



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم: الميكروبيولوجيا.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

Cinétique de biodégradation de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron) par des souches d'actinomycètes isolées d'un sol agricole contaminé par le même herbicide

Présenté et soutenu par : BENALILECHE Hadjer

Le : 22/06/2016

IKHLEF Faiza

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHABBI Rabah (Maître Assistante « A » - UFM Constantine).

Rapporteur : ZERMANE Férial (Maître Assistante « A » - UFM Constantine)

Examineurs : BENKAHOUL Malika (Maître de conférences « B » - UFM Constantine)

Année universitaire
2015 - 2016

Remerciement

Mon premier remerciement va a ALLAH Soubhanou Wa ta hala .

Ce travail a été réalisé, au Laboratoire de Microbiologique, Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des frères Mentouri-Constantine».

Je tenais à remercier vivement mon encadreur, Madame ZERMANE .F, pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa contribution général e à l'élaboration de ce travail, et d'avoir bien voulu accepter d'être mon encadreur de mémoire qui m'a honoré de sa confiance promoteur de ce mémoire et pour m'avoir confié ce travail de recherche ,ainsi que pour son aidé et ses précieux conseils lors de la rédaction de ce mémoire. Nous lui exprimons notre sincère reconnaissance.

Nous remercions M CHABIR Maitre-assistant « A » à l'université des Frères Mentouri Constantine, merci de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Nos remerciements s'adressent aussi à Mme BENKAHOUL.M Maitre de conférence à l'université des Frères Mentouri Constantine » pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous exprimons notre sincère gratitude, à tous les chercheurs du laboratoire de Microbiologique et de biochimie qui à un moment ou un autre nous ont conseillées et nous ont aidées

Merci a tout les ingénieurs des laboratoires pédagogiques de microbiologie et de biochimie, pour l'aide patience et générosité merci à vous Ainsi que tous ceux qui ont participé, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

A ma Mère,

"A la plus belle perle du monde... ma tendre mère.

Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

En témoignage, t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée."

A mon Père,

"A celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière... mon très cher père

L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te

Préserve et te procure santé et longue vie."

A mes frères : Abdel wahid et sa femme, Soufiane et sa femme et Idriss

A mes sœurs : Dalel et sara

A ma petite princesse : Douidi

A toute ma famille pour l'amour et le respect qu'ils m'ont toujours accordé

A mon binôme « Fayza » pour la sœur agréable qu'il était et qu'il restera pour moi

A tout mes chères amis Meryam, Radia, fayza, hanane, ouissem, Rayanne... je leur souhaitant tout le succès, tout le bonheur

Pour une sincérité si merveilleuse... jamais oubliable.

A tout personne... qui m'a aidé à franchir un horizon dans ma vie...

Dédicace

A ma Mère,

"A la plus belle perle du monde... ma tendre mère.

Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

En témoignage, t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée."

A mon grand frère Maamar

A celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière... mon très cher père

L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te

Préserve et te procure santé et longue vie."

A mes frères : Aïssa et Nouredine

A mes sœurs : Ilhem, Radia, Ahlem, Manel, Bouchra, Wissem

A ma petite princesse : Rawen, A mon prince : Nawfel

A mon mari : Saber

A toute ma famille pour l'amour et le respect qu'ils m'ont toujours accordé

A mon binôme « Hadjer » pour la sœur agréable qu'il était et qu'il restera pour moi

A tout mes chères amis fatiha, hala, amina, hanane, ouissem, salma, Kharwla, saraimen... je leur souhaitant tout le succès, tout le bonheur

Pour une sincérité si merveilleuse... jamais oubliable.

A tout personne... qui m'a aidé à franchir un horizon dans ma vie...

Table des matières

LES TITRES	PAGES
Introduction	1
<u>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES</u>	
I. <u>La Pollution :</u>	2
1-Définition	2
2-Pollution de sol	2
2-1- Définition	2
2-2-Les polluants chimiques	2
2-2-1/Les polluants inorganiques	2
2-2-2/ Les polluants organiques	3
II. <u>Les pesticides :</u>	
1-Définition	4
2-Avantages des pesticides	4
3-Effets toxiques des pesticides	5
3-1/Effet sur la santé humaine	5
3-1-1/ Cancérogénèse	6
3-1-2/ Effets sur la reproduction	6
3-1-3/ Effets sur le système immunitaire	6
3-1-4/ Effets neurologiques	6
3-2/ Impact environnementale : écotoxicologie	6
III. <u>Les herbicides :</u>	7
1 – Définition	7
2- Composition et formulation	7
3-Mode d'action des herbicides	8
3-1/ Herbicides a pénétration racinaire	8

Table des matières

3-2/ Herbicides à pénétration foliaires	9
3-3/ Herbicides de contact	9
3-4/ Herbicides systémiques	9
4-Impact des herbicides sur l'homme	9
5- Impact sur l'environnement	9
IV. <u>Les herbicides sulfonyles :</u>	10
1-Historique	10
2-Définition	10
3-Propriétés physico-chimiques des sulfonyles	11
4-Mode d'action	11
5-Persistance et dégradation des sulfonyles dans le sol	12
6-Toxicité des sulfonyles	12
V. <u>Le sulfosulfuron :</u>	12
1-Définition	12
2-Mode d'action	13
3-Propriétés physico-chimiques de sulfosulfuron	13
VI. <u>L'herbicide APYROS :</u>	13
1-Description du produit	14
2-Caractéristiques	14
3-Utilisation	14
VII. <u>La dépollution :</u>	14
1-Les procédés chimiques	14
1-1/ Oxydation chimique	14
1-2/Lavage de sol in-situ	16
2 -Les traitements thermiques	18

Table des matières

2-1/Désorption thermique	18
2-2/Incinération	19
3- Les traitements biologiques	19
3-1/Biodégradation et bio ventilation	20
3-1-1/Facteurs de biodégradabilité	21
3-2/Biopile	22
<u>VIII.la dégradation des pesticides dans le sol :</u>	23
1-la dégradation abiotique	23
1-1/l'hydrolyse	24
2-1/Réaction d'oxydation et de réduction	24
3-1/Réaction photochimiques	24
2-Dégradation biotique	25
2-1/le processus de dégradation biotique	25
2-2/Mécanisme microbiens de la dégradation biotique	25
2-3/Les enzymes impliqués dans la dégradation des pesticides	26
<u>IX.Les actinomycètes Agent de biodégradation dans la nature :</u>	29
1-Caractères généraux	29
2-Morphologie	29
3-Ecologie des actinomycètes dans le sol	29
4-Role des actinomycètes dans le sol	30
5-Dégradation des pesticides par les actinomycètes	30
➤ MATERIEL ET METHODE	31
1-purification des souches d'actinomycètes	31
2- milieux et réactifs	31
3-conservation des souches	31

Table des matières

4-préparation des inocula des souches isolées :	31
4-1préparation de l'inoculum générale	31
4-2préparation de l'inoculum lavé	31
5-Etude de la capacité des actinomycètes à croitre en présence de l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie	32
6-Etude, in vitro, de la cinétique de dégradation de l'herbicide Apyos par les souches actinomycètes actives	32
6-1 mesure de la densité bactérienne	32
6-2 chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	32
7-Dégradation de l'herbicide Apyros par l'extrait enzymatique des souches actinomycètes	33
7-1 Extraction des enzymes	33
7-2 Essai enzymatique	33
8-Identification présomptive des souches actives :	33
• Technique de culture sur lamelle	33
➤ RESULTAS ET DISCUSSION	34
1-Purification des souches d'actinomycètes	34
2-Etude de la capacité des actinomycètes à croitre en présence de l'herbicide Apyros comme seule source de Carbone et d'énergie	35
3-Etude, in vitro, de la cinétique de dégradation de l'herbicide Apyros par les souches actinomycètes actives	36
4-Dégradation de l'herbicide Apyros par l'extrait enzymatique des souches actinomycètes	45
5-Identification présomptive des souches actives	46
*CONCLUSION ET PRESPECTIVES	47
*REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	48
*ANNEXES.	

Liste des abréviations

Liste des abréviations :

A.L.S: L'acétolactate synthétase

ADN: L'acide désoxyribonucléique

CFC:Chlorofluocarbure

DDT:Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane

DL50:Dose Létale 50

DJA:Dose Journalière Admissible

EC :Les concentrés émulsionnables

Flow: flow able

GC%:Coefficient de Chargaff

HAPs: Hydrocarbone Aromatiques Polycycliques

HPLC: Chromatographie Liquide à Haute Performance

ISP : international streptomycesProject

Koc: Coefficient d'adsorption

LD : Dose létale

MA: Mycélium aérien

MS: Mycélium de substrat

SG: Les granulés solubles

SL:les concentrés solubles composés de produits solubles dans l'eau

SSCE:Seule Source de Carbone et d'Energie

Tpm : Toure par minute

Liste des figures

Liste des figures :

Figure 01 : Système de traitement par oxydation chimique in situ.....	15
Figures 02 : Technique de traitement par biopile.....	22
Figures 03 : Caractère culturaux des souches A6, A8 et X sur le milieu ISP2.....	35
Figure 04 : croissance des trois souches sur le MSM.....	36
Figure 05 : comparaison de l'absorbance des souches A6, A8, X en fonction du temps ...	38
Figure 06 : courbe d'étalonnage d'Apyros(sulfosulfuron).....	39
Figure 07 : chromatogramme de standard de l'Apyros (100mg/l), la molécule active de sulfosulfuron.....	39
Figure 08 : chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active sulfosulfuron après 2 jours	40
Figure 09 : chromatographie montrant la dégradation de la molécule active sulfosulfuron après 4 jours	40
Figure 10 : chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active sulfosulfuron après 6 jours	41
Figure 11 : chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active sulfosulfuron après 8 jours	41
Figure 12 : chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active sulfosulfuron après 24 jours	42
Figure13 : chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active sulfosulfuron après 26 jours	42
Figure14 : chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active sulfosulfuron après 28 jours	43
Figure15 : Diminution des aires en fonction de temps.....	43
Figure 16 : Cinétique de dégradation du Sulfosulfuron par la souche A6.....	44
Figure 17 : chromatogramme de sulfosulfuron par l'extrait enzymatique de la souche A6	45
Figures 18 : Aspect microscopique de la souche A6.....	46

Liste des tableaux

Liste des Tableaux :

Tableau 01 : les propriétés physico-chimiques du sulfosulfuron.....	13
Tableau 02 : Description d'Apyros.....	14
Tableau 03 : Caractéristique d'herbicide Apyros.....	14
Tableau 04 : usage et dose appliqué de l'herbicide Apyros.....	14
Tableau 05 : Principales étapes du traitement par lavage ex-situ.....	17
Tableau 06 :Biodégradation des polluants.....	21
Tableau 07 : Exemples d'enzymes spécifiques dans la dégradation des pesticides.....	28
Tableau08 : Capacité des souches purifiées de croitre sur l'herbicide Apyros comme scee.....	36
Tableau 09 : Absorbance des souches A6, A8, X en présence d'Apyros comme scee en fonction du temps.....	37
Tableau 10 : standard utilisé pour l'étalonnage de l'HPLC.....	39
Tableau 11 : Diminution des aires pic de sulfosulfuron en fonction du temps.....	43
Tableau 12 : Diminution des concentrations du sulfosulfuron en fonction du temps.....	44

Introduction

Introduction :

Avant l'utilisation des produits phytosanitaires, les systèmes de culture étaient conçus Pour assurer le meilleur compromis entre le risque phytosanitaire et le potentiel de production de la culture. Cependant, les pertes en rendement des productions agricoles dues aux Maladies, aux ravageurs et aux mauvaises herbes pouvaient atteindre des proportions Importantes (**Oerke et Dehne, 1997**).

Après la seconde guerre mondiale, les pesticides ont permis le développement de l'agriculture et ont contribué à l'augmentation des rendements et à la régulation de la production agricole. L'utilisation des produits phytosanitaires a également limité ou éradiqué un certain nombre de maladies parasitaires très meurtrières.

Cependant, aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé de l'homme et pour son environnement. Une très grande partie des pesticides répandus n'atteint pas sa cible. Une partie importante est dispersée dans l'atmosphère, soit lors de leur application, soit par évaporation ou par envol à partir des plantes ou des sols, sur lesquels ils ont été répondus. Disséminés par le vent et parfois loin de leur lieu d'épandage, ils retombent avec les pluies directement sur les plans d'eau et sur les sols d'où ils sont ensuite drainés jusqu' aux milieux aquatiques par les eaux de pluie, ce qui présentent une vrais menace pour tous l'environnement (**Fenskeet al ., 2002**).

Au cours des dernières années, les recherches sont orientées vers les techniques de dépollution des sols contaminés. Parmi les quelles, des techniques physico-chimiques qui sont très couteuses et nécessitent des moyens généralement lourds. Ces procédés restent impuissants devant certains composés toxiques et persistants, d'où la nécessité de rechercher de meilleures alternatives (**Entry et Emmingham, 1995 ; Voos et Groffman, 1997**). On assiste ces dernières années à l'émergence de technique biologiques qui sont beaucoup moins onéreuses et très efficaces. Ces techniques font appel aux microorganismes très variés, qui jouent un rôle très important dans la dégradation des pesticides, par des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse.

Parmi ces microorganismes, les actinomycètes sont des bactéries Gram positive qui jouent un rôle très important dans le sol, en raison de leur aptitude à dégrader des substances organiques non biodégradables par les champignons et les autres bactéries (**Crawford, 1993**).

Dans ce but, nous avons fixé comme objectif, la sélection de souches d'actinomycètes ayant des capacités de biodégradation d'un pesticide, qui appartient à la famille des herbicides les plus récents et les plus utilisé au monde qui est l'Apyros (sulfosulfuron).

Pour cela, nous avons suivis les étapes suivantes :

- Purification des souches actinomycètes, déjà isolées d'un sol contaminé par l'herbicide Apyros ;
- La sélection des souches ayant des capacités de pousser sur cet herbicide comme seule source de carbone et d'énergie ;
- L'étude de la cinétique de biodégradation de cet herbicide par les souches les plus performante par HPLC et l'extraction des enzymes impliquées dans cette dégradation ;
- Notre dernier objectif est l'identification présomptive des souches actives.

***SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE***

I. La pollution:

1- Définition :

«On peut définir la pollution, et les polluants, comme des résidus de l'activité des hommes qui directement ou indirectement, immédiatement ou à terme, gênent l'homme » (**RémyP ,1980 ; Brigitte D, 1998**), la définition de la pollution doit satisfaire deux condition :

« On observe un effet sur l'environnement qui peut être de nature physique (décharge de substance diverses), biologique (effet sur la mortalité d'espèces animales, sur la santé humaine), chimique (pluies acides et contamination du milieu),

On observe une réaction humaine qui traduit un dégoût, un désagrément, un souci, un découragement ou de l'anxiété, ce qui entraîne une perte de bien- être et se traduit donc par une désutilité»

2-Pollution de sol :

2-1- Définition :

«La pollution de sol est la présence dans ou sur les sols des substances ou d'organismes issus d'activités humaines qui de manière licite ou illicite influencent négativement ou peuvent influencer négativement la qualité de sol.» (**La région flamande, 1994**).

2-2-Les polluants chimiques :

Les dangers chimiques pour l'environnement et pour l'homme sont très nombreux. certaines substances ont en effet des propriétés intrinsèquement nuisibles pour ces cibles : caractère polluant, toxicité, nocivité, forte réactivité, caractère biocide, ...

Ces polluants chimiques peuvent se diviser en 2 groupes :

2-2-1/ Les polluants inorganiques (minéraux) :

Il s'agit d'un ensemble d'éléments ou de composés dont l'accumulation est responsable d'une pollution du sol (**Baize et Jabiol, 1996**).

Les polluants minéraux métalliques et non métalliques les plus rencontrés sont le cadmium, le chrome, le cuivre, le mercure, le nickel, le plomb, le sélénium, le zinc, l'arsenic, le molybdène, le cobalt, le bore et le thallium (**Mérian, 1991**).

- Les composés métalliques : les métaux sont les plus fréquemment rencontrés dans l'environnement, se retrouvent à l'état naturel dans l'environnement principalement sous forme d'éléments traces (concentrations dans les milieux aquatiques de l'ordre du ng ou µg/L).

Ils sont toxiques pour les organismes et l'homme à de relatives faibles concentrations. L'Arsenic, le Cadmium, le Mercure et le Plomb sont les métaux les plus nocifs.

- Les composés non-métalliques : les nitrates et les phosphates (responsables du phénomène d'eutrophisation), les cyanures, les fluorures, etc.

2-2-2/Les polluants organiques (carbonés):

Synthèse bibliographique

Composés du vivant qui contiennent les éléments Carbone et Hydrogène au minimum, et qui présentent une toxicité importante à l'égard des êtres vivants. Exemples : les pesticides (organochlorés : DDT), les polychlorobiphényles (PCB), les hydrocarbures (HAP), les dioxines et furannes, les chlorofluorocarbones (CFC), ...etc.

Les polluants organiques de sols proviennent principalement de trois ensembles d'activités : industrielles (produit d'énergie, métallurgie, industrie), urbains (transport, gestion et traitement des déchets) et agricole (utilisation des produits phytosanitaires). Mis à part les hydrocarbures et les pesticides, d'autres polluants organiques sont largement rencontrés dans le sol. Ils peuvent être regroupés dans les quatre familles suivantes :

- **Les polychlorobiphényles (PCB) :**

Dont la production industrielle débuta dans les années 30 pour leur utilisation dans encres d'imprimerie et dans les peintures. Ils ont été très utilisés comme isolants dans des transformateurs électriques fluides en raison de leur stabilité thermique élevée. On les trouve dans la plupart des boues de station d'épuration à des concentrations moyennes comprises entre 4 et 10 mg. (Alcock et Jons, 1993 ; Jauzinet *al.*, 1995 ; Beck *et al.*, 1995).

- **Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) :**

Sont formés par la fusion de plusieurs noyaux benzéniques. Ces composés peuvent être d'origine naturelle et sont présents dans des combustibles fossiles à des concentrations importantes. Ils se forment à des températures entre 500°C et 700°C, par exemples lors de cokéfaction du charbon et la pyrolyse ou la mauvaise combustion des combustibles fossiles ou de bois.

Les HAP constituent une pollution de fond de la plupart de boue de station d'épuration, dont la concentration moyenne se situe entre 15 et 50 mg. (Wild et Jons, 1992 ; Jauzinet *al.*, 1995 , Beck *et al.*, 1995).

- **Les polychlorodibenzo-dioxine (PCDD) et polychlorodibenzo-furanes (PCDF) :**

Produit par des phénomènes thermiques à partir des produits organiques chlorés. Des PCDD et PCDF sont aussi formés au cours du blanchissement de papier par chloration ou de la synthèse de composés organiques avec des impuretés à base de chlorophénols. D'autres sources d'émission sont les fonderies et l'installation sidérurgique.

- **Les composés organiques volatils (COV) :**

Qui sont des composés contenant du carbone et présentant une pression de vapeur supérieure à 0,13KPa. Ils sont présents dans des combustions et dans des fumées mais les principales sources de pollution sont liées à des activités industrielles (dégraissage de pièce métalliques dans la métallurgie, fabrication d'adhésifs, nettoyage de vêtements...etc).

- **Les pesticides :**

Synthèse bibliographique

Les pesticides sont destinés à protéger les plantes cultivées et les produits récoltés des attaques de champignons parasites, d'insectes, d'acariens, de rongeurs champêtres ou encore à détruire les adventices ou « mauvaises herbes ». Il faut également souligner l'existence des « biocides », pesticides réservés à des usages domestiques tels la destruction des rats, souris, blattes, mites ou encore la protection

- des bois contre les champignons ou les termites

II. Les pesticides :

1-Définition :

Le mot pesticide composé de deux parties : le suffixe «-cide» qui a pour origine le verbe latin «caedo, cadere» qui signifie «tuer». On lui a adjoint la racine anglaise «peste» qui signifie animal ou plante nuisible à la culture.

L'article 2 de la loi algérienne du journal officiel N° 87-17 du 1 Aout 1987 relative à la protection phytosanitaire désigne par pesticide :

«Tous substances ou mélange de substances destiné à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles, en vue de la protection ou de l'amélioration de la production végétale».

Le terme comprend les agents biologiques, les régulateurs de croissance, les correcteurs de carence, les défoliants, les agents de dessiccation, les agents d'éclaircissements ainsi que les substances appliquées sur les cultures avant ou après récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport.

Plusieurs autres termes et expressions définissent les pesticides. Ainsi, produits phytosanitaires, produits anti parasitaire à usage agricole, produits agropharmaceutiques sont les autres dénominations de ce terme.

2-Avantages des pesticides :

Sans entrer dans le débat qui anime depuis des années 30 les pesticides, il est important de rappeler à quel point ces produits ont amélioré notre quotidien et nos modes de production. Ainsi dans le domaine agricole, les pesticides ont permis d'apporter une réponse à un grand nombre de préjudices causés par les "ennemis" des cultures, qu'ils soient de nature:

- pondérale, correspondant à une perte en rendement,
- commerciale, lié à une altération de la présentation notamment pour les fruits et légumes,
- organoleptique, avec modification du goût des aliments,
- toxicologique, le plus souvent lié à la production par certains champignons parasites de substances dangereuses pour la santé humaine,
- indirecte, causé par les mauvaises herbes qui peuvent constitué des réservoirs à insectes ou à maladies susceptibles d'être à l'origine d'une invasion sur les cultures voisines, avec les engrais, l'irrigation, l'amélioration des semences et le développement du machinisme, les produits phytosanitaires sont donc l'une des méthodes que l'homme a trouvé pour :

Synthèse bibliographique

***Augmenter les rendements.** En trois décennies le rendement moyen du blé est passé de 15 à 66 q/ha, dont 30 q de mieux entre **1975 et 1985**.

***Limiter les irrégularités de production liées aux grandes catastrophes parasitaires.** L'exemple le plus cité est celui de la famine **Irlandaise de 1845-1849** qui a entraîné la mort de 12 % de la population et l'émigration d'un million et demi d'irlandais aux États-Unis. Cette famine était due à un champignon parasite de la pomme de terre.

***Protéger les réserves alimentaires.** On évalue à près d'un tiers la fraction des récoltes mondiales qui serait détruite chaque année par des espèces nuisibles.

***Nourrir ceux qui ont faim.** En permettant l'accès à une ressource alimentaire abondante. Malgré cela, 500 millions d'hommes souffrent encore de faim chronique.

***Lutter contre les vecteurs de maladies.** L'exemple le mieux connu est celui du DDT, l'Organisation mondiale de la santé (**O.M.S**) estimait en **1971** qu'il avait sauvé 25 millions de vies humaines depuis **1945**. On lui doit notamment d'avoir contrôlé la malaria, et la peste en Inde (transmise par la puce du rat).

***Lutter contre les parasites producteurs de toxines.** Les alcaloïdes produits par l'ergot des céréales ont fait des ravages pendant des siècles connus sous le nom de *mal des ardents*.

***Protéger certaines espèces.** Les ormes étaient des arbres du paysage *européen*, ils ont quasiment disparu entre **1975 et 1980**, à cause d'une maladie fongique transmise par un scolyte.

3- Effets toxiques des pesticides :

3-1/Effet sur la santé humaine:

La toxicité d'un pesticide est son potentiel à produire des effets nocifs sur la santé, à court ou à long terme. L'évaluation des effets toxiques des pesticides est complexe car de nombreux paramètres sont à considérer : la nature libre ou liée des résidus, etc...

Lorsqu'un pesticide atteint des zones non cible, ce qui peut arriver de pire est que des gens s'empoisonnent. On estime à un million par an, le nombre d'intoxications accidentelles par pesticides dans le monde et à 20 000 celui de cas mortels (**WHO-UNEP, 1989**). Si l'on ajoute les cas intentionnels (il s'agit surtout de suicides) on arrive à 3 millions d'empoisonnements, dont 220 000 morts (**Levine, 1991**).

