



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Effets du glyphosate sur les paramètres physicochimiques et biologiques des sols au sud du Togo

Achité Antony MENSAH^{1*}, N¹pagyendou LARE², Kondi YORIKOUME³,
Gbénonchi MAWUSSI⁴ et Damintoti Simplicie KAROU⁵

¹ Institut Togolais de recherche Agronomique (ITRA), Laboratoire de Sols-Eaux-Végétaux-Engrais (SEVE), Lomé, Togo.

² Institut Togolais de recherche Agronomique (ITRA), Laboratoire de Biosécurité et Défense des Cultures, Lomé, Togo.

³ Institut Togolais de recherche Agronomique (ITRA), Centre de recherche Agronomique Savane Humide de Kolokopé, Togo.

⁴ Département des Sciences du sol, Laboratoire de Recherche sur les Agro ressources et la Santé Environnementale, Ecole Supérieure d'Agronomie - Université de Lomé, BP 1515 Lomé, Togo.

⁵ Ecole Supérieure des Techniques Biologiques et Alimentaires, Laboratoire de Microbiologie et de Contrôle Qualité des Denrées Alimentaires, Centre de Recherche et de Formation sur les Plantes Médicinales (CERFOPLAM), Université de Lomé, B.P. 1515 Lomé, Togo.

* Auteur correspondant ; E-mail : antonymensah13@gmail.com; Tel : +228 90 86 52 83

Received: 22-11-2022

Accepted: 17-08-2023

Published: 31-08-2023

RESUME

Le glyphosate est l'un des herbicides les plus utilisés dans le monde. Il a un effet non seulement sur les espèces non cibles mais aussi sur l'environnement. L'objet de cette étude est d'évaluer l'impact du glyphosate sur l'activité globale des microorganismes des sols. Des échantillons de sol ont été incubés en présence du glyphosate (500 mg/L) pendant 80 jours pour déterminer l'activité respiratoire des microorganismes. La détermination des paramètres physicochimiques, de la biomasse microbienne et la culture de microorganismes à des doses croissantes ont été réalisées. Des souches de bactérie de *Rhizobium sp.* et d'*Azotobacter sp.* ayant résisté aux doses élevées (200 ppm) de glyphosate ont été isolées et identifiées par PCR. Les résultats indiquent que les doses de glyphosate apportées ont inhibé significativement ($P < 0,05$) la croissance des bactéries diazotrophes en culture. Cependant, le glyphosate (500 mg/L) n'a pas eu d'effet significatif non seulement sur la respiration, la biomasse et le quotient respiratoire des microorganismes du sol mais aussi sur la fertilité des sols étudiés. Ces doses ont tendance à perturber la vie du sol en affectant l'efficacité des microorganismes à utiliser la matière organique, en activant tantôt la respiration et la biomasse microbiennes et tantôt en les inhibant. Le glyphosate n'a donc pas d'effets significatifs sur les paramètres physicochimiques et microbiologiques des sols étudiés

© 2023 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Sol, glyphosate, Lomé, bactéries diazotrophes, activités respiratoires, biomasse microbienne.

Effects of glyphosate on physicochemical and biologicals parameters of soils in southern Togo

ABSTRACT

Glyphosate is one of the most widely used herbicides, however, its action can have an effect not only on non-target species but also on the environment. The impact of glyphosate on the global microbial activity of soils was studied. Soil samples were taken and incubated in the presence of glyphosate for 80 days to determine the respiratory activity of the microorganisms. The determination of physic chemistry parameters of soil treated with glyphosate, microbial biomass, and the culture of microorganisms with creasing doses were realized. Strains of *Rhizobium sp.* and *Azotobacter sp.* that resisted to high doses (200 ppm) of glyphosate were isolated and identified by PCR. The results indicate that the doses of glyphosate provided significantly ($P < 0.05$) inhibited the growth of diazotrophic bacteria in culture. But, the dose of 500 mg/L do not have significate effect on microorganism respiration, biomass, respiratory quotient and fertility parameters ($P > 0.05$). The glyphosate has relatively affected the efficiency of microorganisms to use organic matter, sometimes activating microbial respiration and biomass and sometimes relative inhibiting them. Then, the glyphosate do not have significant effects on physicochemical and microbial parameters of the soils studies.

© 2023 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Glyphosate, Soil, Microbial biomas, diazotroph bacteria, respiratory activity, Lomé.

INTRODUCTION

Au Togo, l'emploi des pesticides est rentré dans les habitudes des producteurs agricoles surtout dans le maraichage (Toé, 2003; Muliele et al., 2018; Yannick et Armel, 2020). Son utilisation dans l'agriculture permet d'augmenter les rendements agricoles. Cependant, les pesticides présentent des risques énormes pour l'homme et pour l'environnement lorsque ces derniers sont exposés à leur émanation. (Muliele et al., 2018). En outre, les agriculteurs n'observent pas les bonnes pratiques agricoles et ignorent en effet la nature, la qualité, les doses à apporter et le non-respect des recommandations pour une utilisation écologiquement rationnelle. Le risque qui en découle est alors la pollution des écosystèmes édaphiques et aquatiques. Des études ont révélé la contamination des sols et des eaux de certaines régions du Togo et dans beaucoup d'autres pays d'Afrique par les pesticides, (Ouattara et al., 2010; Kanda et al., 2013; Mawussi et al., 2014). Pour faciliter la gestion des adventices, l'un des herbicides les plus utilisés est le glyphosate. En effet, le glyphosate détruit les végétaux en inhibant la synthèse d'acides aminés aromatiques essentiels aux plantes. On croyait initialement que ce mode d'action agissait seulement sur le

métabolisme des végétaux, ce qui faisait apparemment du glyphosate un herbicide sécuritaire pour les autres organismes vivants. (Yuan et al., 2022). Cependant, au cours de ces dernières années, un certain nombre d'études scientifiques ont exprimé des craintes quant à l'innocuité du glyphosate, et certains ont même demandé l'interdiction des herbicides qui en contiennent (Samsel et Seneff, 2013; INRS, 2019). Ainsi, l'objectif de cette étude a été d'étudier les effets des applications de glyphosate sur l'activité microbienne du sol de trois zones de cultures différentes.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Matériel chimique : le glyphosate

Le glyphosate (N° Lot : NHW18022-3, Shanghai E-TONG CHEMICAL Co. LTD, CHINE) encore connu sous le nom de Super Terminator 575 SG a été utilisé pour la préparation des solutions de diverses concentrations. Il a été obtenu sous forme de granulé auprès de la société STIEA qui est une des sociétés chargées de la distribution des produits phytosanitaires à Lomé (Agbalépedogan).

Matériel biologique

Un examen préalable du site de prélèvement a été réalisé dans le but d'identifier le type de sol et la végétation. Par la suite, un échantillon composite de 10 échantillons élémentaires a été prélevé en choisissant des sols aussi uniformes que possible. Les échantillons ont été prélevés dans la couche superficielle du sol (0-20 cm). Après un premier tri, écartant les pierres et les débris végétaux, les échantillons ont été récupérés dans des sachets de prélèvement puis transportés au laboratoire où ils ont été immédiatement analysés (Wellbrock et al., 2019). Le Tableau 1 résume les informations sur les sites de prélèvement, leurs coordonnées géographiques les antécédents culturels et les caractéristiques physicochimiques.

