c'est-à-dire la part de substrat incorporée dans la biomasse.

Evidemment, le choix d'une telle formulation reflète certaines hypothèses concernant le comportement dynamique de la microflore dégradante. D'autres formulations sont possibles, dont certaines en particulier se libèrent du caractère exponentiel de la croissance microbienne dans le sol (BRUNNER et FOCHT, 1984). Ceci reflèterait la constitution de colonies, ce qui entraînerait une accessibilité des substrats différente suivant la position plus ou moins externe des cellules dans la colonie. Il en résulterait pour certaines cellules un ralentissement de leur activité tel qu'elles ne participeraient plus ou processus de croissance : la relation (7) ne serait donc plus valide. Peut-être est-ce une interprétation de cette nature qu'il faut invoquer pour expliquer la différence entre le comportement simulé de la population dégradante (fig. 10, B) et celui que l'on observe par voie expérimentale (fig. 10, A) où la croissance y apparaît plus linéaire que ne le laisse prévoir le modèle proposé.

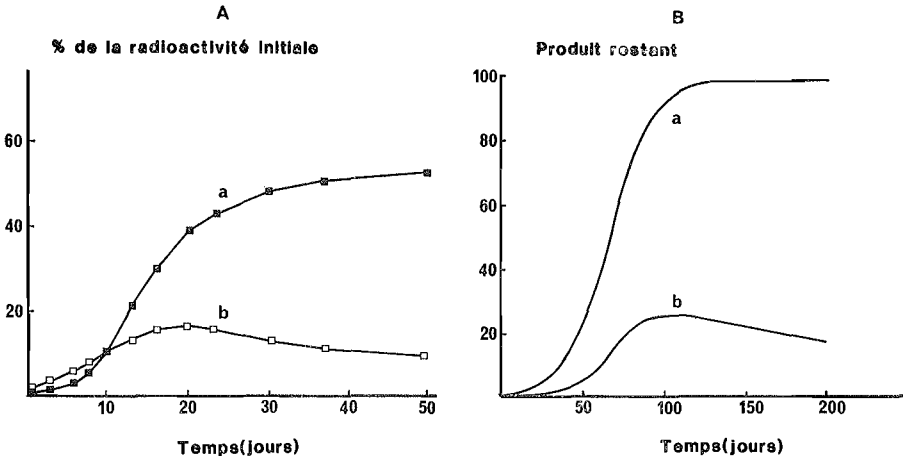


Figure 10 :

Cinétique de dégradation et d'évolution de biomasse dégradante. A : résultats expérimentaux — a : courbe de dégagement de $^{14}\text{CO}_2$, indicative de la dégradation du produit (2,4-D) — b : cinétique d'incorporation de radioactivité par la population dégradant le 2,4-D. Cette courbe caractérise la croissance de cette population.

B : situation théorique simulée — a : courbe de dégradation ; b : courbe de croissance de la population dégradante.

Degradation kinetics and dynamics of the degrading microflora. A : experimental results — a : $^{14}\text{CO}_2$ evolution — b : radioactivity incorporation into the degrading population.

B : situation theoretical results — a : degradation curve — b : growth of the degrading population.

CONCLUSION

L'utilisation de composés organiques de synthèse en protection des cultures a très tôt posé le problème des conséquences éventuelles de leur persistance dans l'environnement. En raison des risques potentiels, de nombreuses études ont été engagées, destinées notamment à mieux comprendre le comportement de la microflore du sol considérée comme agent principal de la dégradation de tels composés dans le sol. De ce point de vue, on peut considérer que l'utilisation à des fins agricoles de molécules de synthèse a eu au moins pour conséquence bénéfique de contribuer à mettre en évidence certains mécanismes biologiques de l'adaptation, leurs conséquences sur l'évolution des capacités métaboliques de la microflore du sol ainsi que sur son comportement dynamique. Dans cette optique, les pesticides apparaissent comme de bons modèles de substrats carbonés puisque, compte tenu de leur introduction récente dans le milieu naturel, l'adaptation de la microflore est un processus actuellement « en marche » susceptible de fournir une référence en « temps réel » aux études de laboratoire. D'autre part, la taille des populations microbiennes concernées par la dégradation est relativement limitée. En outre, leur relative spécificité en permet une identifiabilité fonctionnelle et pondérale grâce à des techniques de marquage sélectif reposant notamment sur l'utilisation de produits marqués. L'ensemble de ces caractéristiques non seulement rend plus aisée l'étude de leur dynamique d'évolution, mais surtout permet de le faire dans des conditions qui ne perturbent pas trop leur environnement biologique. Elles constituent donc des populations modèles bien adaptées à des études d'écologie microbienne du sol concernant notamment les interrelations microbiennes qui font que l'activité biologique d'un sol n'est pas simplement le résultat de la juxtaposition d'activités spécifiques, mais apparaît plutôt comme celle d'une entité biologique avec de multiples régulations.