Le plus souvent, le toxique est ingéré sous forme de résidus présents dans la nourriture ; mais l'absorption peut se faire dans l'eau de boisson, par l'air inhalé ou par contact de la peau avec le produit (**Spear, 1991**). Les agriculteurs et les ouvriers qui préparent les mélanges et réalisent les traitements risquent plus que le reste de la population d'être atteints par contact de la peau ou par inhalation (**Spear, 1991**). Aux États-Unis, 99% des gens stockent du DDT (ou des dérivés de cet organochloré) dans leurs tissus adipeux, et ce à raison de quelque 4 ppm. On a trouvé beaucoup de pesticides dans le lait humain, parfois en quantité supérieure à la DJA pour le nourrisson (**Jensen, 1983**).

3-1-1/ Cancérogénèse :

Plusieurs études expérimentales ou épidémiologiques laissent supposer un risque important d'atteinte par certaines formes de cancer à la suite de l'exposition chronique à certains pesticides couramment utilisés. Les types de cancer le plus souvent cités sont les cancers de cerveau, de poumons, de foie et d'estomac (**Capin E *et al.*, 2006**).

3-1-2/ Effets sur la reproduction :

Les pesticides peuvent affecter la reproduction humaine en exerçant une toxicité directe sur les organes de reproduction en interférant avec la fonction hormonale.

Plusieurs études animales indiquent que certains pesticides pourraient produire des effets sur la reproduction et / ou sur le développement. (**Samuel et Saint-Laurent, 2001**). Les effets des pesticides peuvent être perceptible a deux phase clés de la reproduction, la fertilité de l'individu exposé (souvent l'homme) et le développement embryonnaire et foetale, via l'exposition de la mère.

3-1-3/ Effets sur le système immunitaire :

L'exposition à ces produits augmente le risque d'atteinte par des maladies infectieuses en plus des effets comme la chute de production d'anticorps et des réactions d'hypersensibilité retardée. D'autre part, plusieurs pesticides communément utilisés pourraient supprimer la réponse normale du système immunitaire humain à l'invasion de virus, de bactérie, de parasites et de tumeurs (**Cuppen.Jetal., 2000**).

3-1-4/ Effets neurologiques :

Les effets neurologiques constituent l'une des manifestations les plus fréquents des intoxications aigus des pesticides. Les effets aigus surviennent à des doses importantes chez les hommes (agriculteurs), il s'agit de l'apparition d'un syndrome caractérisé par une paralysie des nerfs, une faiblesse musculaire proximale et respiratoire et, plus tard, des troubles neurocomportementaux (**Cuppen.Jet al., 2000**).

3-2/ Impact environnementale : écotoxicologie :

Même si la plupart des traitements sont appliqués sur les parties aériennes des plantes, une bonne part du produit atteint toujours le sol, où vivent des bactéries, des champignons, des algues, des vers de terre et des insectes, entre autres (**Russel, 1973**).

On doit faire particulièrement attention aux effets nocifs des pesticides sur la microflore du sol, laquelle est essentielle au maintien de la fertilité. De très nombreux travaux ont montré que les traitements faits correctement ont un effet limité sur le métabolisme microbien du sol, car les espèces les plus sensibles peuvent être remplacées par de plus résistantes (**Gerber *et al.*, 1989**). Un changement qui peut n'être pas dépourvu de conséquences néfastes à long terme, à cause des espèces phytopathogènes qui se trouvent parmi cette microflore (**Elmholtefa., 1991**).

Les vers de terre" sont des agents actifs de la fertilité des sols et forment un maillon important des réseaux trophiques édaphiques. Les pesticides les atteignent principalement via l'eau contaminée qui imbibe le sol. Une forte pluie juste après un traitement est dangereuse pour eux (**EPPO, 1993a**). On ne dispose pas de données sur la toxicité de la plupart des matières

Synthèse bibliographique

actives pour les vers de terre (**Lindersetal.,1994**) mais la situation devrait changer, car ce paramètre est désormais considéré comme essentiel pour l'évaluation des effets non intentionnels sur l'environnement d'un pesticide (**EPPO, 1993a**).

Les oiseaux sont certainement un des éléments les plus appréciés de la faune sauvage. Dès le début des années 50, on a rapporté des mortalités dans des champs traités au DDT ou avec d'autres produits (**Madhun et Freed, 1990**). Il s'agissait d'empoisonnements secondaires, les oiseaux ayant gobé des insectes handicapés par les effets de l'insecticide.

La pratique, à cette époque, du traitement des graines aux organo-chlorés a tué des quantités d'oiseaux granivores. Quand la dose ingérée est insuffisante pour causer la mort, il peut apparaître des effets sublétaux. Ainsi le DDT affecte les capacités de reproduction (**Le blanc, 1995**) et peut entraîner la ponte d'œufs à la coquille très mince : c'est là l'effet adverse des pesticides le plus important sur les oiseaux (**Hall, 1987**). Si l'on dispose des données relatives à la toxicité aiguë de la plupart des pesticides sur les oiseaux, elles manquent le plus souvent en ce qui concerne la toxicité chronique.

Les morts de mammifères imputables aux pesticides sont généralement la conséquence de l'ingestion d'une nourriture contaminée. Les prédateurs accumulent des quantités de résidus plus élevées que les herbivores. Des mortalités massives lors de grandes opérations de lutte menées avec des organo-chlorés sont notés (**Madhun et Freed, 1990**). D'autre part, l'exposition péri- ou néonatale de mammifères à des pesticides comme l'aldrine, l'atrazine, le chlordane et la dieldrine pouvait perturber de diverses façons leur différenciation sexuelle (**Le blanc, 1995**).

Les pesticides peuvent provoquer des dégâts importants dans la faune aquatique, les mortalités de poissons étant les plus spectaculaires. **Pimentel et coll, 1993** estiment qu'entre **1977 et 1987**, aux États-Unis, 6 à 14 millions de poissons sont morts, chaque année, à cause des pesticides. Les épreuves de toxicité aquatique portent sur les algues, les crustacés (daphnies) et les poissons, représentant 3 niveaux trophiques majeurs. On dispose de données sur la toxicité aquatique pour la plupart des matières actives (**Lindersetal.,1994**).

III. Les herbicides :

1 - Définition :

Les herbicides sont appelés parfois désherbants notamment en horticulture. Ce sont des matières actives ou des produits formolés ayant la propriété de tuer les végétaux (**Coulibaly, 2005**).

Sont des produits aux structures chimiques complexes. Chaque herbicides possède des caractéristiques propres selon sa composition, sa mode d'absorption, son effet sur la mauvaise herbe et son élimination progressive. Cependant, bien que chaque produits ait ses propriétés particulières, les herbicides d'une même famille présentent des structure chimique semblables et de nombreuses caractéristiques communes (**Edelahi, 2004**).

Ils permettent de supprimer ou de limiter le développement de plantes non désirées et des mauvaises herbes. Ils peuvent être sélectifs ou non sélectifs. Ils agissent sur les mauvaises herbes soit par contacte détruisant les parties de plante sur lesquelles ils sont déposés, soit par

pénétration et diffusion lorsqu'ils sont absorbés par les feuilles ou les racines et exercent leurs effets toxiques sur l'ensemble du végétal (Fdil, 2004).

2- Composition et formulation :

Un produit herbicide correspond au nom commercial du produit commercialisé par un Distributeur ou un fabricant. Ce produit commercial ou spécialité commerciale se compose de deux types de constituants : les matières actives qui lui confèrent son activité herbicide et les formulant qui complètent la formulation.

Les formulant 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 : stabilité, présentation et facilité d'emploi, son comportement physique lors de la pulvérisation : mouillage, adhésion, ..., et son activité biochimique : pouvoir surfactant et qualité phytoprotectrice (Cirad-ca gecAmatrop, 2000).

La formulation correspond à la forme physique sous laquelle le produit phytopharmaceutique est mis sur le marché. Obtenue par le mélange des matières actives et des formulations, elle se présente sous une multitude de formes solides ou liquides, la plus couramment répandue sont les suivantes :

-Pour les formulations solides : les granules solubles (SG), les poudres mouillables (WG)

-Pour les formulations liquides : les concentrés solubles (SL), composés de produits solubles dans l'eau ; les concentrés émulsionnables (EC), composés de produits ; les suspensions concentrées (SC), appelées parfois flow (de l'anglais flowable), composées de particules solides dispersées dans le produit.

La caractérisation d'un produit herbicide signifie la désignation de la matière active, le nom de produit commerciale, le fabricant et éventuellement de distributeur local, la teneur de la matière active dans le produit, le type de formulation, le mode d'emploi, la dose d'emploi et la culture cible (Cirad-ca gecAmatrop, 2000).

La teneur en matière active s'exprime en g/l pour les formulations liquides et en pourcentage(%) pour les formulations solides ; la dose d'emploi en produit commercial s'exprime en l/ha pour la formulation liquides et en kg/ha (ou parfois en g/ha) pour les formulations solides. La dose d'emploi en matière active s'exprime toujours en g/ha.(Coulibaly.H, 2005.)

3-Mode d'action des herbicides :

Les herbicides se distinguent par leur voie de pénétration et leur mode d'action dans les végétaux :

3-1/ Herbicides à pénétration racinaire :

Appliqués sur le sol, ils pénètrent par les organes souterrains des végétaux (racine, graines, plantules). Ce sont les traitements herbicides de prélevée, effectués avant la levée de la plante considérée (culture ou mauvaises herbe).(Fdil.F, 2004). Ils ont plusieurs actions :

- Action sur la photosynthèse : triazines, diazines-uraciles, triazinones, urées substituées.
- Action sur la division cellulaire : toluidines.

Synthèse bibliographique

- Action sur l'élongation cellulaire : alachlore, métazachlore, métolachlor, etc.
- Inhibition de la synthèse des caroténoïdes : isoxaflutole, clomazo

3-2/Herbicides à pénétration foliaires :

Appliqués sur le feuillage, ils pénètrent par les organes aériens des végétaux (feuilles, pétioles, tiges). Ce sont les traitements herbicides de post-levée, effectués après la levée du plant considéré (culture ou mauvaise herbe), plusieurs actions sont effectuées par ce type d'herbicides :

- Action sur la photosynthèse : bipyridyles, diazines.
- Action sur les membranes cellulaires : dinitrophénols, benzonitriles.
- Action sur la division cellulaire : carbamates.
- Action sur l'élongation cellulaire : aryloacides, dérivés picoliniques.
- Action sur la biosynthèse : acides aminés, lipides.

3-3/Herbicides de contact :

Herbicides qui agissent après pénétration plus ou moins profonde dans les tissus, sans aucune migration d'un organe à un autre de la plante traitée

3-4/Herbicides systémiques :

Herbicides capable d'agir après pénétration et migration d'un organe à un autre de la plante traitée

4-Impact des herbicides sur l'homme :

La contamination par les herbicides peut s'effectuer par inhalation, par ingestion ou par contact avec la peau, des études scientifiques ont montré que l'exposition à certains herbicides affaiblit le système immunitaire, hormonal et nerveux, elle peut aussi avoir des effets cancérigènes (notamment le cancer des poumons, du cerveau, de l'intestin et de la prostate) (**Fdil.F, 2004**).

Les herbicides possèdent un coefficient de partage octanol/eau égal à un (1), s'accumulent dans les tissus adipeux des poissons lorsqu'ils sont ingérés ; l'être humain est par la suite indirectement contaminé par la consommation de ces poissons, c'est le phénomène de bioamplification (**Olivier, 2007**). Une autre voie de contamination de l'être humain est possible par la consommation d'eau potable. En effet, les procédés de traitement de l'eau pour la consommation humaine n'éliminent pas totalement les herbicides dissous dans l'eau (**Bernier, 2002**). Dès lors, lorsque la prise d'eau se trouve à proximité d'un milieu contaminé, il est possible que la population desservie soit contaminée à leur tour.

5- Impact des herbicides sur l'environnement :

Environ 2,5 million de tonnes des pesticides sont appliqués chaque année sur les cultures de la planète. La part qui entre en contact avec les organismes cibles, ou qu'ils ingèrent, est minime. Elle est évaluée à 0,30% ce qui veut dire que 99,7% des substances déversées s'en vont «ailleurs» dans l'environnement, principalement dans les sols et les eaux (**Marc, 2004**).

Comparée à la toxicité humaine, la nocivité pour les espèces environnementales passe souvent au second plan dans les processus d'homologation qui donnent les normes

réglementaires pour chaque contaminant. Or, de l'utilisation accumulée de l'herbicide résulte une dégradation lente et progressive de la biodiversité des sols agricoles qui peuvent ainsi être assimilés plus à des systèmes artificialisés dévolus à une culture intensive qu'à des écosystèmes terrestres naturels. Ce processus de dégradation de la vie biologique en milieu terrestre est consécutif à l'intensification du système de production qui a longtemps été la règle en agriculture.

Ainsi les herbicides parviennent jusqu'au sol et touchent bactérie, champignons, algues, vers de terre et insecte. Ces dégradations cumulées ont un effet nocif sur la fertilité du sol. Les vers de terre, agents actifs de la fertilité, sont particulièrement atteints par les herbicides via l'eau polluée qui inhibe le sol.

Les morts de mammifère imputables aux herbicides sont généralement la conséquence de l'ingestion d'une nourriture contaminée. Des mortalités massives ont été recensées par ingestion directe de granulés ou d'insectes ayant ingéré des toxiques (**F. Pelletier, 1992**).

IV. Les herbicides sulfonylurées :

1-Historique :

Les propriétés herbicides des sulfonylurées ont été rapportées pour la première fois en 1966 par Koog avec le composé **I** dérivé de la propazine. L'activité de **I** était très similaire à celle de la molécule mère (**Hay, 1990**). Au début des années 70 Levitt nota que la sulfonylurée **II**, dérivée du 4-cyanoaniline avait une faible action sur la croissance des plantes.

Le premier herbicide sulfonylurée commercialisé fut le chlorsulfuron en 1981 (**Brown et Cotterman, 1994**). Depuis, les sulfonylurées sont quasiment dans tous les programmes de désherbage des cultures sur toute la planète (blé, colza, maïs, riz, pomme de terre...). Actuellement, la famille des sulfonylurées est composée d'une vingtaine d'herbicides développés principalement par Du Pont. Ces molécules sont caractérisées par une activité herbicide à des doses très réduites (10-100 fois moins que les herbicides conventionnels), ce qui a permis leur introduction rapide sur le marché des herbicides (**Brown et Cotterman, 1994**).

2-Définition :

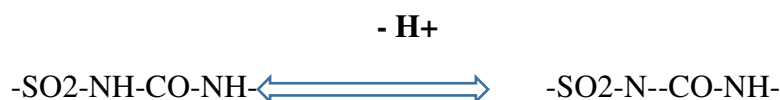
Les sulfonylurées sont des urées substituées qui sont utilisées en poste émergence et prélevée à de très faibles doses (5 à 35 g de matière active par hectare de blé contre 600 à 800 g de 2,4-D) (**Fournier, 1988**), les molécules de sulfonylurées sont caractérisées par une activité herbicide à doses très réduites (10 à 100 fois moins que les herbicides conventionnels) ce qui a permis leur introduction rapide sur le marché des herbicides (**Junghans et al., 2003**).

Avec des demi-vies dans le sol inférieures à deux mois, et des DL50 supérieures à 5000 mg/kg chez le rat, ces produits sont aussi très intéressants du point de vue de l'environnement.

Les sulfonylurées ont connu un très grand succès non seulement grâce à leur efficacité sur un très large spectre de mauvaises herbes (des dicotylédones aux vivaces sans oublier les graminées) mais surtout à leur dose d'utilisation qui ne dépasse pas 10 à 40g/ha (contrairement à ce qui était connu avant : 500 à 2000g/ha) et leur faible toxicité sur l'homme et les mammifères (**Berger et al., 1998; Brown, 1990; Hang et al., 2012; McCourt and Duggleby, 2006; Sarmah and Sabadie, 2002**).

3-Propriétés physico-chimiques des sulfonylurées :

Les sulfonylurées sont des composés non volatils et ne sont pas photodégradables (Sondhia *et al.*, 2013). Ils ont tous un proton acide adjacent au groupement sulfonyle et se comportent ainsi comme des acides faibles avec des valeurs de pka allant de 3 à 5 (Blair et Martin, 1988).



Elles présentent une solubilité dans l'eau variable en fonction du pH, du fait qu'elles sont des acides faibles, l'hydrogène échangeable est porté par l'azote proche de la fonction sulfonyle. En solution dans l'eau, elles peuvent exister sous deux formes, la forme neutre et la forme anionique résultant de la perte de cet ion hydrogène (Gauvrit, 1996).

Pour cette raison, leur solubilité dans l'eau à pH 7 est approximativement dix fois plus grande qu'à pH 5 (Beyer *et al.*, 1988).

4-Mode d'action :

Après absorption, l'herbicide migre dans les plantes sensibles, où il inhibe l'acétolactate Synthétase (A.L.S), enzyme responsable de la biosynthèse d'acides aminés essentiels. L'A.L.S est présente uniquement chez les végétaux, ce qui explique, la forte phytotoxicité du produit et sa faible toxicité pour le règne animal en général, et l'homme en particulier (Beyer *et al.*, 1988).

L'inhibition de l'enzyme A.L.S. entraîne, très rapidement après application, un blocage de la croissance des plantes sensibles et supprime donc toute compétition vis-à-vis de la culture. Des études ont montré que la transpiration et le métabolisme, chez les adventices, devenaient quasi nuls quelques heures après application de l'herbicide. On observe en effet, dans les jours qui suivent des symptômes de jaunissement (chlorose) ou de rougissement (anthocyanose); ces symptômes précèdent la disparition des adventices (Mc Court and Duggleby, 2006).

La sélectivité dans les cultures semble attribuable à un métabolisme différentiel entraînant une désactivation rapide chez les plantes tolérantes. Les temps de demi-vie sont de 1 à 5 heures chez les plantes qui tolèrent les sulfonylurées et de plus de 20 heures pour les mauvaises herbes vulnérables (Brown, 1990).

Les réactions de transformation qui expliquent la désactivation dans les plantes sont :
L'hydroxylation aliphatique et arylique suivie de l'hydrolyse de la fonction sulfonylurée, la Rupture de la liaison sulfonamide et la O-déméthylation (Brown, 1990).

5-Persistance et dégradation des sulfonilurées dans le sol :

La persistance des herbicides, comme celle de toute molécule active, peut être indiquée par leur temps de demi-vie (DT50). Cette valeur détermine le temps que met une substance pour perdre la moitié de son activité. Pour les sulfonilurées, la persistance dans le sol est strictement reliée aux variations de la température et du pH. Ces deux facteurs déterminent le type de dégradation qui peut avoir lieu (biotique ou abiotique) et par conséquent la durée de vie de la molécule active. Des écarts immenses ont été enregistrés selon la variation du pH et de la température dans les conditions de laboratoire. Ainsi, le temps de demi-vie du cinosulfuron à 30°C a varié de 3 à 43 jours pour des pH de 4 et 6 respectivement alors qu'il atteint une année dans un pH qui varie entre 7 et 9. L'augmentation de la température a des valeurs entre 40 et 45°C rend les temps de demi-vie beaucoup plus longs (Nègre *et al.*, 2005). De même, le chlorsulfuron possède un temps de demi-vie qui varie entre 17 et 25 jours à pH 5 alors qu'il passe à 70 jours dans des conditions de pH plus haut (Rouchaud *et al.*, 1999; Sharma *et al.*, 2012). La dégradation chimique des sulfonilurées est plus importante dans les sols acides que dans les sols à pH>7 (Beyer *et al.*, 1988; Brown, 1990). Ainsi, sous certaines conditions (sols alcalins, hors de la période de pluie), les sulfonilurées peuvent persister assez longtemps et par conséquent porter atteinte aux plantes non visées (Beyer *et al.*, 1988). Les conditions physicochimiques ne sont pas les seules à influencer la persistance des sulfonilurées, la dose d'utilisation y joue un rôle très important. L'étude de la persistance du sulfosulfuron a révélé qu'à des doses de 25-50g/ha, l'herbicide n'est plus détecté au niveau des couches superficielles du sol après 150 jours alors qu'il dépasse 200 jours a une dose de 100g/ha (Sondhia and Singhai, 2008).

Les sulfonilurées, quant à eux, semblent subir deux principaux types de dégradation dans le sol. Il s'agit de la dégradation microbienne (biodegradation) et de l'hydrolyse chimique (Beyer *et al.*, 1988). La distinction entre les deux processus est très difficile vu qu'ils interviennent de manière parallèle. Ainsi, un sous-produit de dégradation peut avoir comme origine un processus à la fois biotique et abiotique. Cependant, un grand nombre d'études récentes a montré que la voie principale de détoxification du sol des sulfonilurées est la dégradation microbienne (Sarmah and Sabadie, 2002).

6-Toxicité des sulfonilurées :

Les informations recueillies de la littérature et des manuels de pesticides indiquent que les herbicides sulfonilurées sont des substances à faible toxicité aiguë pour les mammifères et d'autres espèces animales. Citons par exemple, les travaux de Li *et al.*, 1999 qui n'ont observé aucune toxicité significative sur les *Daphnia magna* des trois sulfonilurées étudiées (bensulfuron méthyle, metsulfuron méthyle et le chlorsulfuron) même pour des solutions aqueuses saturées en herbicide. Cependant, certains herbicides sulfonilurée se dégradent dans le sol pendant un temps assez long, et peuvent menacer la suite plantes cultivées.

V. Le sulfosulfuron :

1-Définition :

Le sulfosulfuron découvert en 1995, appartient à la famille des herbicides du type sulfonilurées, largement utilisés dans le monde entier pour réprimer les latifoliées et les graminées adventices dans diverses cultures, notamment les céréales et le maïs.

Synthèse bibliographique

Le sulfosulfuron est un herbicide de la société Monsanto, commercialisé sous forme de plusieurs formulations commerciales tel que : Outrider, Attribut et l'Apyros (Khelifa et al., 2003)

2-Mode d'action :

Le mode d'action de cet herbicide systémique peut être décrit comme étant celui dans lequel le système racinaire et/ou la surface de la feuille d'abord absorbe la substance chimique ou il est ensuite diffusé dans toute la plante, le sulfosulfuron agit en arrêtant la division cellulaire, et par la suite la croissance des plantes.

Le sulfosulfuron contrôle efficacement les mauvaises herbes à feuille larges annuelles, les utilisateurs doivent être conscients que cela peut prendre plusieurs semaines pour tuer les mauvaises herbes cible après l'application.

3-Prospérité physico-chimique de sulfosulfuron :

Tableau 01 : les propriétés physico-chimiques du sulfosulfuron (California Department of pesticides régulation, 2008)

Propriétés physico-chimique	Valeurs
Etat physique	Grain solide
Couleur	Blanc cassé
Densité	1.55 g/ml
Odeur	Aucune
Ph	(1% solution) 4.46
Point d'ébullition	334°C
Point de fusion	181-184°C
Solubilité	Soluble dans : méthylène chlorique, acétone, Ethyl acétate
Coefficient de partition	Moins de 10 à pH 5,7 et 9
Pression du vapeur	$<1 \times 10^{-7}$ mm Hg à 25°C
Corrosion	Stable et non-corrosive pendant 14 jours

VI. L'herbicide APYROS :

Depuis vingt ans, les herbicides appartenant au groupe de sulfonilurées ont été recommandées pour contrôler les mauvaises herbes dans les céréales d'hiver (**Palm et Allison 1980; Adamczewskietal., 1988**). À la fin du siècle dernier, deux nouveaux sulfonilurea herbicides: sulfosulfuron (Apyros 75 WG) et propoxycarbazone-sodium (70 Attribut WG) ont été introduits dans le marché polonais.