Méthodes

Analyses physicochimiques

Une partie des échantillons a été mise en pots et traité par le glyphosate (500 mg/L). Sur ces échantillons, les paramètres physicochimiques ont été évalués à des temps 0 ; 3 ; 6 ; 9 ; 12 mois afin de déterminer l'influence de glyphosates sur la fertilité de ces sols. Ces paramètres sont le pH (pH-mètre OHAOUS ; Model ST3100 ; CHINE), la conductivité électrique (CE) (conductimètre HANAN Instruments HI 2315, Roumanie) les K échangeables par photomètre de flamme JENWAY (Bibby Scientific LTD, Model :PFP7, UK), l'azote total par Kjeldhal (VELP scientifica UDK 129 , ITALIE), la texture par le granulomètre laser (Betterson 2600 ; BT802 ; Shanghai, CHINE), le phosphore par la méthode d'Olsen et la matière organique dont la lecture a été effectuée au colorimètre (SHIMADZU, Model : UV 1900i ; Tokyo, JAPON).

Analyses microbiologiques

Mesure de l'activité respiratoire du sol

Les échantillons de sol ont été mis en incubation à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 80 jours et le CO_2 a été dosé selon la méthode de Salducci, (2007) et de Ouattara et al.(2010) et décrite par la Norme ISO 16072, (2002). Elle a consisté à piéger le CO_2 dégagé par de la soude (NaOH 0,5 N), puis à le doser par titration avec l'acide

chlorhydrique (HCl 0,1 N) après addition de 3 mL d'une solution aqueuse de chlorure de baryum (BaCl_2) à 20% et de 3-5 gouttes de la phénolphthaléine. Chaque échantillon a été répété trois fois.

La quantité de CO_2 dégagé ($\text{C}-\text{CO}_2$) est donnée par la formule suivante :

$$C - \text{CO}_2(\text{mg}/100\text{g de sol}) = (V_{\text{HCl blanc}} - V_{\text{HCl échantillon}}) \times 2,2$$

- $V_{\text{HCl blanc}}$ = volume en ml de HCl 0,1 N, utilisé pour le témoin ;

- $V_{\text{HCl échantillon}}$ = volume en ml de HCl 0,1 N, utilisé pour l'échantillon de sol ;

- **2,2** = coefficient qui signifie que 2,2 g de CO_2 , correspondent à 1 mL de HCl 0,1 N.

Mesure de la biomasse microbienne du sol

La détermination de la biomasse microbienne a été réalisée, en fumigeant les échantillons de 25 g de sol à la vapeur de chloroforme pendant 24 heures. Une autre prise d'essai a reçu du glyphosate à différentes concentrations de 100 ; 200 ; 500 ppm. Ensuite, l'ensemble des échantillons a été incubé et le dosage du CO_2 dégagé a été réalisé selon la méthode décrite par Dommergues en 1960 et cité par (Salducci, 2007; Girard et al., 2005). Chaque échantillon a été répété trois fois. La biomasse microbienne (BM) a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$\text{BM}(\text{mg}/100\text{g de sol}) = (\text{F}_{0-7} - \text{F}_{8-14}) / \text{Kc}$$

Où : F_{0-7} = le CO_2 dégagé entre 0 et 7 jours par les échantillons fumigés ;

F_{8-14} = le CO_2 dégagé entre 8 et 14 jours par les échantillons fumigés ;

Kc = 0,41 est le coefficient de proportionnalité représentant la fraction minéralisable en CO_2 du carbone.

Détermination du Quotient respiratoire du sol

Le Quotient respiratoire ($q\text{CO}_2$) est l'activité spécifique des microorganismes du sol ou la quantité quotidienne de carbone minéralisé par gramme de biomasse microbienne. Elle a été déterminée par la formule de Salducci, (2007) $q\text{CO}_2 = \text{Cm} (14) / (14 \times \text{BM})$

Où : **Cm (14)** est le carbone minéralisé pendant 14 jours d'incubation ;

C-BM est la biomasse microbienne ; **14** est le nombre de jours d'incubation.

Evaluation de l'effet du glyphosate sur les bactéries diazotrophes.

Utilisation du glyphosate par les microorganismes

Deux (2) grammes de sol ont été ajoutés dans un flacon de 200 mL contenant 98 mL du milieu MSM (Minimal Salt Medium) liquide, supplémenté de glyphosate comme seule source de carbone et d'énergie à une concentration de 25 mg/L.

L'incubation a été faite à 30°C, sous agitation (180 tours/minute) pendant 7 jours. Par la suite, dix (10) millilitres de la culture d'enrichissement initialement préparée ont étéensemencées dans 90 mL du milieu MSM liquide frais, contenant 50 mg/L de glyphosate et incubés pendant 7 jours. L'enrichissement a duré environ 4 semaines en augmentant progressivement la concentration initiale de glyphosate de 25 mg/L jusqu'à 200 mg/L.

Pour chaque tour d'enrichissement, des prélèvements ont été effectués, puisensemencés sur le milieu MSM solide additionné de glyphosate comme seule source de carbone et énergie (SSCE) et incubés à 30°C pendant 3 jours (3 boîtes pour chaque tour) pour sélectionner les souches tolérantes à chaque concentration (Zhao *et al.*, 2019).

Purification des souches tolérantes de fortes concentrations de l'herbicide glyphosate

Les colonies obtenues du dernier enrichissement (200 mg/L de glyphosate) et ayant une bonne croissance sur le milieu MSM solide additionné de l'herbicide glyphosate et comme SSCE sont repiquées et purifiées sur le milieu ASHBY et YEM respectivement pour *Azotobacter* et *Rhizobium*. Les souches bactériennes isolées ont été conservées sur milieu gélose nutritive, par ensemencement en stries, après incubation à 30°C pendant 24 à 72 heures. Les cultures ont été conservées à 4°C.

Identification moléculaire des souches d'Azotobacter et Rhizobium tolérants le glyphosate

Extraction d'ADN

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont issues des colonies obtenues du dernier enrichissement (200 mg/L de glyphosate) et ayant une bonne croissance sur le milieu MSM solide additionné de l'herbicide glyphosate comme SSCE. Elles ont été repiquées et purifiées sur le milieu YEM et

ASHBY pour les bactéries du genre *Azotobacter* et *Rhizobium* respectivement.

La méthode d'extraction d'ADN utilisée a été adaptée du protocole de Prabha *et al.* (2012). Elle a été réalisée en trois étapes : lyse cellulaire, inactivation des nucléases cellulaires, purification de l'ADN.