Reçu pour publication : février 1985

Accepté pour publication : mai 1985

DEGRADATION OF PESTICIDES IN THE SOIL MICROBIAL AND QUANTITATIVE ASPECTS

In that article we try to distinguish between some of the biological processes by which microorganisms acquire new catalytic functions that allow them to transform xenobiotic substances. Degradation probably occurs by recruiting preexisting enzymes capable of acting on different substrates particularly if they are analogues of natural compounds (fig. 1). Two main obstacles to efficient degradation are that new chemicals are no always able to induce synthesis of the enzymes involved in their own degradation and that they are often poor substrates for these enzymes. These difficulties may be overcome by different processes — i : gene duplication that increases the basal level of enzyme production — ii : regulatory mutations that give « constitutive mutants » capable of producing large amounts of enzymes — iii : mutations in the structural genes that give altered enzymes with an increased affinity for the new substrate (fig. 2). It seems now probable that considerable contribution to the genetic adaptation of microorganisms to their environment could be made by exchange of genetic information carried on transmissible extrachromosomal elements (plasmids) between members of a microbial community. Such genetic transfert may result in the coexistence of microorganisms with different biochemical capacities (fig. 3) that may be divided into two main categories : the metabolizing microbes able to grow at the expense of the pesticide and the cometabolizing ones that, as isolated species, cannot use the pesticide as C and energy source but may express their respective and complementary degradative capacities within a microbial community (fig. 4, 5).

Then we try to relate the above mentioned biochemical peculiarities and their distribution in the soil biomass to observed kinetics of pesticide degradation (fig. 6).

Some of the main theoretical models of pesticide degradation in the soil are introduced. We first examine models the formulation of which is based on equations

of chemical kinetics. Some examples are given (Table 1). Their use as predictive models is discussed in the light of the example developed many years ago by WALKER (fig. 7, 8). Biological models that take into account dynamics of microbial populations are also presented. A brief description is given of a theoretical model we recently developed (fig. 9). Comparison between simulated and observed results are given (fig. 10) to illustrate the possible use of such model as methodological tool for scientific investigation.

BIBLIOGRAPHIE

- BRUNNER W. et FOCHT D.D., 1984. — Deterministic three - half - order kinetic model for microbial degradation of added carbon substrates in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* (47), 167-172.
- CHATTERJEE D.K., KILBANE J.J. et CHAKRABARTY A.M., 1982. — Biodegradation of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid in soil by pure culture of *Pseudomonas cepacia*. *Appl. Environ. Microbiol.* (44), 514-516.
- CLARKE P.H., 1984. — Evolution of new phenotypes pp. 71-78. In « *Current Perspectives in Microbial Ecology* ». Edité par M.J. KLUG et C.A. REDDY. American Society for Microbiology, Washington D.C.
- CORMAN A., 1982. — Modélisation mathématique du processus de nitrification dans le sol. Thèse docteur-ingénieur, Université Claude-Bernard, Lyon.
- DAGLEY S., 1975. — A biochemical approach to some problems of environmental pollution. *Essays Biochem.* (11), 81-138.
- FARREL R. et CHAKRABARTY A.M., 1979. — Degradative plasmids : molecular nature and mode for evolution pp. 97-109. In « *Plasmids of Medical, Environmental and Commercial Importance* ». Edité par K.N. TIMMIS et A. PUHLER. Elsevier/North Holland, Amsterdam.
- FOURNIER J.C., 1980. — Enumeration of soil microorganisms able to degrade 2,4-D by metabolism and co-metabolism. *Chemosphere* (9), 169-174.
- FOURNIER J.C., CODACCIONI P. et SOULAS G., 1981. — Soil adaptation to 2,4-D degradation in relation to the application rates and the metabolic behaviour of the degrading microflora. *Chemosphere* (10), 977-984.
- HALL B.G., 1984. — Adaptation by acquisition of novel enzyme activities in the laboratory, pp. 79-86. In « *Current Perspectives in Microbial Ecology* ». Edité par M.J. KLUG et C.A. REDDY. American Society for Microbiology, Washington D.C.
- HAMAKER J.W., YOUNGSON C.R. et GORING C.A.I., 1968. — Rate of detoxification of 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid in soil. *Weed Res.* (8), 46-57.
- HANCE R.J. et Mc KONE C.E., 1971. — Effect of concentration on the decomposition rates in soil of atrazine, linuron and picloram. *Weed Res.* (2), 31-34.
- HEGEMAN D.G. et ROSENBERG S.L., 1970. — The evolution of bacterial enzyme systems. *Annu. Rev. Microbiol.* (24), 429-462.
- KAUFMAN D.D., 1984. — Enhanced biodegradation and reduced pesticide efficacy with repeated application and cropping, pp. D7-D10. In « *Report of Work Planning Conference on Soil Microbiological Issues as Related to Conservation Tillage* » Seattle, Washington.
- KELLOG S.T., CHATTERJEE D.K. et CHAKRABARTY A.M., 1981. — Plasmid-assisted molecular breeding : new technique for enhanced biodegradation of persistent toxic chemicals. *Science* (214), 1133-1135.
- KEMPSON-JONES G.F. et HANCE R.J., 1979. — Kinetics of linuron and metribuzin degradation in soil. *Pestic. Sci.* (10), 449-454.
- KILBANE J.J., CHATTERJEE D.K., KARNIS J.S., KELLOG S.T. et CHAKRABARTY A.M., 1982. — Biodegradation of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid by a pure culture of *Pseudomonas cepacia*. *Appl. Environ. Microbiol.* (44), 72-78.
- Mc LAREN A.D., 1971. — Kinetics of nitrification in soil : growth of the nitrifiers. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* (35), 91-95.
- MEIKLE R.W., YOUNGSON C.R., HEDLUNG R.T., GORING C.A.I., HAMAKER J.W. et ADDINGTON W.W., 1973. — Measurement and prediction of picloram disappearance rates in soil. *Weed Sci.* (21), 549-555.