Ces herbicides sont caractérisés par une grande efficacité dans la lutte contre les mauvaises herbes, y compris chiendent (*Agropyron repens*), ainsi que certaines mauvaises herbes à feuilles larges dans le blé d'hiver.

L'effet herbicide de l'herbicide Apyros 75 WG contre graminées, les dicotylédones et

Les mauvaises herbes ont été estimées dans de nombreuses expériences de terrain. Aussi de nombreuses enquêtes ont été menées sur le contrôle de diverses espèces de mauvaises herbes à l'aide du Attribut herbicide 70 WG (**Adamczewskietal., 2000**).

Synthèse bibliographique

1-Description du produit :

Tableau 02 : description d'Apyros

Composition :	Contient 75% de Sulfosulfuron
Emballage :	Flacon de 53 Gr
Firme :	MONSANTO

2-Caractéristiques :

Tableau 03 : Caractéristiques d'herbicide Apyros

Formulation :	Granulés dispersibles (WG)
Famille Chimique :	Sulfonylurées
Mode d'action :	Systémique, absorbé par les feuilles et les racines

3-Utilisation :

Tableau 04 : usage et dose appliqué de l'herbicide Apyros00 (web site)

Usages homologués :	Dose :
céréales: herbicides Anti-Brome lutte contre les autre adventices graminées Phalaris, folle avoine, chiendent, repousses d'orge, etc..., et certain dicotylédones (gaillet, matricaire, moutarde de champs, ravenelle, etc...)	26,5g/ha a partir de stade (2,3 feuilles de brome) jusqu'au stade (2 nœuds de blé).

Remarque :

- APYROS s'emploi obligatoirement en mélange avec un agent mouillant non ionique (Genamin T-200 BM) à la dose de 200 CC /hl de bouillie
- Pour garantir son efficacité, APYROS doit être appliqué sur sol humide, avec une humidité relative de l'air et en absence de vent.

VII. La dépollution :

1-Les procédés chimiques :

Dans le cadre de cet essai, deux technologies chimiques seront présentées, l'oxydation chimique et le lavage des sols in-situ.

1-1/Oxydation chimique :

La technique d'oxydation chimique est largement répandue dans les pays industrialisés. Cette technique consiste en une dégradation des contaminants en contact avec des réactifs oxydants injectés dans la zone de sols contaminés (in-situ) ou mélangés dans un conteneur

Synthèse bibliographique

adapté(ex-situ)(**Dueso et autres, 2009**). L'oxydation chimique in-situ consiste à injecter sous pression un produit oxydant (ozone, peroxyde, etc.) à l'intérieur de la matrice des sols contaminés, que la zone soit saturée ou non. Les polluants peuvent être totalement dégradés (minéralisation) ou partiellement (sous-produits plus biodégradables). Ce traitement chimique permet de générer des réactions dans la zone contaminée de façon à modifier les produits toxiques en produits qui ne nuisent pas à l'environnement (**Dueso et autres, 2009**). La figure 01 présente le fonctionnement du système de traitement par oxydation chimique *in-situ*.

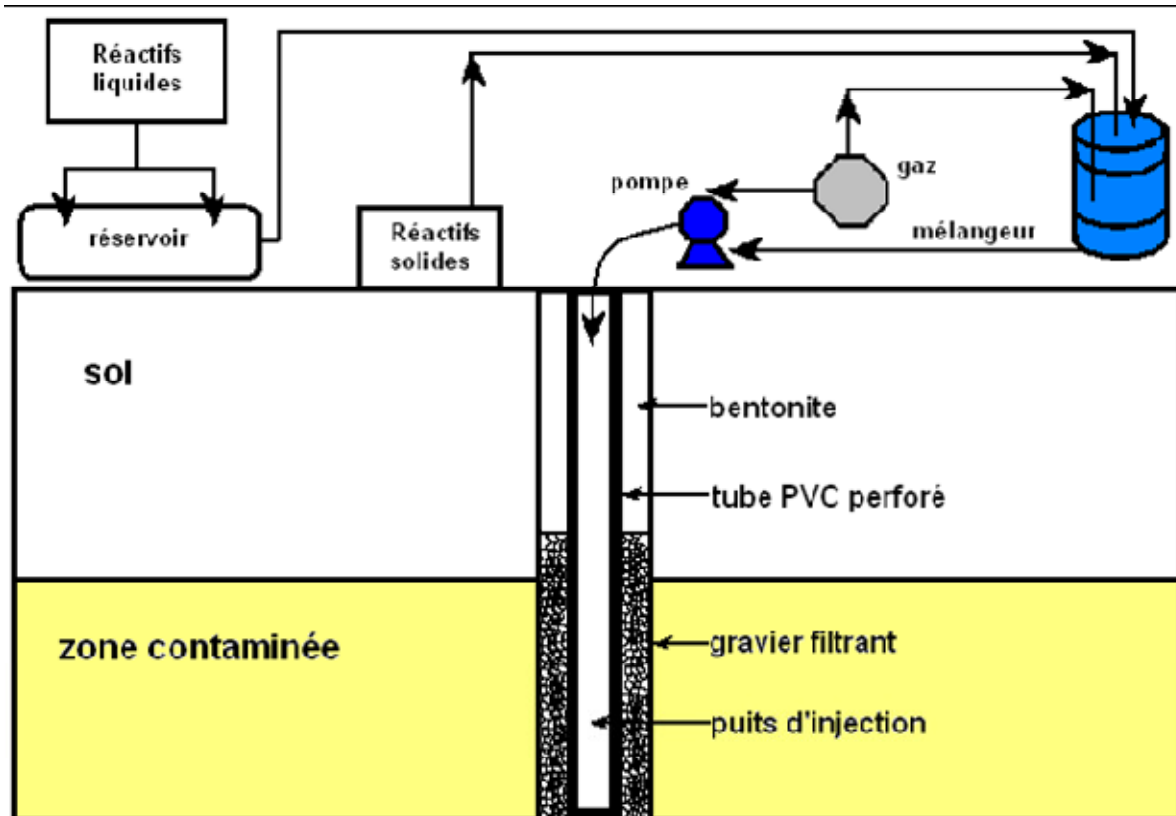


Figure 01 : Système de traitement par oxydation chimique in-situ(Tecosol Inc., 2012).

Les caractéristiques environnementales telles la géologie, l'hydrogéologie et la géochimie, ainsi que les caractéristiques de la contamination telles le panache et le type de polluant vont contribuer au choix d'oxydant à utiliser. « Les agents oxydants les plus courants sont le permanganate, l'ozone, le peroxyde d'hydrogène et le persulfate. » (**Dueso et autres, 2009**) ; Ces derniers se présentent habituellement sous forme liquide et gazeuse. Plus le contact entre les oxydants et les contaminants est étroit, plus les résultats seront positifs.

L'oxydation chimique de façon ex-situ est moins répandue. Il s'agit d'excaver les sols et de les insérer peu à peu dans un conteneur adapté. À l'intérieur du conteneur, les sols sont acheminés de l'entrée à la sortie par un système de spirale. Pendant ce temps (qui peut être réglé selon les concentrations de contaminants et l'imperméabilité des sols), les réactifs sont mélangés aux sols dans le but d'entrer en contact avec les contaminants. Un mouvement de rotation favorise ce contact. Les sols se présentant à la sortie sont par la suite échantillonnés

Synthèse bibliographique

afin de vérifier l'efficacité du traitement, puis remis en place dans l'enclave d'excavation. Cette solution est privilégiée principalement lorsque l'imperméabilité des sols ne permet pas le traitement in-situ.

Le procédé d'oxydation chimique permet de traiter pratiquement tous les contaminants organiques tels les Benzènes, Toluènes, Éthylbenzènes, Xylènes (BTEX), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les hydrocarbures pétroliers C10-C50, les solvants chlorés, les PBC, les phénols, etc. L'efficacité de ce traitement peut atteindre 95 %.

Si la réaction d'oxydation est complète (minéralisation totale), il n'y a aucun sous-produit. Si l'oxydation n'est pas totale, la réaction chimique effectuée dans le sol crée des sous-produits plus biodégradables que les polluants initiaux, soit principalement du bioxyde de carbone (CO₂), lequel est capté par le sol, ainsi que l'eau (H₂O). Ces sous-produits ne sont pas nuisibles pour l'environnement et n'entraînent donc aucune répercussion nocive. Il est rare que les sous-produits générés soient plus toxiques que les polluants initiaux, mais cela peut parfois arriver. Dans ce cas particulier, la création de chlorure de vinyle, par exemple, peut se former. Le succès d'une réhabilitation avec le procédé d'oxydation chimique repose sur la profondeur de la caractérisation, sur le choix du type d'oxydant, sur la compréhension des caractéristiques géologiques et hydrogéologiques du secteur, ainsi que sur la disposition stratégique des puits d'injection. Dans le meilleur des cas, le taux de réussite est très positif.

« L'oxydation chimique in-situ a émergé comme une technologie viable pour la remédiation de sites contaminés aux hydrocarbures. L'application prospère de ce traitement exige toutefois des connaissances poussées sur le processus d'oxydation ainsi que sur la stabilité et la réactivité des oxydants durant l'injection dans les sols. » (Siegristet *al.*, 2008).

1-2/Lavage des sols in-situ :

Le traitement des sols avec un solvant consiste, en d'autres mots, à laver les sols. Les contaminants adsorbés sur les sols s'accrochent aux solvants ou à l'eau, dépendamment du type de lavage, permettant aux sols d'être réutilisés sur le site. Cette méthode de traitement n'est pas couramment employée. Ce procédé ne s'applique pas de façon in-situ. Le lavage à l'eau nécessite préalablement un tri granulométrique, permettant de séparer les particules fines des particules grossières. Les particules fines sont ensuite acheminées vers une phase aqueuse (ou autre solution de traitement privilégiée). Lorsque les contaminants adsorbés aux sols en sont séparés, la solution aqueuse est ensuite traitée. Pour augmenter l'efficacité du traitement à l'eau, des agents chélatants et surfactants sont ajoutés à la solution liquide, de même que des acides et des bases, de l'eau chaude et de la vapeur. Le **tableau 05** présente les différentes étapes de ce procédé. L'ajout de réactifs chimiques (agents mobilisateurs et extractants) est effectué à contre-courant lors des étapes 3, 4, 5, 8 et 9.

Synthèse bibliographique

Tableau 05 : Principales étapes du traitement par lavage ex-situ (Colombano *et al.*, 2010)

Étapes	Détails
1- Précriblage ou calibrage	Grilles fixes et animées Permet de séparer les particules d'un diamètre supérieur à 100 mm
2- Séparation magnétique	Extraction des particules magnétiques
3- Unité de désagrégation ou décompacteur	De l'eau est additionnée (jets à haute pression, nettoyeurs, bassin à basse agitation, etc.) au sol afin de le désagréger et le fluidifier
4- Criblage	Cela permet de séparer des sols présentant des granulométries comprises entre 100 et 1 mm. La séparation des fractions du sol est réalisée en fonction de leur densité
5- Tamisage	Tamis vibrants ou des blutoirs rotatifs (tamis rotatifs hexagonaux), permet de séparer des sols présentant des granulométries comprises entre 1 et 0,04 mm. La séparation des fractions du sol est réalisée en fonction de leur taille
6-Hydrocyclonage	La force centrifuge entraîne les particules lourdes vers la sortie inférieure alors que les particules légères sont dirigées vers la sortie supérieure
7- Séparation en spirales	Les particules en suspension sont séparées dans des caniveaux en spirales, les forces centrifuges permettant de séparer les particules les plus lourdes
8- Unité de flottation	Cela permet de séparer les fractions en fonction de leur densité. Les fractions polluées fines sont récupérées par écrémage
9- Séparation gravitaire par sédimentation	L'eau chargée en particules est dirigée vers un séparateur gravitaire dans lequel passe un contre-courant permettant de garder les particules fines en suspension en vue de leur récupération et de laisser décanter les particules les plus lourdes
10- Filtration	Les filtres permettent de séparer les particules les plus fines
11- Déshydratation des particules fines	Les particules fines doivent être déshydratées à l'aide d'un centrifugeur ou d'un filtre presse

Synthèse bibliographique

12- Séparation des contaminants, des agents mobilisateurs et de la phase aqueuse

Une fois les contaminants transférés dans la solution de lavage, il est nécessaire de séparer les contaminants, les agents mobilisateurs et la phase aqueuse. Cette récupération peut être réalisée en différentes étapes : extraction par solvant, flottation, éveinage, fractionnement à la mousse et le traitement photochimique. Les agents mobilisateurs sont la plupart du temps récupérés (notamment par distillation) et réutilisés

2-Les traitements thermiques :

Parmi les traitements thermiques existants, on compte la vitrification, la pyrolyse et la thermolyse. Ces procédés ne sont toutefois pas encore assez développés pour que leur utilisation soit préférable à celle de la désorption thermique ou de l'incinération, qui seront les deux technologies décrites dans cette section. Les traitements thermiques utilisent la chaleur pour dégrader les contaminants présents dans les sols contaminés.

2-1/Désorption thermique

La désorption thermique, qui fait présentement concurrence à l'incinération, est de plus en plus utilisée. Bien développée aux États-Unis, cette technique consiste en la dégradation des molécules des contaminants par l'effet de l'augmentation de la température. La technique de désorption thermique est appliquée par l'injection de chaleur dans les sols (in-situ) ou dans un four (ex-situ) afin d'en extraire les contaminants volatils et semi-volatils (principe de volatilisation). Ce principe est applicable de façon ex-situ, une fois les sols contaminés excavés, et in-situ, directement dans la zone de sols contaminés (**Roudier, 2005**). Le principe de désorption thermique ex-situ consiste à mettre les sols contaminés dans une unité de désorption (four) qui atteint des températures comprises entre 150 et 540 °C. Ceci permet aux contaminants adsorbés aux particules du sol de s'en détacher et favorise la volatilisation des composés qui seront par la suite récupérés sous forme gazeuse. Le principe de désorption thermique in-situ, quant à lui, consiste à injecter de la vapeur dans la zone contaminée, à chauffer le sol par résistance électrique (courant électrique), à chauffer par micro-ondes ou encore avec un puits thermique (**Roudier, 2005**). Le traitement par désorption thermique in-situ est encore en développement, contrairement au traitement ex-situ qui est déjà commercialisé. Le taux d'humidité dans les sols, l'efficacité de transfert thermique du réacteur ainsi que le type de sol influenceront le degré de température atteint dans le four. Les sols argileux sont plus difficiles à chauffer que les sols sableux puisque leur taux d'humidité est élevé. De plus, la désorption thermique dans un sol argileux entraîne plus de gaz qui doivent être traités par la suite.

2-2/Incinération :

« L'incinération est utilisée pour de nombreux polluants organiques (volatils, semi-volatils, voire peu volatils) à des teneurs très concentrées (de l'ordre de plusieurs pour cent parfois), hydrocarbures pétroliers (essences, gazoles, kérosènes ...), fractions plus lourdes d'hydrocarbures, solvants chlorés, huiles, PCB, pesticides, dioxines/furanes, HAP, composés explosifs. Exception faite des composés radioactifs, l'intégralité des polluants peut être traitée par incinération. » (Colombano *et al.*, 2010).

La température élevée convertit les polluants en dioxyde de carbone et en vapeur d'eau, ainsi qu'en résidus variés de combustion. « La transformation des polluants en molécules inoffensives simples permet de classer cette méthode parmi les plus efficaces. » (Roudier, 2005). Quatre techniques sont connues à ce jour, soit les dispositifs à lit fluidisé, les dispositifs à circulation, la technique infrarouge ainsi que le four rotatif. La première étape consiste à excaver les sols, puis à les assécher. Après avoir été tamisés (seules les particules de taille centimétrique sont incinérées), les sols sont acheminés vers le système de chauffage. À 400 °C, les contaminants se volatilisent, et à plus de 1 000 °C, ils sont détruits complètement. Le sol peut ensuite être réutilisé sur le site. Les émanations gazeuses doivent être récupérées et brûlées à plus de 1 300° C.

Le temps de traitement varie en fonction des concentrations du polluant et des propriétés du sol. Dans les meilleures conditions, le traitement peut atteindre 99,99 % d'efficacité. Pour s'assurer de ne pas dégager une partie des contaminants dans l'atmosphère, il est important de chauffer à très haute température. Parfois, des polluants comme les métaux restent dans les cendres. Celles-ci doivent donc être acheminées dans un centre de déchets dangereux. Les émissions atmosphériques doivent également être traitées. La technique de traitement des sols par incinération a fait ses preuves, permettant de détruire complètement certains polluants, surtout les contaminants volatils et semi-volatils. De plus, certains métaux comme le zinc, le cadmium ou le plomb peuvent être détruits par la chaleur. L'efficacité du traitement concerne même les sols argileux et hétérogènes, ce qui est parfois plus difficile à traiter avec d'autres procédés. Grâce à des unités mobiles, le traitement peut être réalisé sur le site même. Il y a toutefois quelques désavantages à ce traitement. Tout d'abord, l'excavation des sols est requise, ce qui implique parfois du transport et de l'enfouissement. Ensuite, les unités peuvent être très dispendieuses, et leur taille considérable limite leur application sur le site. L'énergie demandée est également importante, de même que le niveau de technicité nécessaire.

3- Les traitements biologiques :

Le principe consiste à accélérer artificiellement la décomposition des polluants par les bactéries naturellement présentes dans les sols.

La dégradation biologique est la conséquence de la présence de certains microorganismes (bactérie et champignons essentiellement) dans le sol (Migrain *et al.*, 1993).

Dans le cadre de cet essai, deux technologies de traitement biologique seront développées, soit la bioventilation/biodégradation et le biopile.

3-1/ Biodégradation et bioventilation :

Alors que le principe de la biodégradabilité des hydrocarbures était appliqué au Québec à la fin des années 1970 pour la décontamination des boues huileuses (technique de landfarming), un resserrement des directives gouvernementales a mené à l'apparition des techniques par bioventilation et volatilisation dans les années 1990. Aujourd'hui, plusieurs centres régionaux et firmes environnementales offrent le traitement des hydrocarbures légers par bioventilation (sols en pile) et par bioventilation et volatilisation (sols non excavés (in-situ))(Mddefp, 1999).

Le principe de biodégradation s'explique par la dégradation des composés à base de carbone par des microorganismes. Il est donc question, en d'autres mots, de cultiver des microorganismes sur les sols contaminés. Le processus de dégradation des contaminants peut s'effectuer en présence ou en l'absence d'oxygène (aérobie, anaérobie). Cette technologie est applicable sur une pile de sols excavés ou de façon in-situ. Le principe de volatilisation, quant à lui, consiste en l'injection d'air dans les sols afin de permettre au contaminant de s'y accrocher. L'utilisation simultanée ou séquentielle des principes de biodégradation et de volatilisation mène à la bioventilation.

« La bioventilation implique un système de ventilation permettant de transporter l'oxygène dans le sous-sol, où les organismes sont stimulés afin de métaboliser les composants de carburant. »(Dupont, 1993).

Le phénomène de bioventilation nécessite parfois d'injecter des nutriments dans les sols, d'ajuster le taux d'humidité, d'ajouter des composés libérateurs d'oxygène, ou encore d'ajuster les réactions chimiques par l'ajout d'électrons. Comme mentionné précédemment, il existe deux types de biodégradation, soit aérobie et anaérobie. La biodégradation aérobie est plus efficace et moins complexe à maîtriser que la biodégradation anaérobie, donc elle est plus couramment utilisée. Toutefois, il arrive que des composés organiques non dégradables par voie aérobie le soient par voie anaérobie. Cette dernière alternative peut alors être considérée. Les contaminants ciblés par les traitements biologiques sont les composés carbonés, soient principalement les hydrocarbures. En effet, les techniques de traitement biologiques (bioventilation et biodégradation) sont de plus en plus utilisées pour le traitement des sols affectés par des hydrocarbures (Mddefp, 1999). Ceci s'explique par le fait que les propriétés chimiques des hydrocarbures (composés exclusivement d'atomes de carbone et d'hydrogène) leur permettent de s'accrocher aux molécules de l'air (volatilisation) et de se dégrader au contact de micro-organismes (biodégradation).

«La bioventilation, une variation à la ventilation, a été largement utilisée comme méthode in-situ de réhabilitation des sols dans les dernières années. Cette technologie est applicable aux sols contaminés par des solvants, de l'essence et d'autres composés volatils.» (Schweizer, 1996).

La biodégradabilité des principaux polluants organiques est présentée au tableau ci-dessous

Synthèse bibliographique

Tableau 06 : Biodégradabilité des polluants (Colombano et autres, 2010).

Type de contaminants	Degré de biodégradabilité
Hydrocarbures pétroliers C6-C15	Très facile
Alcools, phénols, amines	Très facile
Acides, esters, amides	Très facile
Hydrocarbures pétroliers C12-C20	Modérément facile
Ethers, hydrocarbures monochlorés	Modérément facile
Hydrocarbures pétroliers (<C20)	Modérément difficile
Hydrocarbures polychlorés	Modérément difficile
HAP, PCB, pesticides	Très difficile

L'utilisation d'une technologie biologique nécessite une durée de temps très flexible puisque la mise en place de cultures biologiques dans un environnement donné peut parfois être complexe. Les microorganismes doivent bénéficier des meilleures conditions pour survivre et ainsi permettre le bon déroulement de la biodégradation. Si le temps presse et que le client veut se débarrasser rapidement de sa problématique, l'utilisation de la biodégradation ou bioventilation n'est peut-être pas la meilleure option.

Si le traitement est effectué de manière aérobie, les produits dérivés seront le bioxyde de carbone, l'eau, les composés inorganiques ainsi que les protéines cellulaires. En milieu anaérobie, la dégradation des contaminants hydrocarbures mène à la création d'acides organiques, de méthane et d'hydrogène gazeux (Mddefp, 1999). Certains de ces produits peuvent entraîner des conséquences négatives sur l'environnement. Par exemple, le méthane, qui fait partie de la famille des gaz à effet de serre, peut avoir des effets nocifs sur l'environnement et la biodiversité et même constituer un danger pour la santé humaine (Environnement Canada, 2010). La biodégradation présente plusieurs avantages. Tout d'abord, cette technologie est très destructrice. Si elle est mise en œuvre correctement, la technologie est compétitive au niveau des coûts et présente un bon impact médiatique (Colombano et al, 2010).

« Si les conditions des sols sont appropriées, la bioventilation peut s'avérer être une technologie très abordable. Toutefois, cette technologie n'a pas démontré d'efficacité lorsque les sols sont hétérogènes ou ont une perméabilité faible » (Schweizer, 1996).

3-1-1/Facteurs de biodégradabilité :

- présence de microorganismes compétents;
- La disponibilité d'accepteurs d'électrons nécessaires à l'action microbienne;
- La teneur en eau;
- Le potentiel hydrogène (pH);
- La température;

Synthèse bibliographique

- La disponibilité de nutriments minéraux (azote (N), phosphore (P), potassium (K), ...);
- La nature, la concentration et la bioaccessibilité des polluants.

3-2/Biopile :

La technique de traitement des sols par biopile (ou biotertre) «consiste à amonceler les sols excavés, à les humidifier, à les amender et à les aérer afin d'accélérer la biodégradation des contaminants. » (Office québécois de la langue française, 2013). Cette technologie est éprouvée et largement utilisée en Amérique du Nord et en Europe. Elle consiste tout d'abord à mélanger des sols excavés avec un amendement (agent structurant) tel des copeaux de bois. Les contaminants dans les sols sont ensuite biodégradés grâce à la mise en place de conditions idéales (température, taux d'humidité, nutriments, oxygène, pH...) (Colombano et al, 2010). Les sols contaminés excavés sont traités dans une installation spécifiquement conçue pour le traitement. L'installation peut se situer sur le terrain même ou dans un centre spécialisé. Les sols excavés sont la plupart du temps recouverts d'une membrane imperméable (géomembrane). Ceci permet de limiter les infiltrations d'eau de pluie, de retenir les gaz des polluants volatils ainsi que de maintenir la température au bon niveau. Pour permettre d'augmenter l'efficacité du traitement, il est possible d'ajouter des éléments nutritifs sous forme solide ou liquide. De l'oxygène est également nécessaire pour une dégradation en mode aérobie. Les lixiviats ainsi que les rejets atmosphériques créés par la dégradation des polluants sont récupérés et traités avant d'être rejetés dans l'environnement. Tel que présenté sur la **figure 02**, plusieurs équipements sont requis pour effectuer ce traitement.