Amplification (PCR)

Identification de Azotobacter

Réaction en chaîne par polymérase a été réalisée à l'aide d'amorces d'ADN recombinant (ADNr) 16s d'amorces sens (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') et d'amorces antisens (5'-TGACTGACTGAGGCTACCTG-3') pour *Azotobacter*. La PCR a été réalisée dans un volume final de 25 µL contenant 4 µL d'ADN matrice, 12,5 µL de tampon Master mix, 1 µL d'amorce 10 µM et de 7,5 µL d'eau distillée stérile. Les amplifications ont été réalisées dans un thermocycleur Applied Biosystems avec le programme consistant en une dénaturation initiale de 94°C pendant 3 min suivie de 45 cycles consistant chacun en une dénaturation à 94°C pendant 1 min, une hybridation à 37°C pendant 1 min, une extension d'amorce à 72°C pendant 3 min, et une extension finale de 72°C pendant 10 min. Ces réactions ont été répétées pour vérifier la reproductibilité de l'amplification. Les échantillons ont été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 1% à 120 V pendant 45 minutes dans du tampon TBE (Tris Borate-Ethylendiamine-tetraacetic acid, EDTA). Les bandes de 1,5 kb d'ADN ont été visualisées par illumination UV après une coloration au bromure d'éthidium (BET) (Kasa *et al.*, 2015).

Identification de Rhizobium

L'amorce universelle de l'ADNr 16s sens 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') et antisens 1492 (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') a été utilisé pour amplifier les fragments de 1,5 kb. Ces séquences d'amorce ont été fournies par Inquba biotec (Africa's Genomics Company). Les amplifications ont été réalisées dans un thermocycleur Applied Biosystems dans les conditions suivantes : une dénaturation initiale de 94°C pendant 5 min suivie de 24 cycles consistant chacun en une dénaturation à 94°C

pendant 15 s, une hybridation d'amorce à 44°C pendant 15 s, une extension d'amorce à 72° C pendant 30 s et une extension finale de 72°C pendant 7 min. PCR a été réalisée dans un volume final total de 25 µL contenant 4 µL d'ADN extrait, 12,5 µL de tampon Master mix, 1 µL d'amorce 10 µM et de 7,5 µL d'eau distillée stérile. Les échantillons ont été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 1% à 120 V pendant 45 minutes dans du tampon

TBE (Tris Borate-Ethylenediamine-tetraacetic acid, EDTA). Les bandes d'ADN ont été visualisées par illumination UV après une coloration au bromure d'éthidium (BET). (Doty *et al.*, 2005).

Analyses statistiques

Le logiciel R a été utilisé pour les analyses statistiques ANOVA avec le package Rcmdr et un seuil de significativité $\alpha = 0,05$.

Tableau 1 : Caractéristiques des sols étudiés.

Sites		I (E1)	II (E2)	III (E3)
Localité		Plage d'Ablogamme	Bas fond de Togblékopé	Champ d'expérimentation de l'ICAT Cacaveli
Coordonnées Géographiques	Latitude	N 06,13712	N 06,28909	N 06,20860
	Longitude	E 01.26108	E 01,21178	E 01,20071
Principales cultures		chou, Chou-fleur; laitue; betterave; carotte; oignon; piment; concombre aubergine.	Corchorus olitorius (Adémè), Hibiscus esculentus L (gombo) et canne à sucre	Maïs et manioc
Phosphore assimilable (mg/kg)		41,77	2,82	2,46
Potassium échangeable (mg/kg)		0,39	0,7	0,46
Conductivité Electrique µS		136	60	38
Azote total (%)		0,05	0,2	0,06
Carbone (%)		0,92	1,98	0,85
Matière organique (%)		1,59	3,42	1,46
C/N		18	10	15
pH	Eau	8,74	5,06	6,99
	KCl	8,23	3,66	6,17
	Argile	0	21,33	1,86
Texture %	Limon	3,23	68,7	10,14
	Sable	96,77	9,97	88

RESULTATS

Effets sur la fertilité

De façon globale, le glyphosate a eu un effet significatif sur les éléments nutritifs des sols au cours de la période (un an) d'études. Le Tableau 2 présente les résultats des effets du glyphosate sur les paramètres physicochimiques du sol au cours du temps. En effet, les paramètres tels que la conductivité électrique ($P=0,001$), le potassium échangeable ($P=0,002$ et $0,008$), le phosphore assimilable, la matière organique (p -value $< 0,05$) ont significativement augmenté au cours du temps. Le glyphosate a donc modifié significativement la teneur en ces éléments du sol. Par contre, le glyphosate n'a pas eu d'effet sur le pH ($P=0,205$) et l'azote total ($P= 0.205$ (E1) ; $P= 0,168$ (E2) ; $P=0,868$ (E3)) sauf pour l'échantillon E2 ($P=0,028$). Il n'y a pas de différence significative pour les variations du taux de minéralisation (C/N).

Activité respiratoire des sols

La Figure 1 montre l'allure de la dégradation ou la minéralisation de la matière organique dans les sols E1, E2 et E3. Pas de **phase de latence** pour les sols. La dégradation ou la respiration des microorganismes a commencé dès le début de l'expérimentation, que les sols contiennent le glyphosate ou pas. Les analyses statistiques révèlent qu'il n'y a pas de différence significative entre l'activité microbienne des sols ayant reçu le glyphosate et ceux qui n'en ont pas reçu (Tableau 3).

Evaluation de l'effet du glyphosate sur la Biomasse Microbienne (BM)

Les résultats de l'impact des traitements de différentes concentrations de glyphosate sur la biomasse microbienne sont présentés sur la Figure 2. L'évolution de la biomasse microbienne (BM) a la même allure pour les échantillons E1 et E2. A la concentration 100 ppm, la BM est plus élevée et commence par diminuer avec l'augmentation de la concentration du glyphosate. Par contre la BM diminue avec l'augmentation de la concentration du glyphosate pour E3. L'analyse statistique, montre qu'il n'y a pas de

différence significative ($P>0,05$) entre les différents traitements du glyphosate.

Evaluation de l'effet du glyphosate sur le quotient respiratoire (qCO_2) du sol

La figure 2b montre l'allure de l'évolution du quotient respiratoire (qCO_2) en fonction de la concentration du glyphosate. En effet, le qCO_2 de l'échantillon E3 augmente lorsque la concentration du glyphosate augmente. Par contre, pour les échantillons E1 et E2, on distingue deux phases : une phase qui va de 0 à 100 ppm où qCO_2 diminue respectivement de $0,076 \text{ mg C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ CBM. J}^{-1}$ et $0,051 \text{ mg C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ CBM. J}^{-1}$ à $0,028 \text{ mg C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ CBM. J}^{-1}$ et une autre phase qui va de 100 ppm à 500 ppm où le qCO_2 augmente avec la concentration du glyphosate. Cependant il n'y a pas de différence significative ($p>0,05$) entre les traitements sur le qCO_2 pour l'échantillon.

Tolérance du glyphosate par les microorganismes du sol.

Le glyphosate à diverses concentrations a un effet significatif sur les microorganismes des sols étudiés. L'action bactéricide du glyphosate à 25 ppm a réduit la charge microbienne initiale de 99%. Par contre, entre 25 et 50 ppm le nombre de microorganismes a diminué de 60% pour les trois sites. Entre 100 et 200 ppm la charge microbienne est constante, il n'y a donc pas de la variation significative de la charge microbienne (Figure 3).