- MONTGOMERY M., YU TE C. et FREED V.H., 1972. — Kinetics of dichlobenil degradation in soil. *Weed Res.* (12), 31-36.
- MORTLOCK R.P., 1981. — Regulatory mutations and the development of new metabolic pathways by bacteria. *Evol. Biol.* (14), 205-267.
- PARNAS H., 1976. — Model for decomposition of organic material by microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* (7), 161-169.
- PEMBERTON J.M., CORNEY B. et DON R.H., 1979. — Evolution and spread of pesticide degrading ability among soil microorganisms. pp. 287-299. In « Plasmids of Medical, Environmental and Commercial Importance ». Edité par K.N. TIMMIS et A. PUHLER. Elsevier/North Holland, Amsterdam.
- RAHN P.R. et ZIMDHAL R.L., 1972. — Soil degradation of two phenylpyridazinones. *Weed Sci.* (21), 314-317.
- REANNEY D., 1976. — Extrachromosomal elements as possible agents of adaptation and development. *Bacteriol. Rev.* (40), 552-590.
- REANNEY D., 1976 — Extrachromosomal elements as possible agents of adaptation bacteria. *Nature* (277), 385-386.
- SCHWIEN U. et SCHMIDT E., 1982. — Improved degradation of monochlorophenols by a constructed strain. *Appl. Environ. Microbiol.* (44), 33-39.
- SKIPPER H.D., GILMOUR C.M. et FURTICK W.R., 1967. — Microbial versus chemical degradation of atrazine in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* (32), 653-656.
- SMITH O.L., 1979. — An analytical model of the decomposition of soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* (11), 585-606.
- SOULAS G., 1975. — Influence du taux d'argile sur la persistance de l'atrazine dans le sol. C.R. 8^e Conf. COLUMA (1), 3-10.
- SOULAS G., 1982. — Mathematical model for microbial degradation of pesticides in soil. *Soil Biol. Biochem.* (14), 107-115.
- VAN VEEN J.A., 1977. — The behaviour of nitrogen in soil. A computer simulation model Ph. D. Thesis. Free University, Amsterdam.
- WALKER A., 1970. — Persistence of pronamide in soil. *Pestic. Sci.* (1), 237-239.
- WALKER A., 1976. — Simulation of herbicide persistence in soil. I : Simazine et Prometryne. *Pestic. Sci.* (7), 41-49.
- WALKER A., 1976. — Simulation of herbicide persistence in soil. II : Simazine and linuron in long term experiments. *Pestic. Sci.* (7), 50-58.
- WALKER A., 1976. — Simulation of herbicide persistence in soil. III : Propyzamide in different soil types. *Pestic. Sci.* (7), 59-64.
- WALKER A. et BARNES A., 1981. — Simulation of herbicide persistence in soil ; a revised computer model. *Pestic. Sci.* (12), 123-132.
- WALKER A. and EWRS Herbicide - Soil Working Group, 1983. — Collaborative experiment on simazine persistence in soil. *Weed Res.* (23), 373-383.
- ZIMDHAL R.L., FREED V.H., MONTGOMERY M.L. et FURTICK W.R., 1970. — The degradation of triazine and uracil herbicides in soil. *Weed Res.* (10), 18-26.