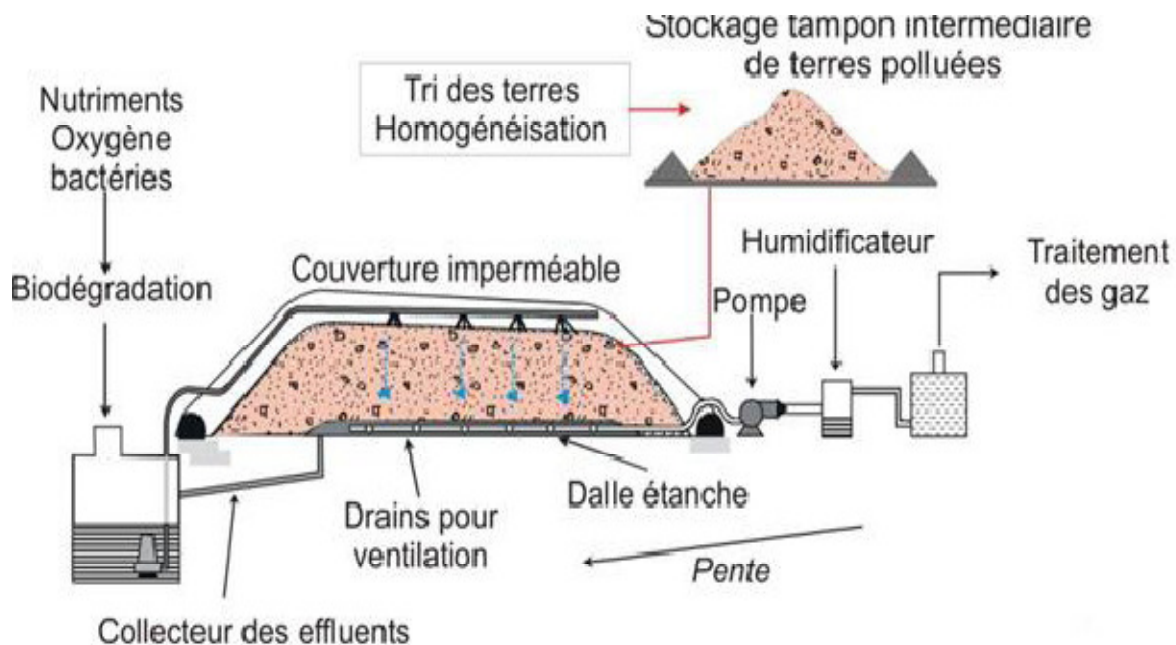


Figure 02 : Technique de traitement par biopile (Colombano et al, 2010)

Les polluants pouvant être traités par cette méthode de traitement sont principalement les hydrocarbures volatils et semi-volatils biodégradables.

Synthèse bibliographique

« Le biotertre s'applique à des sols pollués par les produits pétroliers de type gazoles, mazouts, kérosène. Les composés organiques halogènes volatils (COHV), pesticides, certaines coupes pétrolières lourdes (hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), huiles organiques ...) peuvent aussi, dans certaines conditions, être traités, mais avec des rendements épuratoires plus faibles. » (Colombano et al, 2010).

Ce type de traitement entraîne parfois des émissions atmosphériques dans le cas, par exemple, du traitement de composés organiques volatils (COV). Ces émissions doivent être récupérées, de même que traitées avant d'être rejetées dans l'environnement. Il en est de même pour les lixiviats, lesquels doivent être récupérés, puis traités. Ces deux sources de contamination doivent être gérées correctement pour ne pas seulement être déplacées dans l'espace (passer de contamination dans les sols à contamination dans l'air ou dans l'eau). Le traitement par biopile nécessite un temps de traitement assez élevé. Toutefois, si les conditions idéales sont atteintes et que le facteur temps n'est pas une limitation, l'efficacité peut atteindre 90 %. Cette technique de traitement destructive a su démontrer au cours des années une fiabilité et des résultats significatifs. Contrairement aux traitements biologiques *in-situ*, ce procédé permet un meilleur contrôle des conditions auxquelles les sols sont exposés, entraînant un rendement supérieur. Le fait de pouvoir manipuler les sols (*ex-situ*) permet d'assurer de meilleures conditions pour les cultures biologiques.

VIII .La dégradation des pesticides dans le sol :

La dégradation des pesticides est un des processus clés de leur devenir dans le sol et les sédiments et joue un rôle majeur dans leur dissipation et leur élimination des milieux naturels. Elle est due à de nombreuses transformations chimiques qui modifient la composition et la structure des molécules apportées au sol. Ces modifications peuvent être limitées à l'élimination d'un groupe fonctionnel, conduire à divers produits de transformation et aller jusqu'à la complète dégradation avec la production de molécule minérale (minéralisation).(Clavet et al., 2003). Toute une série de molécules intermédiaires entre la molécule initiale et les molécules minérales finales peuvent ainsi être produites.

Les transformations chimiques responsables de la dégradation sont de nature abiotique et biotique.

1-La dégradation abiotique :

Les transformations abiotiques sont dues à des réactions chimiques qui ne sont pas catalysées par des systèmes enzymatiques. Elles comprennent des réactions d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de conjugaison et des photoréactions. Il est difficile de les distinguer des transformations biotiques. Elles conduisent fréquemment aux mêmes produits de dégradation et leur étude en conditions stériles n'apporte pas toujours de réponses non ambiguës en raison des modifications résultant des opérations de stérilisation et de l'éventuelle présence d'exoenzymes qui ne sont pas détruites.

Ils existent plusieurs types de transformation chimiques :

- Les transformations chimiques dues à la présence en solution d'espèce chimiques particulière :
 - L'eau ou ses produits de dissociation (H^+ et OH^-) à l'origine des réactions d'hydrolyse,

Synthèse bibliographique

- Des composés oxydants ou réducteurs à l'origine des réactions d'oxydoréduction,
- Des composés organiques à l'origine de réaction de combinaison.
- Les transformations chimiques résultant d'interactions avec des surfaces adsorbants, ce sont les transformations chimiques en phase adsorbée.
- Les transformations chimiques résultant de la lumière, ce sont les réactions photochimiques(Clavet *et al.*, 2005).

1-1/L'hydrolyse :

La cinétique des réactions abiotiques d'hydrolyse est en général différente de celle des réactions biotiques et ne présente pas de temps de latence. Il est cependant souvent difficile de distinguer expérimentalement les deux types d'hydrolyse. Plusieurs facteurs ont malgré tout une grande influence sur la vitesse de cette transformation ; ce sont : la composition ionique du milieu en particulier le pH et les cations métalliques en solution, les adsorbants et la température.

1-2/Réaction d'oxydation et de réduction :

Les réactions d'oxydoréduction des pesticides dans les eaux, les sédiments et les sols ne sont pas encore très bien décrites, surtout d'un point de vue quantitatif, mais il existe suffisamment d'informations pour considérer qu'elles jouent un rôle important dans le devenir de certains composés, comme les pesticides halogénés, par exemple (Wolfe et Macalady, 1992).les pesticides possédant plusieurs groupes d'atomes susceptibles d'être oxydés. Les réactions d'oxydation abiotique sont dues à des réactions avec l'oxygène moléculaire ou avec des espèces actives d'oxygène comme l'ozone et des radicaux peroxydes provenant de transformations photochimiques et microbiologiques. Les réactions d'oxydation ont surtout été étudiées dans l'air et les eaux mais celles qui ont lieu dans la phase liquide de sol sont mal connues (Scheunert, 1992).

1-3/Réactions photochimiques :

Les molécules des pesticides possèdent des propriétés spectroscopiques caractéristiques de leur composition et de leur structure. Exposées à des rayonnements ultraviolets ou visibles, elles sont capables d'absorber une partie de l'énergie lumineuse (absorption des photons) qu'elles reçoivent grâce à la présence de groupes chimiques particuliers, appelés chromophores. Cette absorption entraîne une modification de la structure électronique des molécules qui passent de l'état fondamental (état initial) à un état qualifié d'état excité.

Dans les milieux naturels, les réactions photochimiques peuvent avoir lieu en tout endroit exposé à la lumière solaire: dans l'air, dans les eaux de surface, sur les couverts des végétaux et à la surface du sol. Elles concernent des pesticides gazeux, des pesticides dissous ou des pesticides adsorbés. Concernant les sols, les pesticides dissous qui peuvent subir une dégradation photochimique sont nécessairement localisés dans une phase liquide exposés à la lumière solaire. Il ne peut donc s'agir que de ceux qui se trouvent dans l'eau stagnante ou ruisselante à la surface de sol. C'est une situation qui se rencontre surtout quand des pluies surviennent après des traitements phytosanitaires.

2-Dégradation biotique :

2-1/Le processus de dégradation biotique :

La dégradation biotique est due à l'action de divers organismes vivants et elle résulte de transformations chimiques dues à des systèmes enzymatiques. Elle a lieu dans les milieux naturels comme les sols, les sédiments et les eaux, mais elle peut aussi se produire dans les organismes végétaux et animaux. Quand la dégradation a lieu dans les organismes vivants, on parle plutôt de processus de détoxification mais les réactions chimiques mises en jeu sont généralement de même nature. Des points de vue agronomique et environnemental, la dégradation biotique dans les sols, les sédiments et les eaux est un processus particulièrement important puisque les quantités de substances présentes dans les milieux et susceptibles d'être absorbées, donc d'avoir une action biologiques, en dépendent partiellement ou totalement. La microflore de ces milieux est à l'origine de la dégradation biotique ; dans les sols, les champignons, les algues, les protozoaires et les bactéries y sont impliqués. Toutefois les micro-organismes dégradent les pesticides sont en majorité des bactéries et des champignons. Ce sont eux qui le plus souvent sont isolés et caractérisés lors des études sur la dégradation. Leur grande diversité et la multiplicité des conditions de leur développement font qu'ils sont de puissants agents de dégradation des pesticides. La composition de la microflore est très variable selon la nature des sols, leur pH, les teneurs en carbone organique et en minéraux argileux. La taille de la biomasse microbienne est elle aussi variables en fonction des mêmes facteurs. Elle est en moyenne de 200 mg C. Kg⁻¹ dans les sols sableux pauvres en matière organique et peut atteindre de l'ordre de 900 mg C. Kg⁻¹ dans les sols riches (teneurs en C supérieures à 4%) (**Chaussodetal., 1986**).

La microflore impliquée dans la dégradation des pesticides est qualifiée de dégradante pour la distinguer de l'ensemble des micro-organismes du sol ; elle n'est généralement pas limitée à une seule souche. Son activité dans le processus de dégradation dépend, à la fois, de son patrimoine enzymatique qui détermine la nature des réactions chimiques et de son environnement qui exerce une influence sur son développement et sur sa survie. Cet environnement présente trois volets, physique, chimique et biologique. L'aspect fondamental de la dégradation due aux micro-organismes est la catalyse des réactions chimiques par des enzymes ; cela nécessite que les pesticides soient à l'état dissous dans la phase liquide du sol. On peut distinguer deux situations :

- les réactions chimiques catalysées par des enzymes intracellulaires ; les pesticides doivent d'abord être absorbés pour être transformés.
- les réactions chimiques catalysées par des enzymes extracellulaires ; l'absorption des pesticides n'est pas nécessaire.

2-2/Mécanismes microbiens de la dégradation biotique :

Les micro-organismes peuvent être impliqués dans la dégradation des pesticides selon cinq mécanismes d'action (**Bollag et Liu, 1990**) :

- le métabolisme direct : qui fait des pesticides une source d'énergie utilisée pour la croissance des micro-organismes,

Synthèse bibliographique

-le Co métabolisme: il s'agit de transformations chimiques des pesticides mais ils ne sont pas une source d'énergie pour les micro-organismes,

-la conjugaison : ce sont des réactions chimiques, catalysées par des enzymes exocellulaires, entre les pesticides et d'autres pesticides ou d'autres molécules présentes dans la solution du sol,

-l'accumulation : les pesticides ou leurs métabolites sont stockés dans les corps microbiens ; il s'agit là, probablement d'une des causes de la stabilisation,

- les effets secondaires dus à l'activité des micro-organismes qui peut entraîner des modifications de l'environnement chimique (consommation d'oxygène, production de composés organiques) et de l'environnement physicochimique (pH) qui facilitent ou limitent les transformations chimiques des pesticides. Ils sont un des facteurs intervenant dans la dégradation.

Les trois premiers mécanismes conduisent à des modifications de la composition et de la structure chimique des pesticides et peuvent être véritablement considérés comme étant directement à l'origine de la dégradation. Les deux derniers doivent plutôt être vus comme des processus, certes liés aux micro-organismes, mais probablement pas impliqués directement dans la dégradation des pesticides. Une caractéristique fondamentale, au moins pour les trois premiers, est l'intervention de systèmes enzymatiques.

2-3- Les enzymes impliqués dans la dégradation des pesticides :

La biodégradation d'un pesticide dans le sol suppose que les microorganismes présents soient capables de mobiliser des fonctions catalytiques appropriées. La spécificité enzymatique, parfois étroite, est rarement absolue (**Soulas, 1990**). Ainsi, la biodégradation d'un grand nombre de composés chimiques de synthèse est très souvent accomplie par des voies métaboliques préexistantes qui permettent aux microorganismes d'utiliser des substrats naturels. Cette prédisposition enzymatique reposerait sur la similitude de certains composés naturels d'origine végétale avec certaines molécules phytosanitaires, appelées molécules analogues (**Alexander, 1994**). L'attaque du xénobiotique a donc un caractère fortuit (**Knackmus, 1981 ; Slater, 1984**) et peut opérer jusqu'à un stade avancé qui peut aller jusqu'à la minéralisation complète (**Schmidt *et al.*, 1987**). En outre, certains auteurs (**Parales *et al.*, 2002 ; Pandey et Jain, 2002**) précisent que l'induction enzymatique s'accompagnerait d'une aptitude chimiotactique des microorganismes. Pour autant, cette analogie structurale n'est pas la seule explication possible du phénomène de biodégradation et le cas des acides phénoxyacétiques en constitue un contre-exemple (**Soulas, 1990**). De plus, parler véritablement d'adaptation microbienne vis-à-vis d'un xénobiotique donné présuppose la mise en place d'évènements génétiques affectant des régulations ou des activités enzymatiques (**Soulas, 1990**). Ainsi, certains auteurs ont mis en évidence que l'expression des gènes codant pour la catalyse de ces molécules est étroitement liée à la concentration du pesticide (**Alexander, 1985 ; Fomsgaard et Kristenssen, 1999 ; de Liphay *et al.*, 2007**). Dans le cas de sols n'ayant jamais été exposés à un xénobiotique ou dans des horizons profonds (**Fomsgaard et Kristenssen, 1999**), il est nécessaire d'avoir une certaine concentration afin que le xénobiotique soit accepté en tant que substrat pour microflore.

Il existe également des systèmes enzymatiques spécialisés traduisant l'existence d'adaptations génétiques organisées en structures simples ou polycistroniques (opérons) et codant pour des enzymes spécifiques au sein d'une voie de biodégradation responsable d'un métabolisme direct (**Dick et Quinn, 1995 ; Mandelbaum *et al.*, 1995 ; Sorensen *et al.*, 2001**).

Synthèse bibliographique

La sélection de telles adaptations est guidée par le résultat du bilan entre le coût de la synthèse d'enzymes spécialisées et le gain énergétique procuré par la dégradation du xénobiotique, sans oublier pour autant l'avantage sélectif procuré par ce réarrangement en réponse aux pressions environnementales subies par les communautés microbiennes (**Garcia-Gonzales *et al.*, 2003** ; chromosomique et recombinaison) et parasexuée (transformation, transduction généralisée et conjugaison). Ainsi, ces mécanismes adaptatifs s'appuieraient sur l'existence d'éléments génétiques mobiles présents au sein des communautés microbiennes. Ces structures génétiques, représentées par les plasmides, les transposons, les intégrons, les îlots génomiques ainsi que par les bactériophages, sont également collectivement reconnues comme des vecteurs responsables du transfert génétique horizontal (HGT), jouant un rôle fondamental dans la dégradation des pesticides. Ces groupes de gènes, à forte mobilité, sont définis comme étant des éléments relativement flexibles pouvant s'intégrer avec plus ou moins de facilité dans les génomes des bactéries hôtes (**Funchain *et al.*, 2001** ; **Frost *et al.*, 2005**).

Trois mécanismes moléculaires principaux contrôlent ce transfert génétique horizontal (HGT) dans le sol : la transformation, la transduction et le mécanisme de conjugaison. La transformation est un processus physiologique d'absorption d'un fragment d'ADN extracellulaire (plasmide ou partie du chromosome bactérien) à l'intérieur de cellules dites compétentes, qui requiert ou non la présence de séquences spécifiques (séquences d'absorption) dans le fragment d'ADN transféré pour qu'il soit retrouvé dans le cytoplasme de la cellule hôte (**Lorenz et Wackernagel, 1994** ; **Trevors, 1996** ; **Thomas et Nielsen, 2005**).

Le mécanisme de transduction est un processus dans lequel un fragment d'ADN pris au hasard dans le génome d'une bactérie et provenant soit d'une cellule hôte préalablement infectée par un bactériophage (transduction généralisée), soit d'une séquence d'ADN d'un hôte flanquée de deux séquences d'insertion ayant préalablement intégré de l'ADN de bactériophage excisé (transduction spécialisée), se retrouve en capsidé pour constituer de nouvelles particules phagiques (**Ochman *et al.*, 2000** ; **Ochman, 2005**). De nombreuses études ont récemment suggéré que les fréquences de transduction dans le sol sont largement sous estimées et que de nombreuses populations de bactériophages se trouvent dans cette matrice (**Ashelford *et al.*, 2000**).

Enfin, la conjugaison bactérienne, processus de transfert génétique qui semble être largement majoritaire dans le sol (**Burrus et Waldor, 2004**), est un mécanisme contact-dépendant où le transfert d'un fragment d'ADN se fait d'une cellule donneuse vers une cellule hôte pour la majorité des genres bactériens (**Davison, 1999**). Enfin, la présence de séquences spécifiques codant pour le contrôle de leur transfert, lors des mécanismes de conjugaison ou de transduction, confèrent aux éléments génétiques mobiles une fréquence de transfert plus élevée et une stabilité supérieure dans les génomes des cellules hôtes (**Rhine *et al.*, 2003** ; **Sims, 2006**). Citons dans ce cas l'exemple de la dégradation de l'acide 2,4-dichloro-phénoxyacétique ou 2,4-D (**Streber *et al.*, 1987**), de l'atrazine (**de Souza *et al.*, 1996**), des urées substituées (**Turnbullet *et al.*, 2001** ; **El Sebaï *et al.*, 2004** ; **Hussain *et al.*, 2009**) comme des illustrations de ce phénomène adaptatif.

Globalement, trois mécanismes fondamentaux peuvent décrire de façon satisfaisante ce mécanisme adaptatif des populations microbiennes : (i) soit une mutation des gènes régulateurs contrôlant la transcription des gènes structuraux pouvant amener à une production continue d'enzymes correspondantes à un niveau élevé, (ii) soit une amplification des gènes structuraux aboutissant à l'existence, dans le génome microbien, de plusieurs copies d'un même gène ou d'un ensemble de gènes responsables, par effet additifs, à des concentrations enzymatiques suffisantes pour que la transformation d'une molécule de xénobiotique devienne possible, (iii) soit l'apparition de mutations ponctuelles des gènes structuraux précédée d'une amplification du ou des gènes correspondants, à l'origine de la production de

Synthèse bibliographique

protéines enzymatiques dotées de fonctions catalytiques nouvelles ou améliorées (Soulas, 1990). L'évolution indépendante des différentes copies du gène peut ainsi permettre le maintien de la fonction métabolique ancienne et la mise en place puis la spécialisation progressive de fonctions métaboliques nouvelles.

Dès lors qu'une fonction nouvelle est apparue, sa dispersion au sein d'une population microbienne emprunte classiquement les voies de reproduction sexuée (appariement comparativement aux fragments d'ADN reçus par le mécanisme de transformation (Burrus et Waldor, 2004).

Le sol contient un grand nombre d'enzymes en raison de l'abondance et de la diversité des micro-organismes qui en sont la principale source comparée aux végétaux et aux animaux.

Elles sont en très petites quantités dans la solution de sol ou elles sont rapidement dégradées. A l'extérieurs de corps microbiens, elles existent dans le sol essentiellement adsorbées sur les minéraux et peut-être complexées par les substances humiques. Pour agir, les enzymes intracellulaires (endoenzymes) nécessitent que les molécules organiques de substrat soient absorbées, c'est-à-dire qu'elles pénètrent à l'intérieur des cellules. Au contraire, les enzymes extracellulaires (exoenzymes) catalysent des transformations dans la solution du sol ou le plus souvent en phase adsorbée. Toutes les enzymes nécessaires à la dégradation complète d'un pesticide sont rarement présentes dans une seule espèce microbienne, de sorte que plusieurs espèces doivent intervenir au sein de ce qui est appelé un consortium (Slater et Lovatt, 1984). La dégradation de nombreux pesticides fait intervenir des enzymes qui ne leur pas spécifiques et impliquées dans les transformations chimiques de composés organiques naturels. De fait, assez peu d'enzymes adaptées à des pesticides particuliers ont été isolées et étudiées (Bollag et Liu, 1990). Cependant beaucoup de pesticides ont une structure chimique différente des composés naturels et leur dégradation nécessite une évolution de l'équipement enzymatique des micro-organismes. Elle est possible grâce à des échanges de gènes facilités par la très grande diversité des micro-organismes du sol (Kearney et Kellog, 1985). Il s'agit là d'un aspect du processus de dégradation qui en constitue un facteur important. S'agissant de protéines, les enzymes sont des substances fragiles, détruites par la chaleur, les hautes pressions, les acides et les bases fortes et probablement par les radiations gamma. Leur activités dépend de plusieurs facteurs ; le pH dont la valeur optimum est souvent aux environ de 7 ; la force ionique et la température dont l'optimum d'action se situe aux environ de 40°C. Cette dernière caractéristique confère aux cinétiques de dégradation une dépendance particulière à l'égard de la température.

Tableau 07 : exemples d'enzymes spécifiques (Bollag et Liu, 1990) :

Pesticides	Enzyme	Micro-organisme	Auteurs
Carbofuran	Hydrolase	<i>Achromobacter sp.</i>	Derbyshire et al., 1987
Dalapon	Déhalogénase	<i>Arthrobactersp.</i>	Kearney et al., 1964
Fenthion	1,2 dioxygénase	<i>Nocardiasp.</i>	Rast et al., 1979
Malathion	Hydrolase	<i>Ttichodermaviride, pseudomonassp</i>	Matsumura et Boush, 19966
Parathion	Phosphohydrolase	<i>Escherichia coli</i>	Zech et Wigand, 1973

IX. Les actinomycètes : Agents de biodégradation dans la nature

1- Caractères généraux

Les actinomycètes sont des bactéries à Gram positif avec un coefficient de **Chargaff** (G C%) élevé, ils se caractérisent par la formation d'hyphes filamenteux, ils sont saprophytes, largement distribués dans le sol, l'eau et les plantes montrant une diversité chimique et morphologique marquée, mais forment une ligne distincte de l'évolution des organismes (**Goodfellow et O'Donnell, 1989**).