Isolement et identification des bactéries promotrices de croissance (PGPR)

Rhizobium

Au total 25 souches de *Rhizobium sp.* ont été isolés sur le milieu YEM à l'issue des tests de tolérance au glyphosate. Les colonies sur ce milieu sont de couleur blanche, de petite taille de diamètre d'environ 1 mm avec une surface lisse ou rugueuse et bombée ou plate avec des bords réguliers, de consistance visqueuse et opaque. Les souches isolées étaient de Gram négatif (bacille et Cocci). Leur charge initiale était de $1,89 \times 10^3$, $9,10 \times 10^4$ et $1,32 \times 10^3$ respectivement dans les sols E1, E2 et

E3. Par la PCR, 12/16 souches ont été confirmés dont la taille est 1,5 kb.

Azotobacter

Au total 20 souches de *Azotobacter sp* ont été isolés sur le milieu ASHBY à partir du milieu d'enrichissement contenant du glyphosate. Les colonies sur ce milieu ASHBY sont incolores dont le diamètre est compris entre 0,4 et 1 cm, de forme circulaire, une

surface lisse et bombée avec des bords réguliers, de consistance visqueuse et transparente. Les souches isolées étaient de Gram négatif (bacille et Cocci). Leur charge initiale était de $2,96 \times 10^5$, $1,02 \times 10^4$ et $3,45 \times 10^3$ respectivement dans les sols E1, E2 et E3. Par la PCR, 6/11 souches ont été confirmés dont la taille est de 1500 pb.

Tableau 2: Evolution de la fertilité au cours du temps.

Echantillons	Temps	pH		CE (µS)	K (méq/ 100g)	P2O5 (mg/kg)	N (%)	C (%)	OM (%)	C/N
		eau	pH KCl							
E1	T0	8,74	8,23	136	0,39	41,77	0,05	0,92	1,59	18
	T3	8,37	8,19	199	0,38	50,01	0,07	1,38	2,37	19
	T6	8,32	8,09	165	0,25	45,19	0,06	1,32	2,28	22
	T9	8,25	8,1	83	0,12	47,48	0,07	1,04	1,78	15
	T12	8,11	7,89	106	0,17	50,63	0,07	1,59	2,75	26
	CV(%)	2,81	1,62	33,45	46,39	7,74	13,97	21,56	21,72	20,92
	P-value	0,205	0,122	0,000	0,008	0,001	0,205	0,001	0,001	0,234
E2	T0	5,06	3,66	59,5	0,7	2,82	0,2	1,98	3,42	10
	T3	4,88	3,35	201	0,61	4,69	0,21	2,42	4,17	12
	T6	5,78	3,89	189	0,63	8,04	0,22	2,35	4,05	11
	T9	5,29	4,06	54	0,37	6,88	0,16	1,79	3,09	11
	T12	5,18	4,02	35	0,35	8,61	0,19	2,24	3,86	11
	CV	6,47	7,75	74,58	30,20	38,93	11,75	12,26	12,16	6,43
	p-value	0,028	0,007	0,001	0,007	0,001	0,168	0,001	0,001	0,197
E3	T0	6,99	6,17	38	0,46	2,46	0,06	0,85	1,46	15
	T3	7,13	6,28	158	0,42	3,78	0,06	1,26	2,17	20
	T6	7,02	6,25	142	0,35	5,09	0,07	1,23	2,12	18
	T9	7,08	6,26	49,5	0,12	4,77	0,08	1,14	1,97	14
	T12	6,8	6,07	31,2	0,28	5,86	0,08	0,73	1,25	9
	CV	1,80	1,39	72,97	41,13	29,88	14,29	22,85	23,08	27,68
	P-value	0,481	0,271	0,000	0,002	0,000	0,868	0,003	0,003	0,312

CV : coefficient de variation ; CE : Conductivité Electrique ; pH : potentiel d'hydrogène ; K : potassium ; N : azote ; C : carbone ; Mo : matière organique ; C/N : Rapport Carbone/Azote.

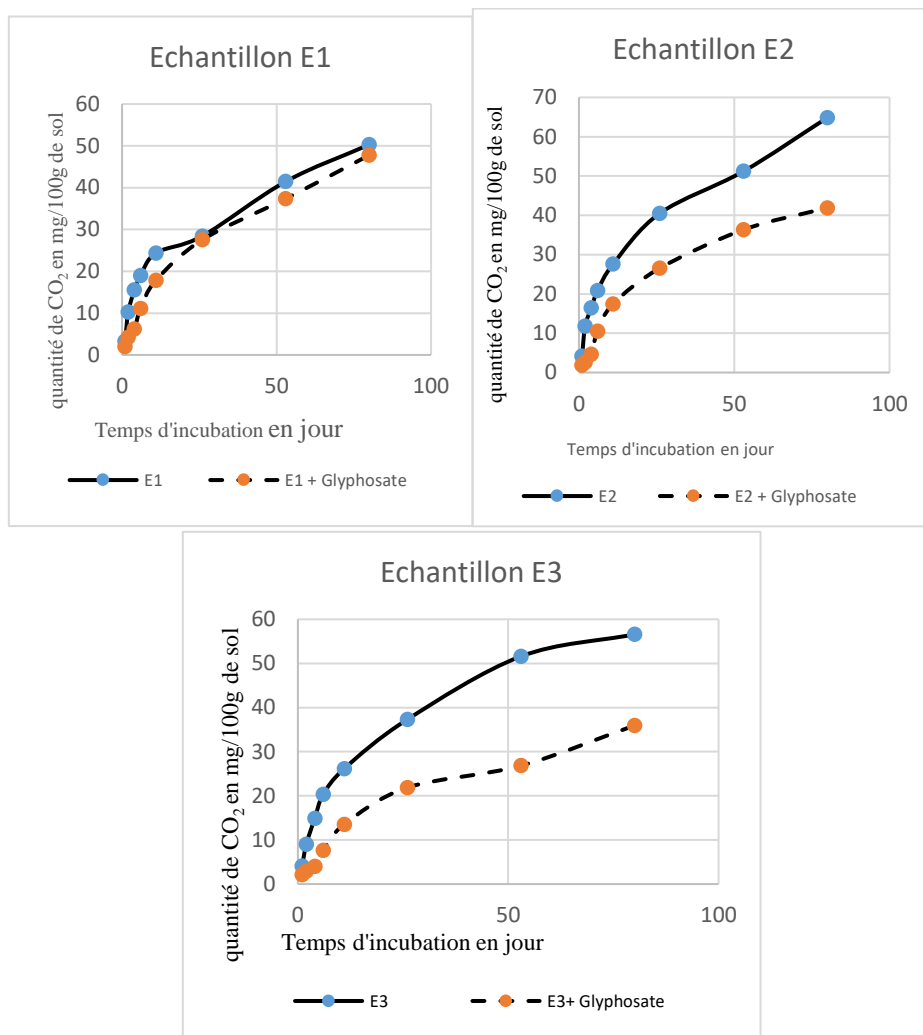


Figure 1 : comparaison de la minéralisation cumulée de la matière organique (CO₂) des trois (3) sols E1, E2, E3 traités avec le glyphosate (500 mg/l) (Respiration induite par le substrat SIR) et le témoin (sans l'herbicide) (Respiration basale) en fonction du temps d'incubation.

Tableau 3: Analyse ANOVA à un facteur effectué entre l'application ou non du glyphosate sur le sol.

Echantillons	Doses	Moyenne de quantité de CO ₂	Ecart Type	P-value
E3	S + G	4,19	3,63	0,152
	S	7,07	3,16	
E1	S + G	5,97	3,69	0,860
	S	6,28	3,31	
E2	S + G	5,23	3,39	0,137
	S	8,11	3,85	

S= sol, G= glyphosate.

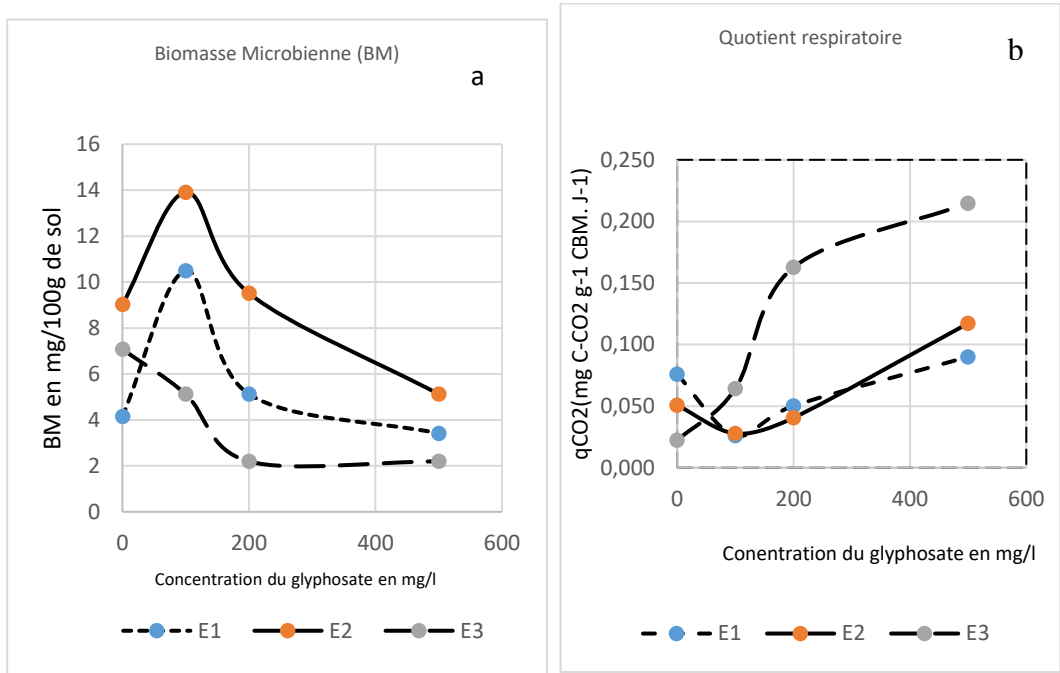


Figure 2: a) Evolution de la biomasse microbienne (BM) et b) quotient respiratoire dans les sols en fonction de la concentration du glyphosate.

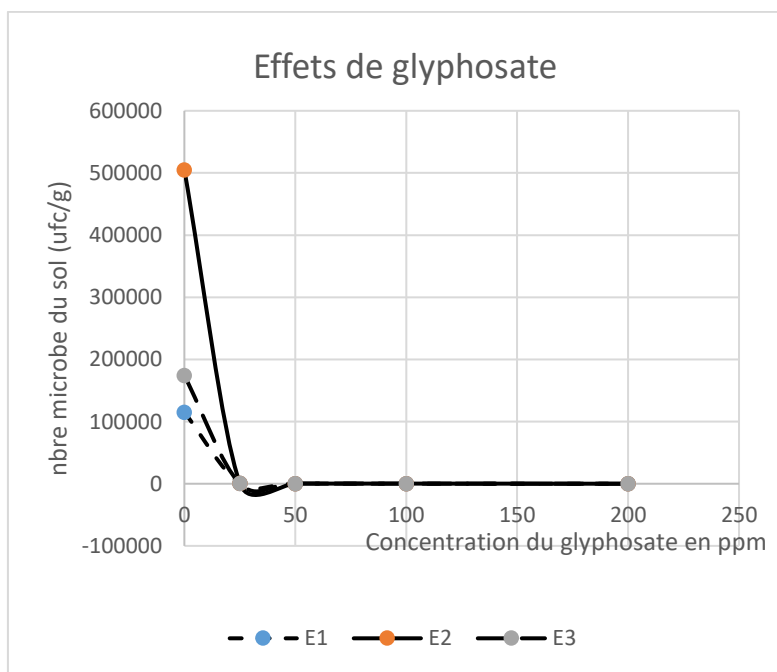


Figure 3 : Effet du glyphosate sur les microorganismes des échantillons E1, E2, E3

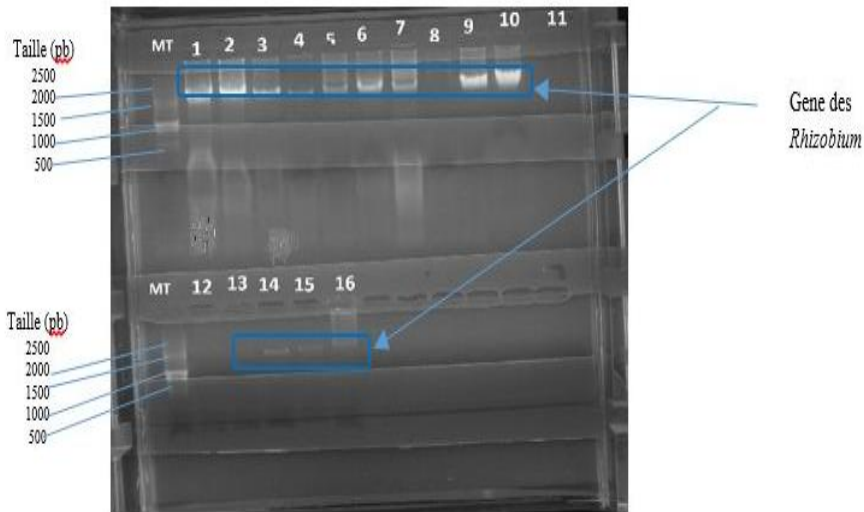


Figure 4: Les souches *Rhizobium sp.* identifiées par PCR.