Bien que les actinomycètes soient des microorganismes procaryotes, leur morphologie ressemble fortement à celle des micro-organismes eucaryotes comme les champignons filamenteux (**Osada, 1998**). Les actinomycètes présentent des similitudes avec les eubactéries et les champignons. Il existe des formes de transition, mycéliennes typiques et unicellulaires, présentant une aptitude peu marquée à former un mycélium ramifié. Le diamètre des filaments des formes mycéliennes est toutefois environ deux fois plus faible (0,5 à 1,2 µm) que celui du mycélium de champignons.

La plupart des actinomycètes sont terrestres, certaines espèces sont marines (**Minceretal., 2002**). Les actinomycètes sont répandus dans l'environnement et la plupart des espèces sont Chimioorganotrophes, aérobies, mésophiles et croissent de façon optimale dans la gamme de pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité (**Williams et Wellington, 1982a; Goodfellow et Williams, 1983**). Les facteurs importants contrôlant l'abondance et l'activité des actinomycètes dans le sol sont : la disponibilité des nutriments, la nature et l'abondance de la matière organique, la salinité, la teneur en humidité relative, la température, le PH et la végétation du sol (**Goodfellow et Williams, 1983**).

2- Morphologie :

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forme seulement une masse de filaments ramifié. Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (**Lechevalier et Lechevalier, 1985**). Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu
- des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides
- des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

Les différents genres d'actinomycètes peuvent sporuler soit en morcelant certaines d'hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conidies hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores (**Thermoactinomyces**). D'autres genres d'Actinomycètes sporulent en produisant des sporanges tels que le genre *Streptosporangium* (**Kalakoutskii et Agre, 1976**).

3- Ecologie des actinomycètes :

Les actinomycètes sont retrouvés presque partout dans la nature. Ils constituent une part importante de la microflore tellurique: 10 à 20% ou parfois plus (**Dommergues et Mangenot, 1970; Ishizawa et Araragi, 1976**). Le genre *Streptomyces* est celui qui prédomine généralement dans les sols et divers autres substrats. Il représente 80 à 95% du total des actinomycètes (**Lacey, 1973 ; Elwanetal., 1985**). Après *Streptomyces*, les genres les plus fréquents sont *Nocardia* et *Micromonospora* (**Dommergues et Mangenot, 1970**). Les autres

Synthèse bibliographique

genres ne constituent qu'une fraction minime et sont parfois peu fréquents ou même assez rares.

La plupart des Actinomycètes sont saprophytes mais quelques-uns peuvent être pathogènes ou symbiotes des plantes et des animaux (**Suzuki et al. 1994**).

En générale, les actinomycètes sont des hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimioautotrophe (**Ensignet al. 1993**).

Physiologiquement, il est possible de distinguer les formes aérobies qui sont de très loin les plus nombreuses, et des types anaérobies trouvés primitivement chez les animaux et l'homme. Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin, ils sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérants des températures avoisinant les 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C (**Omura, 1992**).

4-Rôle des actinomycètes dans le sol :

Dans le sol, la densité des actinomycètes, essentiellement représentés par les genres *Nocardia* et *Streptomyces*, est en général 3 à 15 fois plus faible que celle des bactéries et varie entre 10⁵ et 10⁸ unités /g de sol. Leur densité augmente dans les sols alcalins et décroît dans les sols submergés (**Goodfellow et Williams, 1983**). Leur rôle dans le sol est important en raison de leur aptitude à dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries (**Crawford, 1993**), et à produire des substances probiotiques et antibiotiques (**Kieser et al. 2000**). Les premiers stades de la dégradation de la matière organique sont le fait de bactéries et de champignons. Les actinomycètes ne se développent pas durant ces premiers stades en raison de leur inaptitude à la compétition, par contre, ils se développent relativement bien sur une matière organique partiellement dégradée et inapte à porter une microflore fongique et bactérienne (**Crawford, 1993**).

5- Dégradation des pesticides par les actinomycètes :

Les actinomycètes ont un potentiel considérable pour la biotransformation et biodégradation des pesticides. Certains membres de ce groupe de bactérie gram-positif ont la capacité de dégrader les pesticides avec très différentes structures chimiques, y compris les organochlorés, s-triazines, triazinones, les carbamates, les organophosphorés, acétanilides, et sulfonilurées. Un nombre limité de ces pesticides xénobiotiques peut être minéralisé par des isolats simples, mais souvent des consortiums de bactéries sont nécessaires à la dégradation complète. La dégradation des pesticides par Co métabolisme est fréquemment observée au sein de ce groupe de bactérie. Par rapport à la dégradation des pesticides par des bactéries gram-négative, beaucoup d'informations sur les mécanismes impliqués dans les biotransformations de pesticides par les actinomycètes sont disponibles. La progression dans ce domaine a été sérieusement entravée par un manque d'outils génétiques moléculaires appropriés pour la plus part des représentants de ce groupe majeur des bactéries du sol. Surmonter cette contrainte permet une meilleure exploitation des biodégradations et de biotransformation des capacités des actinomycètes pour des applications telles que la bioremédiation et la construction de corps d'herbicides transgéniques (**De Schryver A¹, 1999**).

MATERIELS
ET
METHODES

METHODE ET MATERIEL :

1. Purification des souches d'actinomycètes :

Les souches d'actinomycètes, sur lesquelles on a effectué notre travail ont été précédemment isolées par Madame ZERMAN F. (enseignante attachée de recherche, au sein du laboratoire de génie microbiologie et applications).

Afin d'obtenir des souches pures, les différentes colonies sont repiquées et ensemencées, par stries, sur gélose ISP2 (annexe), puis incubées à 30 °C pendant 7-21 jours. Il est recommandé de réaliser le moins de repiquage possible pour conserver la stabilité génétique des souches.

La pureté des souches est contrôlée par des examens microscopiques directes après chaque repiquage, les colonies sont observées sous microscope optique (Grossissement x 10) (Ouhdouch *et al.*, 2001).

2. Milieux et réactifs :

L'herbicide utilisé au cours de ce travail est l'Apyros (75% sulfosulfuron) sous sa forme commerciale, qui est largement utilisé en Algérie, il est obtenu à partir des revendeurs des produits phytosanitaires, c'est un herbicide de la famille des sulfonyles et utilisé contre la lutte contre le brome, et ainsi des adventices graminées et certains dicotylédones.

- Sa composition chimique est mentionnée dans la partie bibliographique.

Le milieu MSM minimal saltmedium (**annexe**) contenant l'herbicide Apyros comme **SSCE** est utilisé pour tester la capacité des actinomycètes purifiés a utilisé cet herbicide comme **SSCE** (Ying *et al.*, 2011).

Les milieux *ISP* (*International Streptomyces Project*) sont utilisés pour le repiquage ainsi que pour l'étude et la caractérisation des souches d'actinomycètes.

3. Conservation des souches :

Les souches purifiées sont conservées sur le milieu ISP2 (**annexe**), les tubes contenant la gélose inclinée sont ensemencés par stries et incubés à 30°C jusqu'à sporulation des souches (21 jours), finalement les tubes sont conservés à 4°C pour une durée de deux mois environ. Cette technique permet une bonne conservation, aussi longue que celle de la congélation (Caldwell *et al.*, 1995).

4. Préparation des inocula des souches isolées :

4.1. Préparation de l'inoculum général :

Les souches d'actinomycètes testées sont ensemencées en stries serrées, sur ISP2 (**annexe**) et incubées à 28 ± 2 °C pendant 7-21 jours. Après croissance, 20 ml d'eau distillée stérile sont versés dans chaque boîte de Pétri, les colonies sont raclées à l'aide d'un râteau puis récupérées par pipette Pasteur dans un tube stérile. L'inoculum ainsi récupéré, contenant des fragments de mycélium et de spores (Shirling et Gottlieb, 1966).

4.2. Préparation de l'inoculum lavé :

50 ml du milieu liquide ISP1 (**annexe**) sont inoculés par cinq millilitres de l'inoculum général, et incubés sous agitation (180 tpm) à 28 ± 2 °C pendant 48 heures (Shirling et

Gottlieb, 1966). Après l'incubation, la culture est centrifugée à 5000 tpm, pendant 30 minutes. Le surnageant est écarté et le culot est lavé deux fois à l'eau distillée stérile puis repris dans 50 ml d'eau distillée stérile, cette suspension constitue l'inoculum lavé. Pour chaque souche, l'inoculum lavé est préparé de telle manière à obtenir une densité optique égale à 1 pour une longueur d'onde de 600 nm.

5. Etude de la capacité des actinomycètes à croître en présence de l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie :

Les souches d'Actinomycètes purifiés, sont testées pour leur capacité à utiliser l'herbicide Apyros comme SSCE. Cette étude est réalisée sur le milieu MSM solide contenant l'Apyros à la dose recommandée (0,1g/l) comme seule source de carbone et d'énergie, les boîtes sont ensemencées en stries à partir de l'inoculum lavé, puis incubées à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 7 jours (Ying *et al.*, 2011). Les souches ayant une bonne croissance sont sélectionnées.

6. Etude, *in vitro*, de la cinétique de dégradation de l'herbicide Apyros par les souches actinomycètes actives :

Les souches capables de croître sur l'Apyros comme SSCE, sont testées pour leur aptitude à dégrader ce même herbicide selon Lara *et al.* (2005), 10 ml de l'inoculum lavé de chaque souche sont inoculés dans un Erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml du milieu minérale MSM liquide additionné de l'Apyros comme SSCE à une concentration équivalente à la dose recommandée (100mg/l), puis incubés sous agitation (180 tpm) à $28 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant 30 jours à l'abri de la lumière pour éviter la photodégradation. Toutes les expériences sont réalisées en double.

Un contrôle négatif, non inoculer est réalisé pour contrôler la dégradation non biologique de l'herbicide.

Pour chaque souche, des prélèvements périodiques sont effectués à un intervalle de 2 Jours, pendant 30 jours.

Pour estimer la croissance bactérienne, la densité optique est mesurée à 600 nm pour Chaque prélèvement.

Pour suivre la dégradation de l'Apyros, Chaque échantillon est centrifugé à 5000 tpm Pendant 30 min à 4°C . Le surnageant est conservé en l'absence de la lumière à -20°C , pour Une analyse chromatographique ultérieure.

6-1. Mesure de la densité bactérienne :

La variation de la densité bactérienne au cour des 30 jours d'incubation est déterminé e Par spectrophotomètre d'adsorption moléculaire UV / Visible à une longueur d'onde de 600.

6-2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

La détermination quantitative de la matière active de l'Apyros : sulfosulfuron au cour du temps d'incubation est réalisée d'après (Sanjana *et al.* 2006), par injection des surnageant filtrés sur membrane millipores (0.22 μm) dans le système HPLC dont les caractéristiques sont les suivantes :

Méthodes et matériels

- La phase mobile est un mélange, acéto nitrile : eau ultra pure (80 : 20 v/v).
 - La colonne d'analyse est une Colonne 180 ODS avec **une longueur de 25× 0, 46 cm** et un **Diamètre de 5µm**.
 - Le débit utilisé dans la colonne est **de 1ml/mn**.
- La détection est réalisée au moyen d'un détecteurs UV –visible : UV-2075 couplé d'un Ordinateur menés d'un logiciel pour visualisé les signaux enregistrée par le détecteur.

7. Dégradation de l'herbicide Apyros par l'extrait enzymatique des souches actinomycètes

7.1. Extraction des enzymes:

Les souches sont ensemencées sur erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml d'ISP1 et inoculé à raison de 10% (5ml) de l'inoculum général. Après incubation à 28°C pendant 72 heures avec agitation (180 tpm), les cultures sont centrifugées à 5000tpm/30min à 4°C.

Le culot est lavé deux fois par 20ml du tampon phosphate saline (PBS : 0,13M, pH : 7-7,2) (**annexe**).

Les cellules obtenues sont mis en suspension dans 5 à 9 ml de PBS, 4 ml de la suspension cellulaire est prélevé et soumis à une ultrasonification (220w pendant 7 minutes).

Le lysat cellulaire est obtenu par élimination des débris cellulaire par centrifugation à 12000tpm pendant 30 minute à 4°C, le surnageant est utilisé comme extrait enzymatique pour les essais enzymatiques (**Ying et al, 2011 ; Nan-Xi et al, 2011**).

7.2. Essai enzymatique :

Le mélange d'essai contient : 50 µl d'extrait enzymatique, 3,94 ml de PBS et 10 µl d'Apyros à 25g/l.

Le mélange réactionnel est incubé au bain marié à 30°C pendant une heure. Un contrôle négatif est préparé dans les même conditions, à l'exception de l'extrait enzymatique qui est mis à une ébullition (75 à 80°C) préalable (**Ying et al, 2011 ; Nan-Xi et al, 2011**). .

8-Identification présomptive des souches actives :

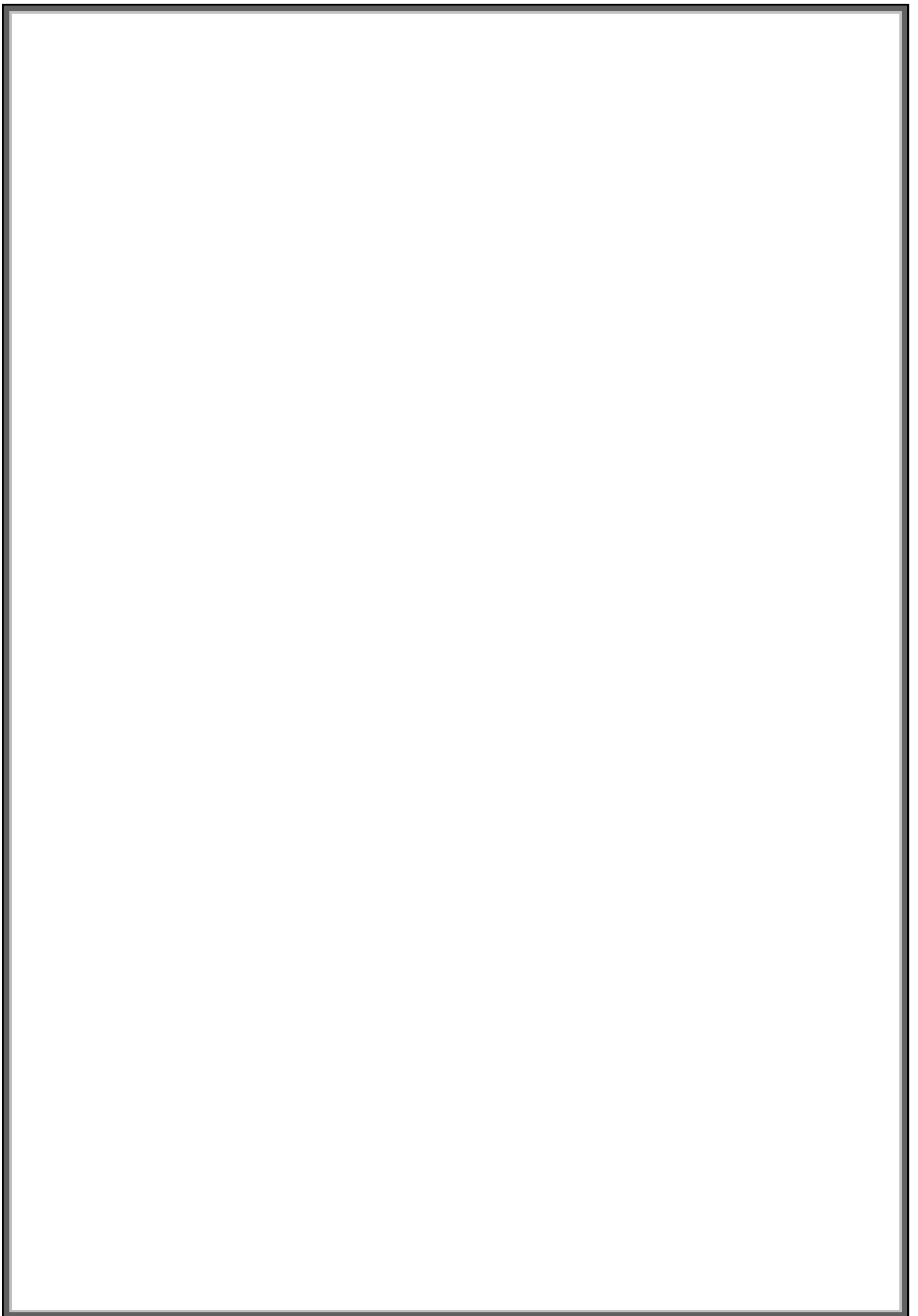
***Technique de culture sur lamelle**

Une goutte de l'inoculum de chaque souches actives est déposée sur une lamelle fermement fixé au milieu ISP2(Annexe), et faisant un angle de 45° avec la surface de celui-ci. Après 14 jours d'incubation à 30°C, la lamelle est retirée soigneusement de la gélose, entraînant avec elle des fragments des mycéliums de substrat aérien non dénaturés, elle est ensuite déposée sur une lame puis examinée à émersion, au microscope optique (**Oskay, 2009**).

Des photographies ont été prises à l'aide d'un appareil photographique numérique SONY 12,1 Mégapixel.

Les structure observées seront ensuite comparées avec les diagrammes schématique des mycéliums de substrat et aérien des différents genres d'actinomycètes mentionnées dans **Bergey's Manual of Determination Bacteriology, ninth edition (1994)**.

RESULTATS
ET
DISCUSSION



Résultats et discussion

Résultats et discussion :

1. Purification des souches d'actinomycète

Les colonies prélevées à partir des 12 souches isolées par madame Zermane.F ont été purifiées par ensemencement en stries sur le milieu ISP2 et incubé à 30°C pendant 7-21 jours.

Au bout de 12 jours d'incubation, les colonies d'actinomycètes sont reconnues par leur aspect morphologique caractéristique. Elles apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, dures incrustés dans la gélose, bord filamenteux.

En effet, les actinomycètes sont considérés comme le groupe microbien majeur de la population tellurique et sont largement distribués dans les sols (**Küster et Williams, 1964**). Elles se développent très lentement, avec un temps de génération relativement long, par rapport à la plupart des bactéries et des champignons, leur croissance sera donc masquée sur des milieux de culture ordinaires (**Ottow et Glathe, 1968**), pour cela, les milieux d'isolement et de purification doivent être destinés à favoriser leur développement et inhiber les autres microorganismes (**Hayakawa, 2008**), en effet la présence dans le milieu de culture de la chitine, de l'amidon, du glycérol, de l'arginine, de l'asparagine, de la caséine et des nitrates conduit à un isolement sélectif des actinomycètes alors que les bactéries et les champignons poussent faiblement (**Williams et Davies, 1965**). Les milieux ISP (*International Streptomyces Project*) sont parmi les milieux les plus utilisés pour l'isolement, la purification, la caractérisation morphologique et même la conservation des actinomycètes (**El-Meleigy, M. A, 2012**).

Dans cette étude le milieu ISP2(**annexe**) est employé pour la purification des actinomycètes, il contient des substrats sélectifs pour leur croissance (extrait de levure et extrait de malt).

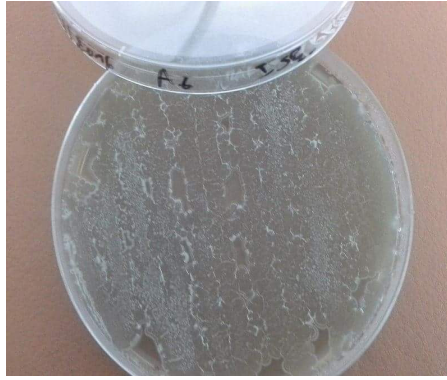


A8



X

Résultats et discussion



A6

Figure 03 : Caractères cultureux des souches A6, A8 et X sur le milieuISP2

2. Etude de la capacité des actinomycètes à croître en présence de

L'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie :

Les actinomycètes présentent des propriétés très importantes tel que leur capacité à se développer sur les substrats les plus divers et leur aptitude à synthétiser de très nombreux métabolites bioactifs, parmi lesquels les enzymes, qui après les antibiotiques sont les produits les plus importants des actinomycètes.

La dégradation microbienne des herbicides et le développement des stratégies sur l'utilisation des microorganismes biodégradants pour traiter les sols pollués, représentent un domaine très évolué de recherche mondiale (Melo and Azevedo., 1997 ; Straube et al., 1999 ; Semple et al., 2001).

Pour cela, les souches d'actinomycètes sont ensemencées sur le milieu MSM contenant l'herbicide Apyros comme **SSCE**.

Parmi les douze souches d'actinomycètes testées, seulement les trois souches A6, A8 et X présentent une bonne croissance sur le milieu MSM contenant l'herbicide Apyros comme **SSCE**, les souches A1, A12, G6 et G8 présentent une croissance modérée, une faible croissance est observée pour la souche G13, tandis que les souches A11, G15, G17 et G20 sont incapables d'utiliser l'Apyros comme **SSCE** (**tableau 8**).

D'après les résultats obtenus, les souches (A6, A8 et X) ayant une bonne croissance sur le milieu MSM sont donc capables d'utiliser l'herbicide Apyros comme **SSCE** à un potentiel élevé par rapport aux autres souches testées. Ces trois souches sont sélectionnées pour des études plus approfondies.

Cette méthode est largement utilisée pour l'isolement et la sélection de nombreux microorganismes capables d'utiliser certains composés organiques comme **SSCE** tel que l'herbicide sulfosulfuron (Deepti.G et Abhinav.M, 2015) et les herbicides Basta (glufosinate) et Sencor (metribuzin) (Zaki.Metal., 2012).

Résultats et discussion

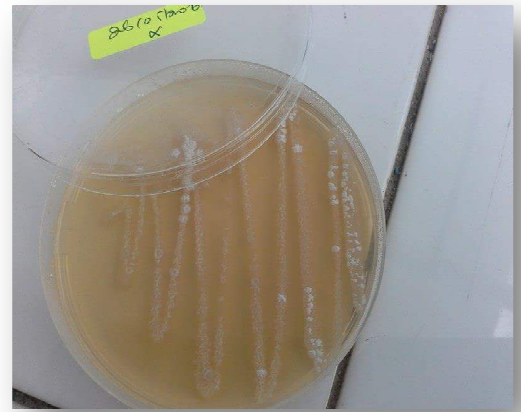
Tableau 08: capacité des souches purifiées de croître sur l'herbicide Apyros comme SSCE

Souches d'actinomycètes	A1	A6	A8	A11	A12	G6	G8	G13	G15	G17	G20	X
Croissance en présence de 1 g /l d'Apyros	++	+++	+++	-	++	++	++	+	-	-	-	+++

(+++): Bonne croissance, (++): Croissance modérée, (+): Croissance faible, (-) pas de croissance.



A8



X



A6

Figure 04 : croissance des souches A8, A6 et X sur MSM

3. Etude, *in vitro*, de la cinétique de dégradation de l'herbicide Apyros par les souches actinomycètes actives

La mesure de la croissance des trois souches sélectionnées est réalisée par spectrophotométrie à 600 nm (**tableau9, figure5**).