MT : marqueur de taille, les numérotations représentent les puits contenant les extraits d'ADN. Les bandes qui sont alignées sur le MT de 1500 pb, sont les souches *Rhizobium*. Les souches 8, 11, 12 et 13 sont négatives

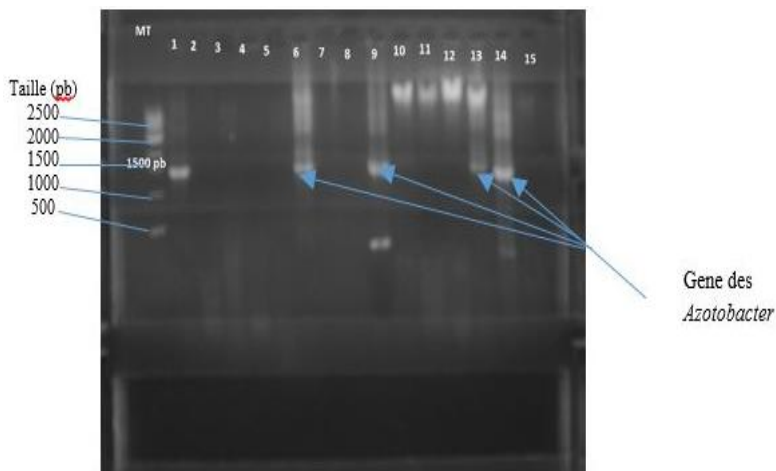


Figure 4 : Les souches *Azotobacter sp.* identifiées par PCR.

MT : marqueur de taille ; les numérotations représentent les puits contenant les extraits d'ADN. Les bandes qui sont alignées sur le MT de 1500 pb, sont les souches *Azotobacter*

DISCUSSION

Effets du glyphosate sur la fertilité

Les paramètres de fertilité du sol sont importants pour la fertilisation des cultures. Leur disponibilité dans le sol en proportion suffisante permet d'avoir un rendement à la hauteur des efforts. Ainsi, nous avons choisi d'évaluer les effets du glyphosate sur la fertilité du sol à travers la vie microbienne du sol.

Le pH du sol est un paramètre très important pour la biodisponibilité des éléments

fertilisants tels que l'azote (N), le phosphore (P), le potassium (K). Le glyphosate a un effet différent sur le pH des sols. Selon Genot et al. (2010), le pH du sol, est un indicateur des conditions physicochimiques de la solution du sol, il exerce un effet direct sur la biodisponibilité des nutriments à travers des phénomènes de solubilisation et d'insolubilisation propres à chaque élément. Ainsi, le site II du bas-fond (E2) où le pH est faible (5,06) est similaire à que celui trouvé par

Kpan Kpan et al. (2015), qui est 5,7. Ce qui aura tendance à réduire l'absorption du nitrate (N), du potassium et du calcium par les cultures. Par contre, sur les deux autres sites (E1 et E2) avec un pH respectif de 8,74 et 6,99. Il y aura une bonne absorption de presque tous les éléments nutritifs disponibles pour les cultures à l'exception du fer, du zinc, et du manganèse. Cet effet du pH sur la biodisponibilité des nutriments est aussi influencé par les intrants (engrais et les pesticides) qui peuvent entraîner la modification du pH du milieu (Genot et al., 2010). Le glyphosate n'a pas une influence significative sur le pH des sols quel que soit leur texture. Le rapport C/N est resté relativement constant pour tous les sols au cours du temps. Le glyphosate n'a donc pas d'effet significatif sur ce paramètre. Selon les travaux de Tahirou et al. (2022), par contre, le rapport C/N varie de 3 à 12% avec une forte minéralisation organique.

Effet du glyphosate sur l'activité respiratoire des microorganismes

La dégradation des pesticides dans les sols par divers processus d'origine chimique et/ou photochimique est le plus souvent considérée comme mineure (Rajab, 2007). Elle est essentiellement un processus impliquant les microorganismes ; ce qui confère au sol un pouvoir de détoxification particulièrement élevé (Calvet, 2005). En effet, la dégradation du glyphosate dans le sol par les microorganismes faisant l'objet de notre étude, montre que l'échantillon du site 2 (E2) du bas fond de Togblékopé étant riche en limon (68,7%) a un pH acide (5,06). Il a une grande surface spécifique de contact et a la possibilité de fixer le glyphosate. En effet, le glyphosate est un amphotère qui peut réagir comme un acide ou une base selon les conditions (ATSDR et EPA, 2020). Ce phénomène d'adsorption à l'intérieur des agrégats du sol se désorbe très lentement et le glyphosate ne sera pas disponible dans la solution du sol pour la microflore (Rajab, 2007). Ce qui a pour conséquence la non utilisation du glyphosate par les microorganismes et son pouvoir d'infiltration et lixiviation est relativement

réduit durant le temps de l'expérimentation. C'est ce qui a été remarqué au niveau de l'échantillon du site 3 (E3) situé dans le champ expérimental de l'ICAT sablonneux (88%) où on remarque une activité respiratoire des microbes vers la fin de l'expérimentation. Ce qui indique qu'il faut un temps plus ou moins long pour que la minéralisation se réalise. Ce qui confirme les travaux effectués par Aamand and Jacobsen (2001) qui ont montré que seulement 10% du glyphosate adsorbé était libéré vers la phase aqueuse. De plus, malgré la forte adsorption sur la phase particulaire du sol, Kpan Kpan et al. (2015) estiment que son transfert associé aux particules de sol est probablement faible. Il dépendrait essentiellement des conditions pédoclimatiques. Ceci tenterait à indiquer que la pollution des eaux observée serait due non pas au caractère particulièrement polluant du produit mais à sa surconsommation et/ou à sa mauvaise utilisation par rapport aux conditions climatiques (Aikpo et al., 2015).

Sur le site 1 (E1) situé à la plage, une zone maraîchère où sont utilisés de façon intensive les pesticides parmi lesquels le glyphosate, c'est l'effet contraire qui se produit. Les pesticides ont déjà saturé le site de fixation, le glyphosate est donc disponible dans le sol d'où cette activité respiratoire des microbes caractérisée par la production intensive du CO₂. Ces résultats sont similaires à ceux de Ouattara et al. (2010) qui ont trouvé que les pesticides stimulaient la production de CO₂. Selon Dabre et al. (2017), les microorganismes se développent et induisent une minéralisation accélérée de la matière organique en présence dont la quantité de CO₂ produite est fonction de la population microbienne, leur diversité, les enzymes métaboliques secrétées et la composition des amendements appliqués.

Les effets du glyphosate sont quasi nuls sur les sols étudiés. Il n'y pas de différence significative entre l'activité microbienne des sols ayant reçu le glyphosate et ceux qui n'ont pas reçu ($P > 0,05$) (Tableau 2). Le glyphosate n'a pas d'effets sur les microorganismes dans leur capacité à utiliser la matière organique du sol. Les résultats nous indiquent également que

la dégradation du glyphosate est du type co-métabolisme car n'ayant pas de phase de latence. Ce qui confirme les travaux de Gimsing et al. (2004). Les effets toxiques sont induits par de fortes concentrations du polluant et ainsi le glyphosate est considéré peu toxique à la faune aquatique (Agbohrssi & Imorou Toko, 2021). Ce processus de minéralisation est caractérisé par deux voies majeures de biodégradation de glyphosate assurées par les microorganismes. Une voie de conversion en quantité stœchiométrique en AMPA et une autre en glyoxylate par la glyphosate oxydoréductase codée par le gène *gox* (Hove-Jensen et al., 2014; Zhan et al., 2018). Le glyoxylate entre généralement dans le cycle des acides tricarboxyliques comme substrat énergétique des bactéries qui dégradent le glyphosate.