Résultats et discussion

Tableau 09: Absorbance des souches A6, A8 et Xenprésenced'Apyros comme sscce en fonction du temps

	A6	A8	X
Après 2jrs	0,052	0,008	0,041
Après 4 jrs	0,066	0,018	0,059
Après 6 jrs	0,068	0,017	0,057
Après 8 jrs	0,070	0,010	0,048
Après 10 jrs	0,149	0,093	0,141
Après 12 jrs	0,068	0,022	0,067
Après 14 jrs	0,066	0,005	0,052
Après 16 jrs	0,058	0,022	0,057
Après 18 jrs	0,047	0,008	0,048
Après 20 jrs	0,044	0,027	0,059
Après 22 jrs	0,056	0,016	0,053
Après 24 jrs	0,085	0,035	0,059
Après 26 jrs	0,064	0,014	0,053
Après 28 jrs	0,085	0,048	0,065
Après 30 jrs	0,100	0,030	0,078

Résultats et discussion

Absorbance (nm)

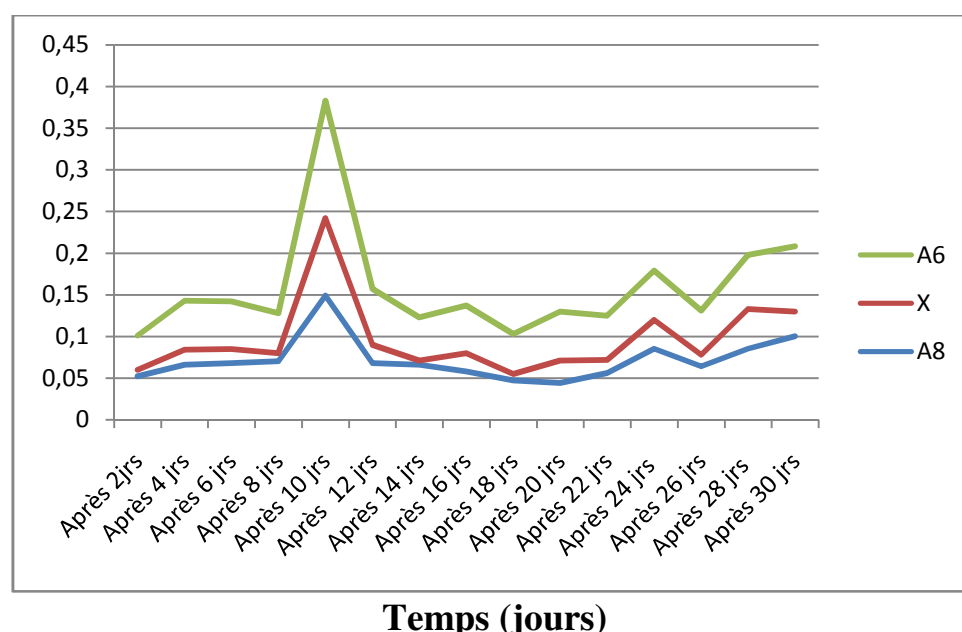


Figure 05 : Comparaison de l'absorbance des souches A6, A8 et Xen fonction du temps.

Pour La souche A6 : l'absorbance varie de 0.052 à 0.066 au 4^{ème} jour, puis augmente à un maximum de 0.149 aux 10^{ème} jour, ce qui indique que la souche utilise l'Apyros comme ssc, puis diminue progressivement jusqu'au 20^{ème} jour et augmente une autre fois de 0.068 à 0.1 au 30^{ème} jour, ceci peut être due à l'utilisation des métabolites de dégradation de l'apyros comme ssc. (**Figure 05, tableau 09**).

Pour La souche A8 : l'absorbance varie de 0.008 à 0.18 au 4^{ème} jour, puis Augmente à un maximum de 0.093 aux 10^{ème} jour, ce qui indique que la souche utilise l'Apyros comme ssc, puis diminue progressivement jusqu'à 22^{ème} jour et augmente une autre fois à 0.048 au 28^{ème} jour, ce qui indique que la souche utilise les métabolites de dégradation de l'Apyros comme ssc. Puis elle diminue une autre fois à 0.03 au 30^{ème} jour, ceci peut être due à la carence de toute source de carbone dans le milieu ou bien à l'incapacité de la souche à dégrader les métabolites produits dans le milieu (**Figure 15, tableau 09**).

Pour La souche X : l'absorbance varie de 0.041 à 0.059 au 4^{ème} jour, puis augmente à un maximum de 0.141 aux 10^{ème} jour, ce qui indique que la souche utilise l'Apyros comme ssc, puis diminue progressivement jusqu'au 26^{ème} jour et augmente une autre fois de 0.065 à 0.078 à 30^{ème} jour, ce qui indique que la souche utilise les métabolites de dégradation de l'Apyros comme ssc. (**Figure 05, tableau 09**).

L'augmentation de l'absorbance est due à une augmentation de la croissance microbienne dans le milieu, ce qui indique que les souches A6, A8 et X utilisent le l'apyros (sulfofurone) comme seule source de carbone et d'énergie pour leur croissance, Il est remarquable qu'à partir du 10^{ème} jour, le taux de croissance pour les souches A6 et X est plus grand que celui de la souche A8.

La même remarque pour les valeurs de l'absorbance de la souche A6 qui sont plus grandes que celles des souches A8 et X

Ceci permet de choisir la souche A6 pour des études in vitro de la dégradation d'Apyros par HPLC.

Résultats et discussion

Dans nos conditions expérimentales, le standard de l'herbicide étudié (Sulfosulfuron 75%) a un temps de rétention qui varie entre [2,82-2,89] minutes.

Les aires obtenues par HPLC pour différentes concentrations de l'herbicide Apyros (sulfosulfuron) sont représentées dans le **tableau 10**. La courbe d'étalonnage est représentée dans la **figure 06**.

Tableau 10 : Standards utilisés pour l'étalonnage de l' HPLC

Concentration	1	2	3	4	5	100
Aires (%)	90,246	90,381	92,52	94,42	95,76	96,73

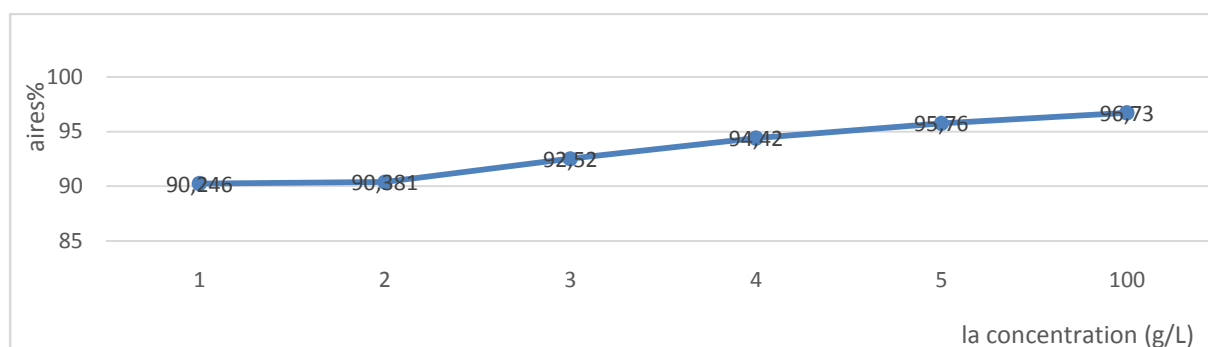


Figure 06 : courbe d'étalonnage d'Apyros (sulfosulfuron)

Les variations de la concentration d'apyros (sulfosulfuron) au cours du temps d'incubation, sont représentées dans les figures : 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14.

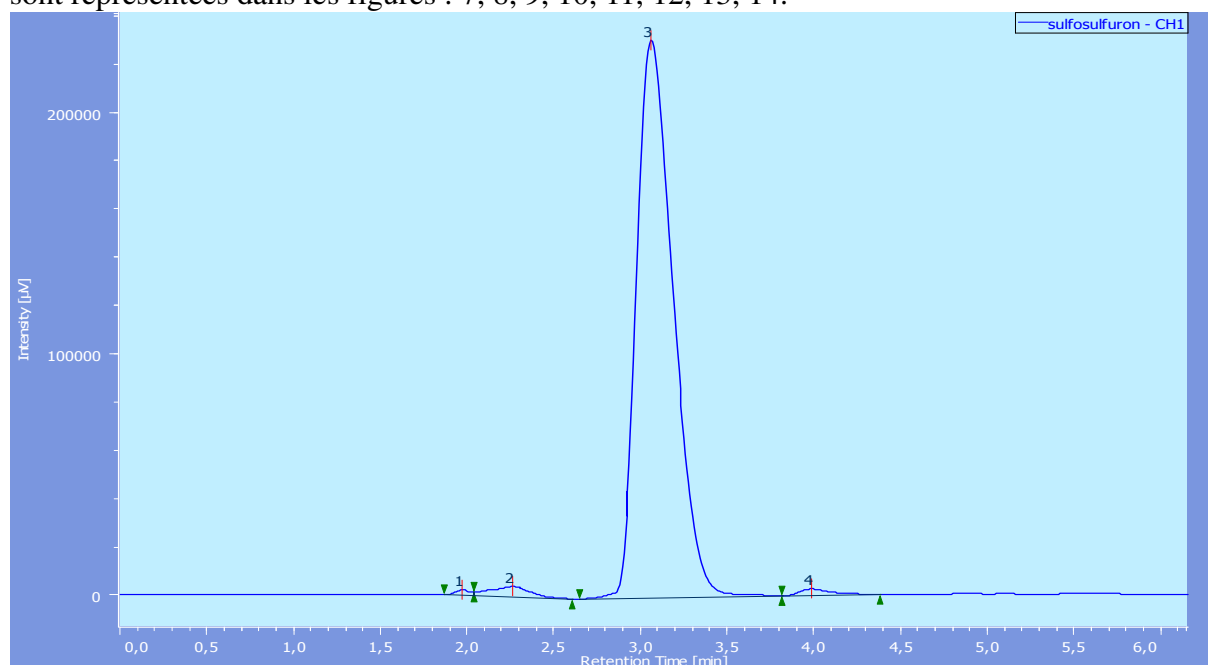


Figure 07: chromatogramme de standard de l'apyros (100mg/l), la molécule active de sulfosulfuron correspond au pic N°3, RT=2,88, air=96,73%

Résultats et discussion

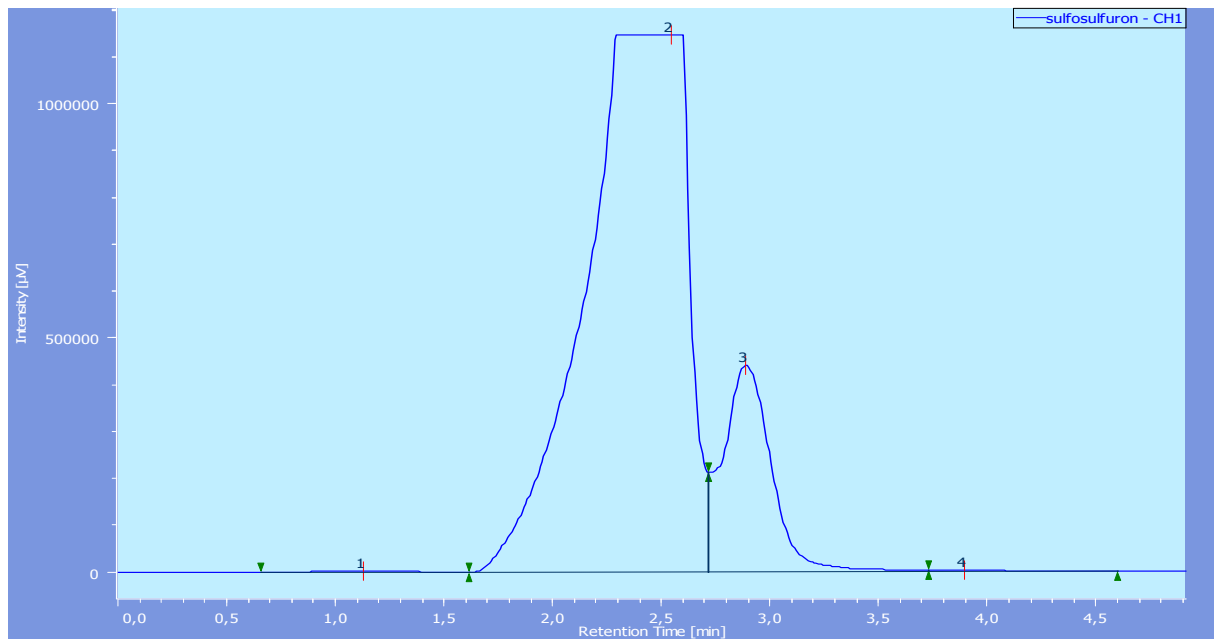


Figure 08: chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active de sulfofururon après 2 jours (pic N°3, air=15.121%)

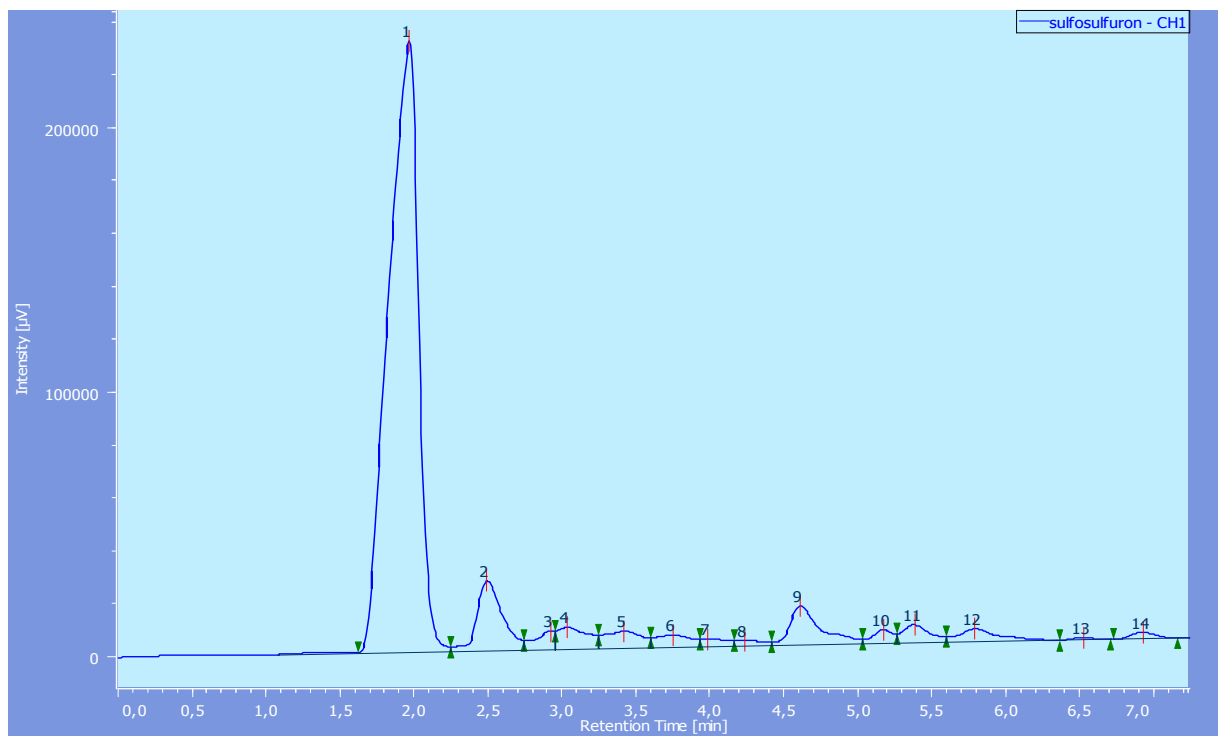


Figure 09 : chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active de sulfofururon après 4 jours (pic N°2, air= 7.07%).

Résultats et discussion

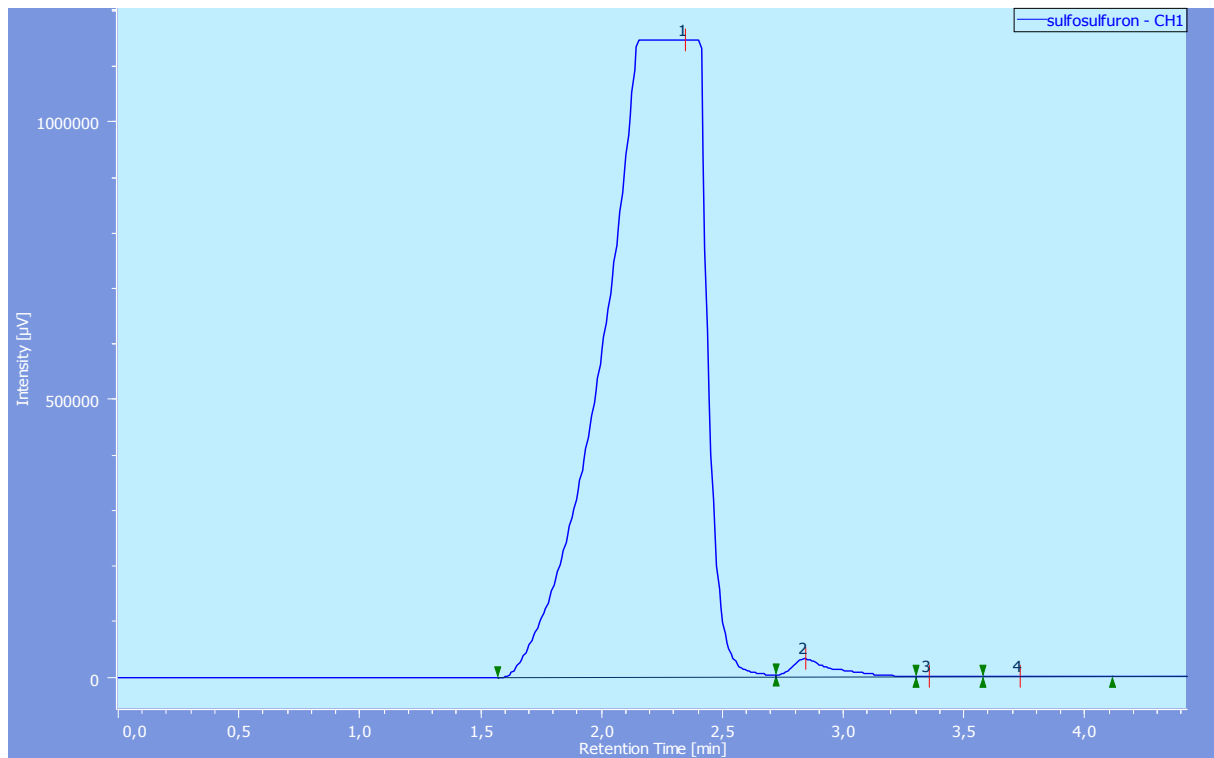


Figure 10 : chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active de sulfosulfuron après 6 jours (pic N°2, air=1.23%)

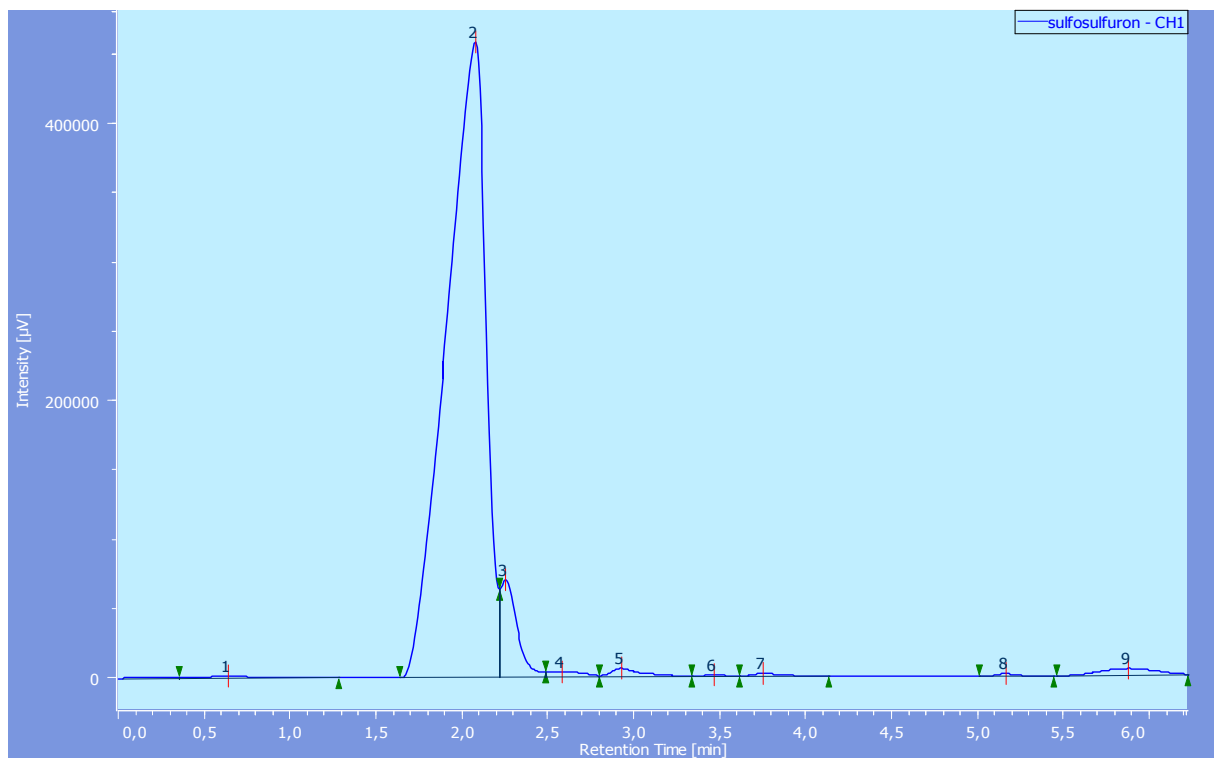


Figure 11: chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active de sulfosulfuron après 8 jours (pic N° 5, air=1.01%)

Résultats et discussion

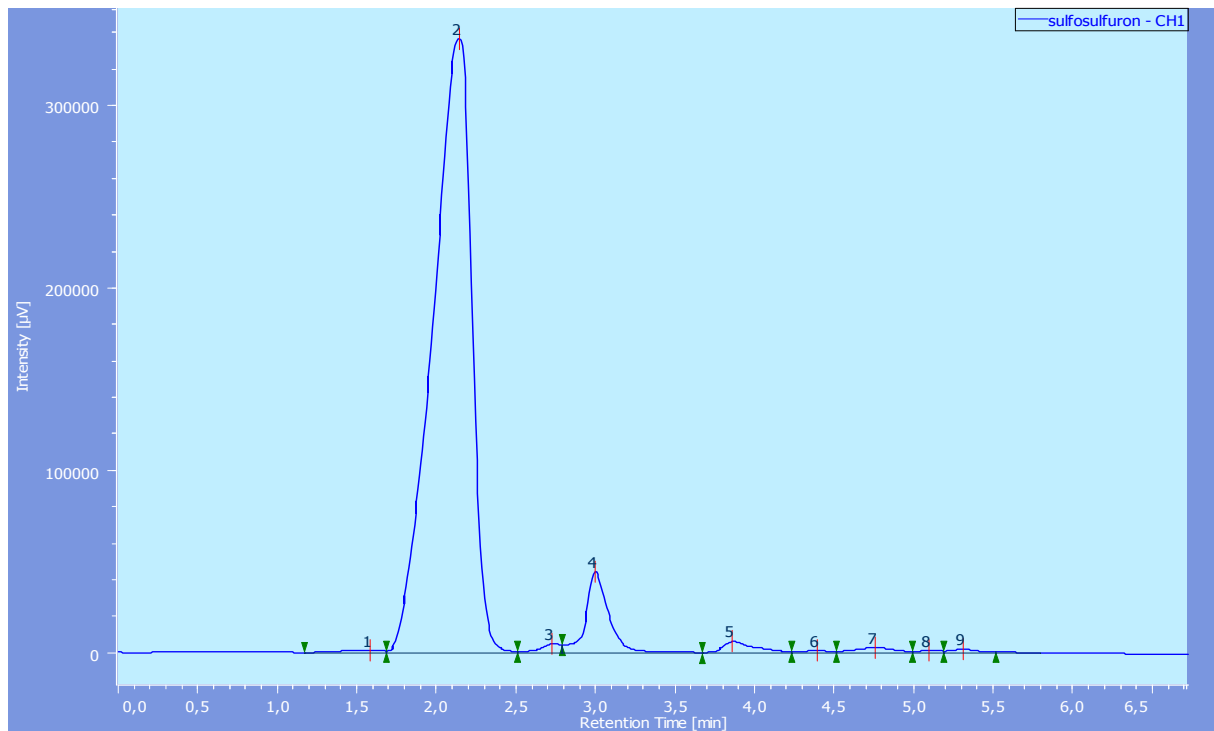


Figure 12: chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active de sulfosulfuron après 24 jours (pic N°3, air=0.715%)

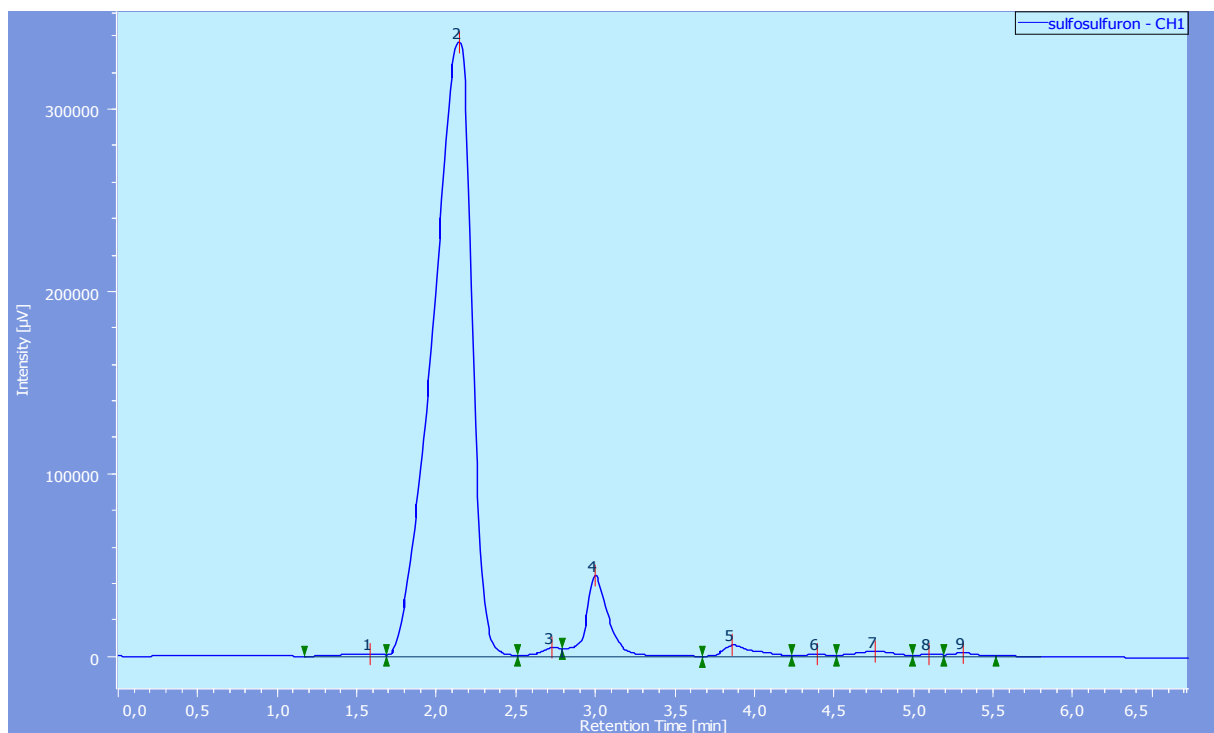


Figure 13 : chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active de sulfosulfuron après 26 jours (pic N°4, air=0.252%).

Résultats et discussion

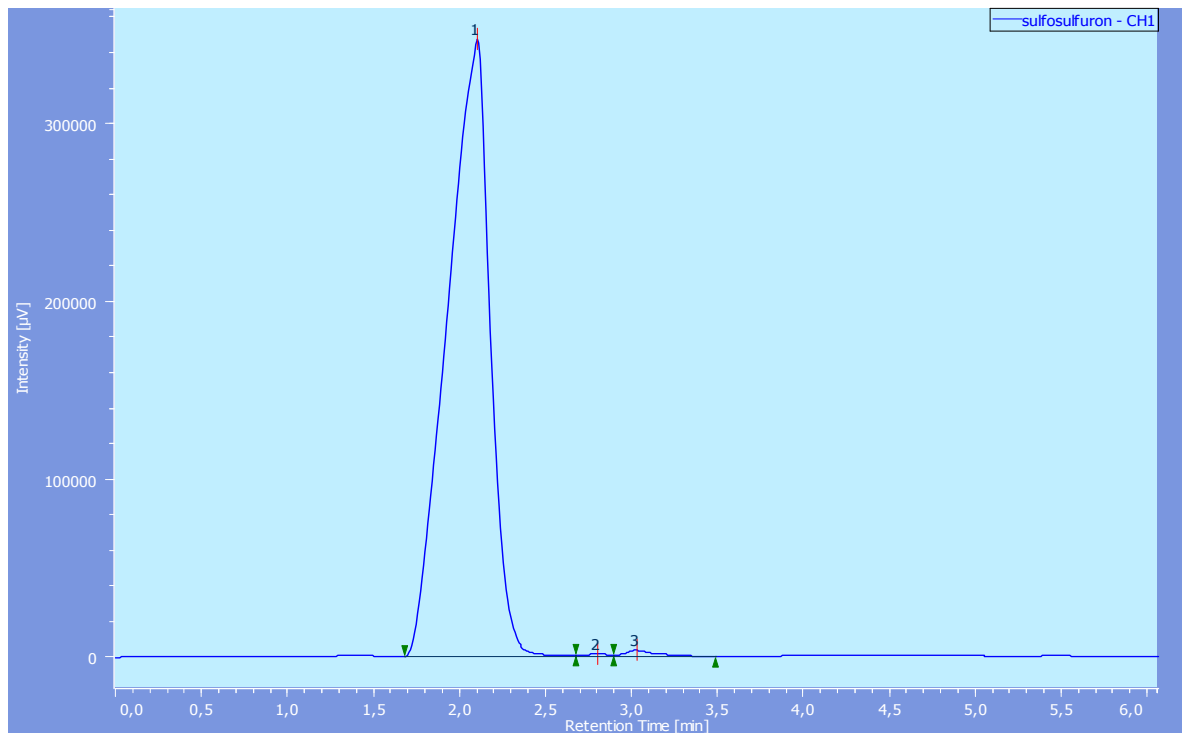


Figure 14: chromatogramme montrant la dégradation de la molécule active de sulfosulfuron après 28 jours (pic N°2, air=0.215%)

Tableau 11 : Diminution des aires de pic de sulfosulfuron en fonction de temps

Temps (jour)	2	4	6	8	24	26	28
Aires(%)	15,121	7,07	1,23	1,01	0,715	0,258	0,215

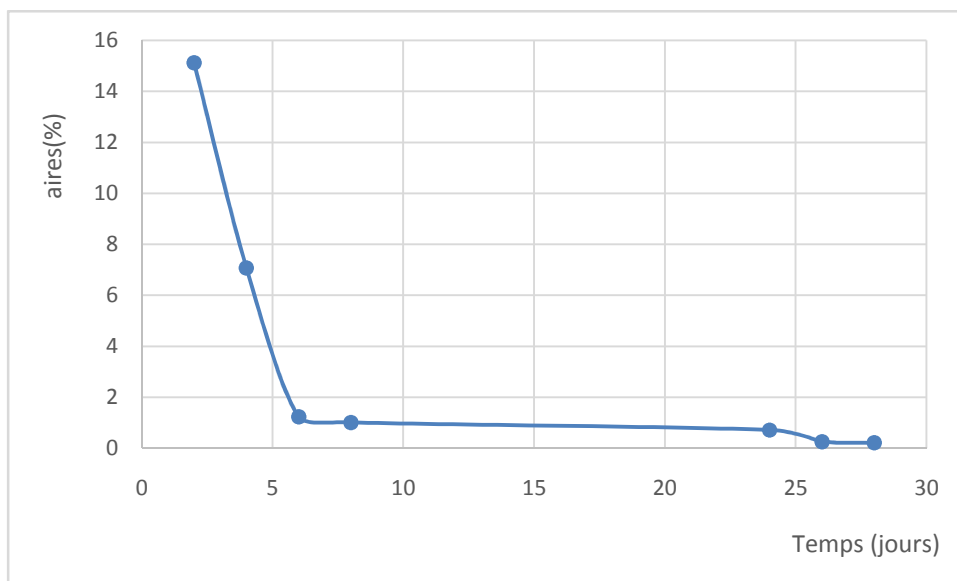


Figure15 : diminution des aires en fonction de temps

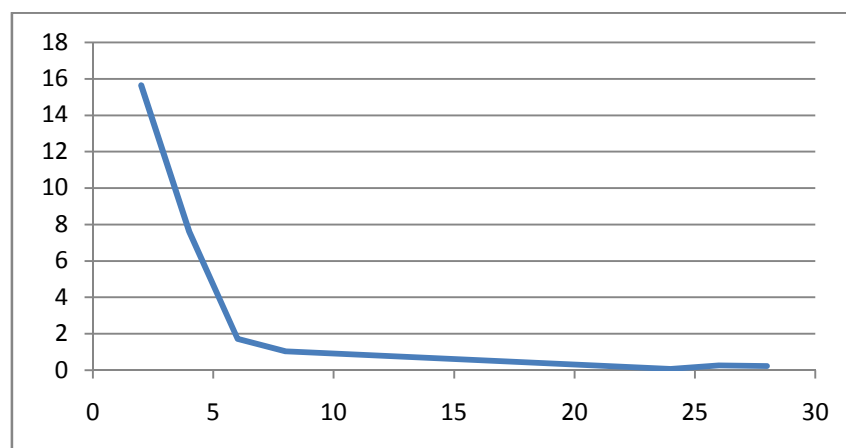
Résultats et discussion

Les concentrations du sulfosulfuron à chaque temps d'incubation sont déduites à partir de courbedétalonnage (**figure6**).

Tableau 12 :Diminution des concentrations du sulfosulfuron en fonction du temps

Temps (jours)	2	4	6	8	24	26	28
Concentration du sulfosulfuron (mg/l)	15,63	7,609	1,72	1,04	0,070	0,26	0,22

Concentration (mg/l)



Temps (jours)

Figure 16 :Cinétique de dégradation du Sulfosulfuron par la souche A6

Les résultats obtenus par HPLC révèlent une dégradation progressive de l'herbicide par la souche A6 :

La concentration du sulfosulfuron diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 15.63 g/l au 2^{ème} jour à 7.6 g/l au 4^{ème} jour d'incubation, puis diminue progressivement jusqu'à 0.22 g/l au dernier jour d'incubation.

Résultats et discussion

L'analyse par chromatographie à haute performance en phase liquide a permis aussi de détecter plusieurs pics, dont les temps de rétention sont différents à celui du sulfosulfuron, ces pics correspondent aux métabolites qui résultent de la dégradation de l'herbicide étudié.

L'augmentation des aires des pics de ces métabolites est proportionnelle à la diminution de l'aire de pic du sulfosulfuron, selon **Chandranetal. (2013)**, le métabolite majeur du sulfosulfuron est L'aminopyrimidine.

Des résultats similaires sont obtenus lors d'une étude de la biodégradation de deux herbicides qui appartiennent à la famille des sulfonilurées (chlorsulfuron et metsulfuron), réalisée par **Boschinetal. (2003)**, où deux métabolites microbiens sont produits par le clivage du pont des sulfonilurées. Ces métabolites sont identifiés par une comparaison avec leurs standards.

La diminution de la concentration du sulfosulfuron s'accompagne avec une augmentation de l'absorbance microbienne de la souche A6, de 0.066 dans le 4^{ème} jour, puis augmente au cours du temps d'incubation jusqu'à ce qu'elle arrive à 0,100 dans le 30^{ème} jour (**tableau 11**)

L'augmentation de cette absorbance est due à une augmentation de la croissance microbienne dans le milieu, ce qui indique que la souche utilise cet herbicide comme seule source de carbone et d'énergie dans sa croissance.

4. Dégradation de l'herbicide Apyros par l'extrait enzymatique des souches actinomycètes

D'après la **figure17** l'extrait enzymatique de la souche A6 a permis de dégrader 95% du sulfosulfuron (diminution d'air de pic de 96.73% dans le standard à 1.806% dans la réaction enzymatique).

Ce résultat indique que l'Apyros a été dégradé par les enzymes solubles présents dans l'extrait enzymatique de la souche A6.

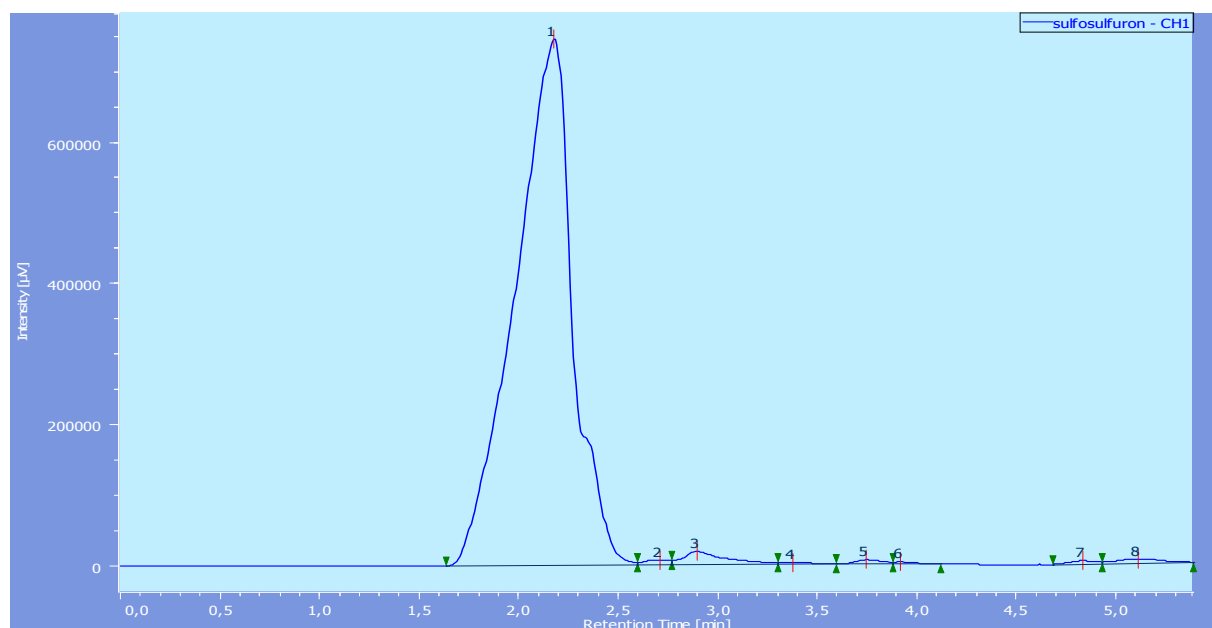


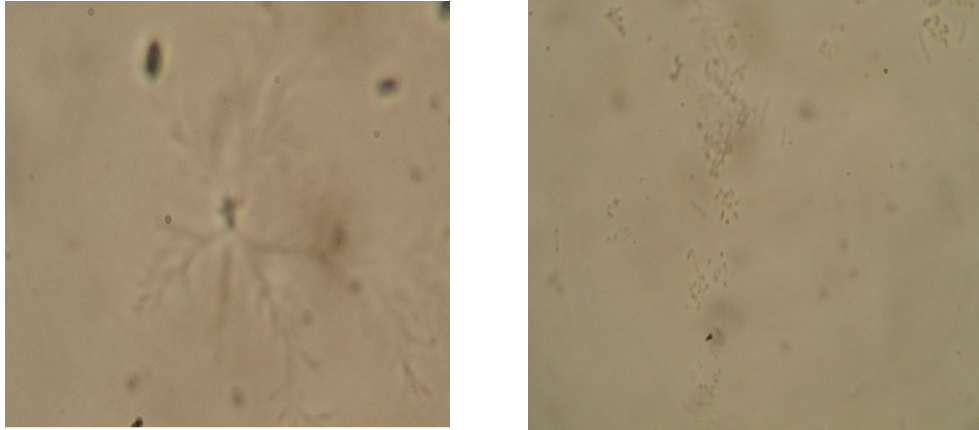
Figure17 : chromatogramme de dégradation du sulfosulfuron par l'extrait enzymatique de la souche A6 Pic N°3, air=1.806%.

Résultats et discussion

5. Identification présumptive des souches actives

L'étude microscopique des souches actives par la technique des lamelles a donné les résultats présentés dans la **figure 18**.

Après 7 jours d'incubation, les lamelles sont retirées de la gélose et déposées sur une lame, puis observées au microscope optique (x 100).



MA : mycélium aérien **MS** : mycélium de substrat

Figure 18 : aspect microscopique de la souche A6

La souche A6 présente un mycélium de substrat peu sporulé et un mycélium aérien fragmenté, selon le **Bergey's Manual of Détermination bacteriology, ninth édition**, la souche A6 peut être rapprochée au genre *Nocardia*.

Le genre *Nocardia* est très répandu dans le sol et également dans les milieux aquatiques, il peut dégrader des hydrocarbures (**Harley., Klien.et Prescott., 2003**).

Giardina et al., (1982) ont rapporté que, *Nocardia* est capable d'utiliser l'herbicide Atriazine comme unique source de carbone et de nitrogène.

**CONCLUSION
ET
PRESPECTIVES**

Conclusion et perspective

Conclusion et perspective :

Notre travail est basé sur quatre objectifs principaux, **le première** est la purification des souches actinomycètes, déjà isolées d'un sol contaminé par l'herbicide Apyros (sulfosulfuron) , **le second objectifs** est la sélection des souches ayant des capacité de pousser sur cet herbicide comme seule source de carbone et d'énergie, **le troisième objectifs** est l'étude de la cinétique de biodégradation de cet herbicide par les souches performantes, par HPLC et l'extraction des enzymes impliquées dans cette dégradation, **le quatrième et dernière objectif** est l'identification présomptive des souches actives.

De ce fait, la purification des douze souches fournies par Mme Zermene, a été réalisée Sur le milieu ISP2.

La capacité d'utiliser l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie, par les souches purifiées est effectuée sur le milieu MSM gélosé contenant l'Apyros à la dose recommandé (0,1g/l) comme seule source de carbone et d'énergie. Ainsi trois souches seulement présentent une bonne croissance sur ce milieu, et sont de ce fait capable d'utilisée l'Apyros comme seul source de carbone et d'énergie.

L'une des trois souches capables d'utiliser l'Apyros comme seule source de carbone et d'énergie, est testée pour son aptitude à dégrader ce même herbicide sur le milieu MSM liquide additionné de l'Apyros (0.1g/l).Le suivie de la dégradation de cet herbicide est réalisé par chromatographie à haute performance (HPLC).

Les résultats montrent une diminution progressive de la concentration du sulfosulfuron, qui s'accompagne par une croissance microbienne révélée par l'augmentation de l'absorbance du milieu.

L'étude de la dégradation de l'herbicide Apyros par l'extrait enzymatique de la souche étudiée montre que 95% du substrat à été dégradé par cet'extrait enzymatique. L'étude des caractéristique morphologiques (macroscopiques et microscopiques), ont permis de rapproches la souche étudiée au genre *Nocardia*

L'importance de ses souches sur le plan de biotechnologie nous a orienté de fixé les objectifs suivants :

- ❖ Confirmer l'identification de ces souches par des tests chimiotaxonomique et des analyse phylogénétiques
- ❖ Extraire et purifier les molécules bioactives produites (enzymes)
- ❖ Etude des propriétés physico-chimique et la cinétique de ces enzymes
- ❖ L'utilisation de ces enzymes dans le domaine de biotechnologie (dépollution biologique des sols polluées par l'herbicide Apyros)

REFERONCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

A. Desbordes, 2000. La pollution des eaux souterraines en Picardie.

Alexander, M. (1985). Biodegradation of organic chemicals. *Environmental Science & Technology*, **19**: 106-111.

Alexander, M. (1994). Biodegradation and bioremediation. Academic Press, A division of Harcourt Brace & Company. New York.

Ariast E.M., Lopez P.E., Martinez C .E., Simal G.J ., Merut J.C., Garcia R.L.2008.The mobility and degradation of pesticide in soils and the pollution of ground water resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **123** : 247-260.

Aubert J.N., Barbier J.M., Carpentierx A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P., Savini I., Voltz M., 2005.Pesticides,agriculture et environnement : Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux ; Rapport d'expertise scientifique collective, INRA et CEMAGREF. France. 64p.

Ashelford, K. E., Norris, S. J., Fry, J. C., Bailey, Mark J., et Day, M. J. (2000). Seasonal population dynamics and interactions of competing bacteriophages and their host in the rhizosphere. *Applied Environmental Microbiology*, **66**, 4193-4199.

Baize D.,Jabiol B., (1996).Guide pour la description des sols .technique et pratiques paris. INRA.P.375.

Beck A.I., Alcock R.E., Wilson S.C., Wang M.I., Wild S.R., Sewart A.P., Jones K.C., 1995-Long-term persistence of chemicals in sewage sludge – amended agricultural land: a soil perspective. *Adv. Agron.*, **55**,345-391.

Berger, B.M., Janowitz, K., Menne, H.J., and Hoppe, H.H. (1998).Comparative study on microbial and chemical transformation of eleven sulfonylurea herbicides in soil.*Z. Für Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* **105**, 611–623.

Bergey'sManual of Détermination bacteriology, ninth édition,(1994).

Bernier, D. (2002). Impact des herbicides dans l'eau et le terreau. In *Agri-réseau. Légumes de serres.*

Beyer, E.M., Duffy, M.F., Hay, J.V., and Schlueter, D.D. (1988). Sulfonylurea. In *Herbicides: Chemistry, Degradation, and Mode of Action*, P.C. Kearney, and D.D. Kaufman, eds. (New York), pp. 117–183.

Bouffard, V., 2000. Milieux humides artificiels pour l'amélioration de l'efficacité de traitement des eaux usées domestiques d'une petite municipalité. p.150.

Brown, H.M. (1990). Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylureaherbicides. *Pestic. Sci.* **29**, 263–281.

Burrus, V. et Waldor, M. K. (2004). Shaping bacterial genomes with integrative and

conjugative elements. *Research in Microbiology*, **155**, 376-386.

Californiadepartment of pesticide regulation, (2008). Active IngredientSulfosulfuron. Public report. California. **P. 8**.

Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., CharnayCapkin E., Altinok I., Karahan S.2006. Water quality and fishsize affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticides, to rainbow trout chemosphere, 64:1793-1800

Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M. P. & Coquet Y., (2005). Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales. Edition France Agricole. **P. 255, 257, 272, 489, 491**

Camille Delarras, (2007). Microbiologie pratique pour laboratoire : d'analyse ou de **CIRAD-CA GEC AMATROP, 2000**. Les herbicides. agroecologie.cirad.fr /2007/docs/1015714804.pdf. P1-7.

Colombano, S, Saada, A, Guerin, V, Bataillard, P, Bellenfant, G, Beranger, S, Hube, D, Blanc, C, Zornig, C, Giradeau, I. (2010) *Quelles technique pour quels traitements-Analyse coûts-bénéfices* (Étude réalisée dans le cadre des projets de Service public du BRGM 08POLA06 correspondant à la convention BRGM-MEEDDAT 2008 n° 0001386). France, BRGM Géosciences pour une Terre durable, 403 p.

Cuppenj.G.M., Vanden Brink P.J.,Camps E. Uil K.F., Brock T.C.M.2000.Impact of the fongicidecarbendazin in fresh water micro cosms. Water quality breakdown of particulate organic matter and responses of macroinvertetrates.*Aquat Toxicol*,48:233-250.

Davison, J. (1999). Genetic Exchange between Bacteria in the Environment.*Plasmid*, **42**, 73-91.