Biomasse Microbienne

C'est la masse de cellules microbiennes intactes dans un sol donné selon la définition de la Norme ISO 16072 (2002). L'évolution de la biomasse microbienne totale indique une augmentation de la population microbienne pour tous les traitements. Elle montre également que comparés au témoin, les apports de glyphosate induisent une augmentation de 35 à 60% de la biomasse microbienne totale respectivement pour les échantillons E2 et E1 à la concentration de 100 ppm. Une baisse de 62% avec l'augmentation de la concentration de glyphosate (0 à 500 ppm) pour l'échantillon E3. L'effet dépressif produit par le glyphosate concorde avec les travaux de Ouattara et al. (2010) qui ont révélé que les pesticides tels que Diuron (800 g/kg), Endosulfan (500 g/L), lambda-cyhalothrine (12 g/L) en association avec le compost ont abaissé la biomasse microbienne totale de 19 à 51%. Ces résultats confirment également les travaux de Mader et al. (2002) qui ont révélé que des pesticides tels que le dinoseb et le glufosinate induisaient une réduction de la biomasse microbienne du sol de 20 à 50%, 3 semaines après leur application.

L'intensification de la respiration avec baisse de biomasse microbienne, peut paraître contradictoire. En réalité, l'augmentation de la respiration n'est pas due au nombre des

microorganismes mais à l'intensification de leur activité de dégradation (Ouattara et al., 2010).

Quotient respiratoire (qCO₂)

L'évaluation de l'effet des pesticides sur le sol ayant reçu les différentes concentrations du glyphosate indique une augmentation de q(CO₂) avec l'augmentation de la concentration du glyphosate pour l'échantillon du site 3 (E3). Ce qui pourrait signifier que le glyphosate empêcherait une utilisation efficace de la matière organique par les microorganismes du sol (Traoré et al., 2007), ce qui signifierait un impact négatif du glyphosate sur les microorganismes. Néanmoins, cet impact sur l'utilisation de la matière organique n'est pas significatif ($P > 0,05$). Ces résultats confirment les travaux de Ouattara et al. (2010) qui ont fait une association pesticides/compost et qui ont révélé une baisse de l'efficacité des microorganismes du sol à utiliser la matière organique. Par contre, pour les échantillons de la plage (E1) et du basfond de Togblékopé (E2), on constate en premier temps un effet qui induirait une bonne efficacité de l'utilisation de la matière organique par les microorganismes du sol et en un second temps un effet du glyphosate qui réduirait l'action des microorganismes. Cependant, l'action de glyphosate n'a pas un effet significatif sur la vie microbienne du sol ($P > 0,05$).

Utilisation du glyphosate comme seule source de carbone et d'énergie

Nous avons identifié les genres *Rhizobium sp.* et *Azotobacter sp.* par PCR qui ont pu utiliser les glyphosates comme seule source de carbone et d'énergie. Ce qui témoigne leur résistance à cet herbicide. Ce sont des bactéries promotrices de croissance (PGPR pour «Plantgrowth-promoting rhizobacteria») (Sierra et Tournebize, 2019). Nos travaux confirment ceux de Gurikar Chennappa et al. (2014) qui ont rapporté que ces souches bactériennes sont réputées pour survivre dans des conditions extrêmes. Ils ont isolé *Azotobacter* dans un milieu contenant des pesticides (pendimethaline, chloropyrifos,

glyphosate et phorate) à 5%. Cette résistance de ces bactéries au glyphosate pourrait être s'expliquée soit du fait qu'ils ont acquis cette résistance par mutation de l'ADN bactérien ou par l'existence du gène de l'enzyme 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) naturellement. En effet, c'est une enzyme qui catalyse la production des acides aminés essentiels aux végétaux sur la voie des shikimates. (Gimsing et al., 2004).

Conclusion

L'utilisation courante des pesticides chimiques de synthèse, n'est pas sans conséquence sur l'activité microbienne globale du sol. La présente étude a montré que le glyphosate a un effet inhibiteur non significatif sur la respiration du sol. Elle a révélé que cet herbicide peut accroître le quotient respiratoire du sol à pH neutre et le sol sans traitement, a une meilleure efficacité non significative vis-à-vis de l'utilisation de sa matière organique par les microorganismes par rapport au sol traité aux pesticides. Cette relative perturbation de la vie microbienne si elle est accentuée, est un risque important pour une productivité durable du sol dans la mesure où l'activité biologique est un indicateur de la « bonne santé » d'un sol. Une utilisation abusive et non maîtrisée du glyphosate peut donc avoir un risque pour la dégradation de la fertilité du sol même si les doses apportées n'ont pas un effet significatif sur la minéralisation de la matière organique et l'élimination totale des groupes spécifiques de microorganismes tels que les bactéries ammonifiantes. Les bactéries promotrices de la croissance telles que *Rhizobium sp.* et *Azotobacter sp.* en plus d'avoir la capacité de fertiliser le sol, ont la capacité de dégrader le glyphosate. Elles sont donc indispensables pour la dépollution de l'environnement contaminé par le glyphosate.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'il n'y a pas de conflit d'intérêts entre eux.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

DSK et GM ont assuré la coordination scientifique de ce travail de bout en bout. Le

travail de correction du manuscrit a été également assuré par eux. AAM et NL ont assuré la réalisation technique et ont participé à la correction du présent manuscrit soumis à votre journal pour publication. AAM est d'ailleurs l'auteur correspondant de cet article. KY a participé à la correction du présent manuscrit.

REMERCIEMENTS

Les auteurs témoignent leur gratitude à TEDIHOU et ANOUMOU à tous les techniciens du Laboratoire de Sols-Eaux-Végétaux-Engrais de l'ITRA

REFERENCES

- Aamand J, Jacobsen O. 2001. Sorption and degradation of glyphosate and dichlobenil in fractured clay. *BCPC Symposium Proceedings*, **78**: 205-210.
- Agbohrrssi P, Imorou Toko I. 2021. Effets toxiques des herbicides à base du glyphosate sur les poissons et autres animaux aquatiques : Approche bibliographique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **15**(6): 2685-2700. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v15i6.33>
- Aikpo FH, Chabi CB, Ayi B, Koumolou L, Housou CS, Edorh PA. 2015. Evaluation de la contamination des eaux du fleuve Couffo dans la zone cotonnière de Djidja (Bénin) par les pesticides. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **9**(3): 1725-1732. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.50>
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), EPA (Environmental Protection Agency) 2020. Toxicological Profile for Glyphosate. Federal Register.
- Calvet R. 2005. *Les Pesticides dans le Sol : Conséquences Agronomiques et Environnementales*. Google Livres. Agricole. <https://books.google.tg/books>
- Dabre A, Hien E, Some D, Drevon. 2017. Effets d'amendements organiques et phosphatés sous zaï sur les propriétés chimiques et biologiques du sol et la qualité de la matière organique en zone soudano-sahélienne du Burkina Faso. *Int.*

- J. Biol. Chem. Sci.*, **11**(1): 473-487. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i1.38>
- Doty SL, Doshier MR, Singleton GL, Moore AL, Van Aken B, Stettler RF, Strand SE, Gordon MP. 2005. Identification of an endophytic Rhizobium in stems of Populus. *SYMBIOSIS*, 27-35.
- Genot V, Colinet G, Bock L, Brahy V, André H, Maes E 2010. La fertilité et la biodiversité dans les sols. *Les Sols et l'Environnement Terrestre*, **11**: 452-467. <http://environnement.wallonie.be>
- Gimsing AL, Borggaard O, Sestoft P. 2004. Modeling the kinetics of the competitive adsorption and desorption of glyphosate and phosphate on goethite and gibbsite and in soils. *Environmental Science & Technology*, **38**(6): 1718-1722.
- Girard M, Walter W, Rémy J, Berthelin J, Morel J. 2005. *Sols et Environnement*. Collection Sciences de la Terre; p. 816.
- Gurikar Chennappa, Adkar-Purushothama CR, Umdale Suraj, Tamilvendan K, Sreenivasa MY. 2014. Pesticide tolerant Azotobacter isolates from paddy growing areas of northern Karnataka, India. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **30**: 1-7. DOI: <https://doi.org/DOI 10.1007/s11274-013-1412-3>
- Hove-Jensen B, Zechel, DL, Jochimsen B. 2014. Utilization of glyphosate as phosphate source: Biochemistry and genetics of bacterial carbon-phosphorus lyase. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **78**: 176-197. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.00040-13>.
- INRS. 2019. Glyphosate: Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES Fiche toxicologique N° 273; p. 9. INRS. www.inrs.fr/fichetox
- Kanda M, Djaneye-Boundjou G, Wala K, Gnandi K, Batawil, K, Sanni A, Akpagana K. 2013. Application des pesticides en agriculture maraichère au Togo. *Vertigo*, **13**: 1-17. DOI: <https://doi.org/10.4000/vertigo.13456>
- Kasa P, Modugapalem H, Battini K. 2015. Isolation, screening, and molecular characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolates of Azotobacter and Trichoderma and their beneficial activities. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, **6**(2): 360-363. DOI: <https://doi.org/10.4103/0976-9668.160006>
- Kpan Kpan GK, Dembele A, Yao B, Tiho S. 2015. Dosage du glyphosate par HPLC après extraction et dérivation à l'Ortho-phthaldialdehyde (OPA). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **9**(3): 1384-1398. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.23>
- Mader P, Peng S, Fliessbach A. 2002. Effets des produits phytosanitaires sur les micro-organismes du sol. *VBB-Bulletin*, **6**: 6-7.
- Mawussi G, Kolani L, Devault DA, Alaté KA, Sanda K. 2014. Utilisation de pesticides chimiques dans les systèmes de production maraîchers en Afrique de l'Ouest et conséquences sur les sols et la ressource en eau : Le cas du Togo. 44e congrès du Groupe Français des Pesticides 26-29 mai 2014, *SCHOELCHER*. 46-53.
- Muliele TM, Manzenza CM, Ekuke LW, Diaka CP, Ndikubwayo DM, Kapalay OM, Mundeke AN. 2018. Utilisation et gestion des pesticides en cultures maraîchères : Cas de la zone de Nkolo dans la province du Kongo Central, République démocratique du Congo. *Journal of Applied Biosciences*, **119**(1): 11954. DOI: <https://doi.org/10.4314/jab.v119i1.11>
- Norme ISO 16072. 2002. Qualité du sol—Méthodes de laboratoire pour la détermination de la respiration microbienne du sol. *ISO 16072:2002(F)*. Première édition.
- Ouattara B, Savadogo PW, Traoré O, Koulibaly B, Sedogo M, Traoré AS 2010. Effet des pesticides sur l'activité microbienne d'un sol ferrugineux tropical du Burkina Faso. *Cameroon Journal of Experimental Biology*, **6**(1): 11-20. <http://www.ajol.info/browse-journals.php>
- Prabha CR, Mukherjee S, Raman R, Kulkarni S. 2012. The ends and means of

- artificially induced targeted protein degradation. *Appl Microbiol Biotechnol*, **14**: p 12; DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4471-8>
- Rajab AJA. 2007. Impact sur l'environnement d'un herbicide non sélectif, le glyphosate : Approche modélisée en conditions contrôlées et naturelles. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, Lorraine. p. 169.
- Salducci X. 2007. Qualité des matières organiques des sols : une nouvelle génération d'analyses de routine. 8èmes journées de la fertilisation raisonnée et de l'analyse de terre GEMAS-COMIFER « Fertilisation raisonnée et analyse de terre : quoi de neuf en 2007 » Blois 20-21 novembre 2007, 9.
- Samsel A, Seneff S. 2013. Glyphosate's suppression of cytochrome P450 enzymes and amino acid biosynthesis by the gut microbiome : Pathways to modern diseases. *Entropy*, **15**: 1416-1463. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/e15041416>
- Sierra J, Tournebize R. 2019. Fixation symbiotique d'azote par les légumineuses en association. Résultats obtenus en Guadeloupe. N° **9**; p. 12. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02373208>
- Tahirou S, Zerbo P, Ouattara S, Ado MN. 2022. Caractérisation des paramètres physico-chimiques du sol de la zone rizicole de Saga (Niamey) dans la vallée du fleuve Niger. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **16**(2): 842-854. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v16i2.26>
- Toé MA. 2003. Limites maximales des résidus de pesticides dans les produits agricoles d'exportation dans trois pays du CILSS- Etude du Burkina Faso : Rapports techniques.
- Traoré S, Millogo JR, Thiombiano L, Guinko S. 2007. Carbon and nitrogen enhancement in Cambisols and Vertisols by *Acacia* spp. In eastern Burkina Faso Relation to soil respiration and microbial biomass. *Applied Soil Ecology*, **35**: 660-669. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11676-013-0329-x>
- Wellbrock N, Ahrends, B, Bögelein R, Bolte A, Eickenscheidt N, Grüneberg E, König N, Schmitz A, Fleck S, Ziche D. 2019. Concept and Methodology of the National Forest Soil Inventory. *Ecological Studies*, **237**: p388. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-15734-0_1
- Yannick F-Y G, Armel M-TR. 2020. Pratiques d'utilisation des pesticides en agriculture maraîchère de bas-fonds dans la ville de Yaoundé. *Vertigo*: p12. DOI: <https://doi.org/10.4000/vertigo.37501>
- Yuan Y, Zhou Z, Zhan Y, Ke X, Yan Y, Lin M, Li P, Jiang S, Wang J, Lu W. 2022. A Highly Glyphosate-Resistant EPSPS Mutant from Laboratory Evolution. *Applied Sciences*, **12**(11): 11. DOI: <https://doi.org/10.3390/app12115723>
- Zhan H, Feng Y, Fan X, Chen S. 2018. Recent advances in glyphosate biodegradation. *Appl. Microbiol. Biotechnol. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **102**: 5033-5043. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9035-0>.
- Zhao C, Long J, Liao H, Zheng C, Li J, Liu L, Zhang M. 2019. Dynamics of soil microbial communities following vegetation succession in a karst mountain ecosystem, Southwest China. *Scientific Reports*, **9**(1): 2160. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36886-z>