De Liphthay, J. R., Sørensen, Sebastian R., et Aamand, Jens (2007). Effect of herbicide concentration and organic and inorganic nutrient amendment on the mineralization of mecoprop, 2, 4-D and 2, 4, 5-T in soil and aquifer samples.*Environmental Pollution*, **148**, 83-93.

Depti. G etAbhinav.M. (2015).Isolation and characterization of sulfosulfuron utilizing bacteria from weat cultivated soil. *International journal of current microbiology and applied sciences*. 4(8),1049-1056.

De Schrigver A¹.De Mot R.Crit microbial.1999:25(2):85-119

De Souza, M., Sadowsky, M., etWackett, L. (1996). Atrazine chlorohydrolase from *Pseudomonas* sp. strain ADP: gene sequence, enzyme purification, and protein characterization. *Journal of Bacteriology*, **178**, 4894-4900.

Dick, R. E. ET Quinn, J. P. (1995). Glyphosate-degrading isolates from environmental samples: occurrence and pathways of degradation. *AppliedMicrobiology and Biotechnology*, **43**, 545-550.Document d'aide technique pour les normes directives et objectif associés à la qualité de l'eau potable en Ontario. (2003).

Dommergues Y., et Mangenot F., (1970). Ecologie microbienne du sol. Masson et

Cie (Eds.), Paris.

Dueso, N, Cadière, F (2009). *Traitabilité des sols pollués*. Guide méthodologique pour la sélection des techniques et l'évaluation de leurs performances. France, Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME) ,124 p.

Dupont, R.R (1993). Fundamentals of Bioventing Applied to Fuel Contaminated Sites. *Environmental Progress ENVPDI*, 12,n°1.
<http://search.proquest.com.ezproxy.usherbrooke.ca/espm/docview/19156929/13CAAFDDDF57C4DA3E9/1?accountid=13835> (Page consultée le 1 mars 2013).

Edelahi D. M. C., (2004). Contribution à l'étude de dégradation un situ des pesticides par procédés d'oxydation avancés faisant intervenir le fer .Application aux herbicidesphénylurées. Thèse (docteur de l'Université de Marne la Vallée).Chapitre 1, p. 22-25.

El-Meleigy, M. A.1; Mokhtar, M. M.2; Mohamed, H.F.3 and Salem, M. S. (2011).Morphological, Biochemical and Sequence-Based Identification of Some Selenium Tolerant Actinomycetes.New York Science Journal, 4(8).

ELMHOLT S., FRISVAD J.C., THRANE U., 1991. The influence of fungicides on soil mycoflora with special attention to tests of fungicide effects on soilborne pathogens. In **ALTMAN J. : Pesticide interactions in crop production: beneficial and deleterious effects.** CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 227-243.

El Sebai, T., Lagacherie, B., Soulas, Guy, et Martin-Laurent, F. (2004). Isolation and characterisation of an isoproturon-mineralisingMethylopila sp. TES from French agricultural soil.*FEMS Microbiology Letters*, **239**, 103-110.
[http://www.Agrireeau.qu.ca/legumesdeserre/Documents/JHR%20SERRES%202002%20TEXTE%20DBernier%20Impact%des herbicides.pdf](http://www.Agrireeau.qu.ca/legumesdeserre/Documents/JHR%20SERRES%202002%20TEXTE%20DBernier%20Impact%des%20herbicides.pdf) (page consultée le 01/14 201).

Elwan S.H., Dab A. and Al-Gounaim Y. (1985). Ecology of the Streptomycetes.

Environnement Canada (2010). Méthane, dont la formule moléculaire est CH₄. In Environnement Canada. La Liste des substances toxiques gérées sous la LCPE 1999 (l'annexe 1).
<http://www.ec.gc.ca/toxiques-toxics/Default.asp?lang=Fr&n=98E80CC6-1&xml=34BCA9B2-5EAF-4203-BB4D-5AAA517693F8> (Page consultée le 2 février 2013).

Ensign J.C., Normand p., Burden J.P. and Yallop C.A. (1993).Physiology of some Actinomycetes genera. *Rev. Microbiol.* **144**, 657-660.

EPPO, 1993a.Decision-making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products, Chapter 8, Earthworms.*EPPO Bulletin*, 23, 131-149.

F. Fdil, 2004. Etude de la dégradation des herbicides chlorophénoxyalcanoïques Par des procédés photochimique et électrochimique. Applications environnementales. Thèse (Docteur de l'Université de Marne-La-Vallée). Chapitre 1 (p 8-25).

Fenske R. A. , Kedan G., Luc, Fisker Andersen J.A., Curl C. L., (2002). Assessment of organophosphorus pesticide exposures in the diets of preschool children in Washington State. *J. Exposureanalysis environ. Epidermal*, p. **21-28**.

F. Pelletier, 1992. Impact de différentes pratiques culturales sur la persistance de l'herbicide atrazine et sur la biomasse microbienne du sol. Mémoire INRS-Eau (Québec). Chapitre 1(p 6-18) et chapitre 2 (p30-36).

Fomsgaard, I. S. et Kristensen, K. (1999). Influence of microbial activity, organic carbon content, soil texture and soil depth on mineralisation rates of low concentrations of ¹⁴Cmecoprop-development of a predictive model. *EcologicalModelling*, **122**, 45-68.

Fournier J., 1988. Chimie des pesticides. Culture et technique. Agence de Coopération et Technique; Universités d'Angers, P.350.

Funchain, P., Yeung, A., Stewart, J., Clendenin, W. M., et Miller, J. H. (2001). Amplification of mutator cells in a population as a result of horizontal transfer. *Journal of Bacteriology*, **183**, 3737-3741.

Garcia-Gonzalez, V., Govantes, F., Shaw, L. J., Burns, R. G., etSantero, E. (2003). Nitrogen control of atrazine utilization in *Pseudomonas* sp. strain ADP. *AppliedEnvironmentalMicrobiology*, **69**, 6987-6993.

Gauvrit, C. (1996). Efficacité et sélectivité des herbicides. Editions Quae. Paris.

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

Giardina M.C.,Giardi M.T. and Filacchione G. (1982).Atrazine metabolism by *Nocardia*. Elucidation of the initial pathway and synthesis of potential metabolites, *AgricBiol Chem*. **46**, 1439-1445.

Goodfellow M. and Williams S.T. (1983).Ecology of actinomycetes.*Annu. Rev. Microbiol.* **37**, 189-216.

Goodfellow, M. & A. G. O'Donnell, (1989). Search and discovery of industriallysignificant actinomycetes. Proceeding of the 44th Symposium on Society for General Microbiology, (SCGM'89).Cambridge UniversityPress, Cambridge. **343-383**.

HALL R.J., 1987.Impact of pesticides on bird populations. In G.J. Marco *et al.* :*Silent spring revisited*. Am. Chem. Soc., Washington, DC, USA, 85-111.

Hang, B.-J., Hong, Q., Xie, X.-T., Huang, X., Wang, C.-H., He, J., and Li, S.-P. (2012).SulE, a sulfonylurea herbicide de-esterification esterase from

HansschlegeliazhihuaiaaeS113. Appl. Environ. Microbiol. 78, 1962–1968.

Harley j, Klein D. and Prescott L.(2003).Les bactéries : les Gram-positives riches en G C dans le Bergey. In : Microbiologie. 2^{ème} éd.Espagne.537-530.

Hayakawa, M., (2008). Studies on the isolation of rare actinomycetes in soil. Actinomycetol. **22: 12-19.**

Hay. (1990).CHAPITRE II LES HERBICIDES SULFONYLUREES. Brown et Cotterman. (1994).

H. Coulibaly, 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. Mémoire (DEPA. France). Chapitre 2 (p13-20).

Hussain, S., Sørensen, Sebastian R., Devers-Lamrani, M., El-Sebai, T., et Martin-

Khelifa N., Abrous O. & Aid F., (2003). Effets du sulfosulfuron sur la germination et la croissance des plantules de Soja (*Glycine max L.*). annales de l'institut national agronomique, El Harrach. Vol. **24, 1 et 2**

Lacey J., (1973). Actinomycetes in soils, composts and fodders. Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser., **2, 231-51.**

Lara D.Sette,Valeria M .de Oliveria et Gilson P.Manifio,(2005).Isolation and caracterization of alchlor-degradingactinomycetesfromsoil.Tonie van Leewenhoek.87 :81-89

Laurent, Fabrice (2009).Characterization of an isoproturon mineralizing bacterial culture enriched from a French agricultural soil. *Chemosphere*, **77**, 1052-1059.7

LechevalierM.P.andLechevalier H., (1985).biologieofactinomycetes not belonging to genus Streptomyces In: biology of industrial microorganisms.thebenjamen Cummings publishing company, Inc,pp.315-316.

Ishizawa S. and Araragi M. (1976).Composition of actinomycetes population in soil. In: Actinomycetes, the boundary microorganisms. Arai T. (Eds.) Toppan Co. Ltd, Tokyo, 97-107.

JENSEN A.A., 1983.Chemical contaminants in human milk.*Res. Rev.*, 89, 1-128.

J. Marc, 2004. Effets toxiques d'herbicides à base de glyphosate sur la régulation du cycle cellulaire et le développement précoce en utilisant l'embryon d'oursin. Thèse (docteur de l'université de Rennes1). Chapitre (p 13-19).

Junghans M.,BackhausT.,Faust M.,ScholzeM., Grimme L.H., (2003).Toxicityof sulfonyleurea herbicides to green algascenendesmusvaculotus : predicatability of combinationeffects.bulletin of environmental contamination and toxicology ,71 :585-593

Kalakoutskaa L.V. and Agre N.S. (1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes.*Bacteriol.Rev.* **40 (2)**, 469-524.

Références bibliographiques

Knackmuss, H. J. (1981). Degradation of halogenated and sulfonated hydrocarbons. Academic Press. Leisenger, T.; Cook, A.M.; Huller, R.; Nuesch, J

Küster E. & S. T. Williams., (1964). Selection of media for isolation of *Streptomyces*. Nature, London. **202: 928**

Kieser T., Bibb M. J., Buttner M. J., Chater M. F. & Hopwood D. A., (2000). Practical *Streptomyces* Genetic. Jhon Innes Foundation. Norwisch Research Park, Colney, Norwisch NR4 7 UH, England.

Lacey J. (1973). Actinomycetes in soils, composts and fodders. *Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser.*, **2**, 231-51.

Lacey J. (1997). Actinomycetes in composts. *Ann. Agr. Env. Med.* **4**, 113-121.

Le BLANC G.A., 1995. Are environmental sentinels signaling, Environmental Health Perspectives, 103, 888-890.

Lechevalier M.P. and Lechevalier H. (1985). Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* In: Biology of industrial microorganisms. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc. 315-316.

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

LINDERS J.B.H.J., JANSMA J.W., MENSINK B.J.W.G., OTERMANN K., 1994. *Pesticides : benefaction or Pandora's box? A synopsis of the environmental aspects of 243 pesticides*. National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM), report n° 679101014, Bilthoven, Pays-Bas.

Loi algérienne N°87-17 relative à la protection phytosanitaire. 1987. Journal officiel de la république algérienne N°32 du 05-08-1987.

Lòpez B.C, Gòmez Á.S, Rey G.M., Caucho GB., Simal GJ. 2005. Detrmination of carbamates and organophosphorus pesticides by SDME-GC in natural water , Analytical and bioanalytical chemistry. **383(4) : 557-561.**

Lorenz, M G et Wackernagel, W (1994). Bacterial gene transfer by natural genetic Transformation in the environment. *Microbiology Reviews*, **58**, 563-60.

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

Mandelbaum, R., Allan, D., et Wackett, L. (1995). Isolation and Characterization of a *Pseudomonas* sp. That Mineralizes the s-Triazine Herbicide Atrazine. *Applied Environmental Microbiology*, **61**, 1451-1457.

McCourt, J.A., and Duggleby, R.G. (2006). Acetohydroxyacid synthase and its role in

thbiosynthetic pathway for branched-chain.AminoAcids. 31, 173–210.

Mérian E.,(1991). Metals and their compounds in the environment: occurrence, analysis and biological relevance.wiley –VCH- Weinheim (Allemagne)

Mincer, T. L., P. R. Jensen, C. A. Kauffman& W. Fenical, (2002). Wide spread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in oceansediments. *App. Environ. Microbiol.* **68: 5005-5011.**

Ministère du Développement durable, Environnement, Faune et Parcs (1999). Lignes directrices pour le traitement de sol par biodégradation, bioventilation ou volatilisation. *In* Gouvernement du Québec. *Terrains contaminés.* <http://www.mddep.gouv.qc.ca/sol/terrains/lignes-traitement-biodegrad-bioventil-volatil.pdf> (Page consultée le 12 février 2013).

Nègre, M., Baiocchi, C., and Gennari, M. (2005). Cinosulfuron: chemical and biological degradability, adsorption and dissipation in flooded paddy field sediment. *Pest Manag. Sci.* **61, 675–681.**

Ochman, H., Lawrence, J. G., et Groisman, E. A. (2000). Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature*, **405**, 299-304.

Ochman, H. (2005). Examining bacterial species under the specter of gene transfer and exchange. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **102**, 6595-6599.

O'Donnel A.G. (1988). Recognition of novel actinomycetes.*In: Actinomycetes in biotechnology.* Goodfellow M. Williams S.T. and Mordarski M. (Eds), Academic Press.London.

Office québécois de la langue française (2013). Bioterre. *In* Gouvernement du Québec. *Vocabulaire de la décontamination des sols.* http://www.oqlf.gouv.qc.ca/ressources/bibliotheque/dictionnaires/terminologie_decontamination_sols/bioterre.html (Page consultée le 15 janvier 2013).

Omura S. (1992). Trends in the search for bioactive microbial metabolites.*J. ind.Microbiol.*, **10**, 135-156.

Ottow, J. C. G. & H. Glathe, (1968). Rose Bengal- malt extract- agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetesfrom soil. *Appl. Microbiol.* **16, 1: 170-171**

Ouhdouch Y., Barakate M. & Finance C., (2001). Actinomycetes of maroccan habitats : isolation and screening for antifungalactivities .*Eur.j. Biol.* **37: 69 -74.**

Pandey, G. et Jain, R. K. (2002). Bacterial Chemotaxis toward Environmental Pollutants: Role in Bioremediation. *Applied Environmental Microbiology*, **68**, 5789-5795.

Parales, R. E., Bruce, N. C., Schmid, A., etWackett, L. P. (2002). Biodegradation, biotransformation, and biocatalysis (B3). *Applied Environmental Microbiology*, **68**, 4699-4709

Pimentel D., Acquay H., Biltonen M., Rice P., Silva M., Nelson J., Lipner S., Giordan S., Horowitz A., D'amore M., 1993. Assessment of environmental and economic impacts of pesticide use. In: D. PIMENTEL & H. LEHMAN: *The pesticide question: environment, economics and ethics*. Routledge, Chapman and Hall, New York, pp. 47-84.

Rhine, E. D., Fuhrmann, J. J., et Radosevich, M. (2003). Microbial community responses to atrazine exposure and nutrient availability: Linking degradation capacity to community structure. *Microbial Ecology*, **46**, 145-160.

Relyea R.A 2009. Acock tail of contaminants: How mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. *Oecologia*, 159(2):363-376.

Rouchaud, J., Neus, O., Cools, K., and Bulcke, R. (1999). Flupyr-sulfuron Soil Dissipation and Mobility in Winter Wheat Crops. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3872–3878.

Roudier, P (2005). Techniques de réhabilitation des sites et sols pollués-Fiches de synthèse. In Pack : Génie civil. <http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/construction-th3/les-travaux-souterrains-et-les-depollutions-42551210/techniques-de-rehabilitation-des-sites-et-sols-pollues-c5582/desorption-thermique-in-situ-c5582niv10011.html> (Page consultée le 20 janvier 2013)

Russell E.W., 1973. *Soil conditions and plant growth*. Longman, London.

Sarmah, A.K., and Sabadie, J. (2002). Hydrolysis of sulfonylurea herbicides in soils and aqueous solutions: a review. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6253–6265.

Schmidt, S.K., Scow, K.M., et Alexander, M. (1987). Kinetics of p-nitrophenol mineralization by a *Pseudomonas* sp.: effects of second substrates. *Applied. Environmental Microbiology.*, **53**, 2617-2623.

Schweizer, J. W (1996). The benefits of bioventing. *Pollution Engineering*, 28, n°5. <http://search.proquest.com.ezproxy.usherbrooke.ca/docview/220985182> (Page consultée le 28 février 2013).

Sharma, S., Banerjee, K., and Choudhury, P.P. (2012). Degradation of chlorimuron-ethyl by *Aspergillus niger* isolated from agricultural soil. *FEMS Microbiol. Lett.* **337**, 18–24.

Siegrist, R.L, Crimi, M, Palaia, T.A, Simkin, T.J, Petri, B (2008). In situ chemical oxidation design protocol and technology practices manual. *Environmental sciences and pollution management Database*.

Sims, G.K. (2006). Nitrogen starvation promotes biodegradation of N-heterocyclic compounds in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **38**, 2478-2480.

Slater, J. H. (1984). Genetic interactions in microbial communities. Current perspectives in microbial ecology ASM. Klug, M.J., Reddy, C.A

Sondhia, S., and Singhai, B. (2008). Persistence of sulfosulfuron under wheat cropping system. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **80**, 423–427.

Sondhia, S., Waseem, U., and Varma, R.K. (2013). Fungal degradation of an acetolactate synthase (ALS) inhibitor pyrazosulfuron-ethyl in soil. *Chemosphere*. In print.

Soulas, G. (1990). Dégradation biologique d'un herbicide, l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) dans le sol. Aspects cinétiques. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine. ENSAIA.

Sørensen, S. R., Ronen, Z., et Aamand, J. (2001). Isolation from agricultural soil and characterization of a *Sphingomonas* sp. able to mineralize the phenylurea herbicide isoproturon. *Applied Environmental Microbiology*, **67**, 5403-5409

SPEA, R., 1991. Recognised and possible exposure to pesticides. In W.J. Hayes & E.R. Laws, E.R. : *Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press, San Diego, CA, USA, 245-274..

Streber, W. R., Timmis, K. N., et Zenk, M. H. (1987). Analysis, cloning, and high-level expression of 2, 4-dichlorophenoxyacetate monooxygenase gene *tfdA* of *Alcaligenes eutrophus* JMP134. *Journal of Bacteriology*, **169**, 2950-2955.

Suzuki K., Nagai K., Shimizu Y. and Suzuki Y. (1994). Search for actinomycetes in Screening for new bioactive compounds. *Actinomycetologica*, **8**, 122-127. <http://search.proquest.com.ezproxy.usherbrooke.ca/espm/docview/20687752/13CCB1BD8473B248EB5/5?accountid=13835#center> (Page consultée le 5 février 2013)

Site web : [www. Aci-algerie.com/ index.php/aci/content/pdf/472](http://www.Aci-algerie.com/index.php/aci/content/pdf/472).

Shirling E.B. & Gottlieb D., (1966). Methods of characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Sys. Bacteriol.* **16 (3): 313-340.**

Thomas, C. M. et Nielsen, K. M. (2005). Mechanisms of, and Barriers to, Horizontal Gene Transfer between Bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, **3**, 711-721.

Trevors, J. T. (1996). DNA in soil: adsorption, genetic transformation, molecular evolution and genetic microchip. *Antonie van Leeuwenhoek*, **70**, 1-10.

Turnbull, G., Cullington, J., Walker, A., et Morgan, J. (2001). Identification and characterisation of a diuron-degrading bacterium. *Biology and Fertility of Soils*, **33**, 472-476.

Williams S.T. and Davies F.L. (1965). Use of antibiotics for selective isolation and enumeration of actinomycetes in soil. *J. Gen. Microbiol.* **38**, 251-261.

Williams, S. T. & Wellington E., (1982). Actinomycetes. *In* Methodes of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy monograph N°. 9 (Second Edition). Ed., A. L., ASA-SSSA. Madison. P. **969-987**

WHO-UNEP, 1989. *Public health impact of pesticides used in agriculture*. World Health Organization-United Nations Environment Programme. Genève, Suisse

Ying Hou, Jian Tao, Wenjing Shen, Juan Liu, Jingquan Li, Yongfeng Li, Hui Cao & Zhongli Cui, (2011). Isolation of the fenoxaprop-ethyl (FE)-degrading bacterium

Références bibliographiques

Rhodococcus sp. T1, and cloning of FE hydrolase gene. Jiangsu Agricultural Academy, Nanjing, China. **10.1111/j.1574-6968.**

Zaki M.M., E.A.Saleh, A.Rahal and Sonya H.Mohamed (2012). Streptomyces species able to utilize some herbicide as nitrogen and carbon sources. *Park.J.Biotechnol.* **9(2)**, 57-70.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXES:

Les Milieux de culture :

Milieu MSM

K ₂ HPO ₄	1.5g
KH ₂ PO ₄	0.5g
NH ₄ NO ₃	1.0g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.10
Na Cl	1.0g
Eau distillé	1000ml
PH	07

Milieu ISP 1

Tryptone	5g
Extrait de levure	3 g
Eau distillé	1000ml
PH=	7-7.1

Milieu ISP 2

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Glucose	4 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g
PH	7,2

N.B : l'ajustement des **PH** des milieux de culture à l'aide d'une solution de **KAOH 1N** ou une solution de **HCL 1N** SELON LE CAS.

ANNEXES

Les solutions :

Tompson phosphate saline

Na Cl	8.0g
KCl	0.2g
Na ₂ HPO ₄	1.42g
KH ₂ PO ₄	0.24g
Eau distillé	1000ml
PH7	

Résumé

Résumé :

A partir d'un sol agricole traité par l'herbicide Apyros (sulfosulfuron) douze souches isolées par Mme Zermane sont purifiées sur le milieu ISP2.

Après purification, ces souches sont testées pour leur capacité à utiliser l'herbicide apyros comme seul source de carbone et d'énergie sur le milieu MSM solide, les résultats montrent que trois souches seulement le sont.

L'étude de la cinétique de biodégradation du même herbicide par l'une des trois souches actives, est réalisée par analyse chromatographique à haut performance. Les résultats montrent que la souche est capable de dégrader le sulfosulfuron à un taux de 98%.

La diminution de la concentration du sulfosulfuron au cours du temps, s'accompagne avec une augmentation de l'absorbance microbienne, ce qui indique que la souche utilise le sulfosulfuron comme seule source de carbone et d'énergie.

L'étude de la dégradation de l'herbicide apyros par l'extrait enzymatique de la souche étudiée montre que 95% du substrat est dégradé.

L'étude des caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) de la souche étudiée, ont permis de rapprocher cette souche au genre *Nocardia*

Mot clé : actinomycètes, herbicide, Apyros, sulfosulfuron, biodégradation, extrait enzymatiques.

Abstract

Abstract:

From an agricultural soil treated with herbicide Apyros (sulfosulfuron) .twelve strains isolated by Ms. Zermane are purified on ISP2 environment.

After purification, these strains are tested for their ability to use the herbicide apyros as sole source of carbon and energy on the MSM solid medium, the results show that only three strains are.

The study of the biodegradation kinetics of the same herbicide by one of three active strains is carried out by high performance chromatographic analysis. The results show that the strain is capable of degrading sulfosulfuron at a rate of 98%.

The decrease of the concentration sulfosulfuron over time is accompanied with an increase in microbial absorbance, indicating that the strain used sulfosulfuron as sole source of carbon and energy.

The study of the degradation of the herbicide apyros by the enzymatic extract of the strain studied shows that 95% of the substrate is degraded.

The study of morphological (macroscopic and microscopic) of the strain studied, have helped bring this strain under *Nocardia*

Key word: actinomycetes, herbicide, Apyros, sulfosulfuron, biodegradation, and enzyme extract.

ملخص :

عزل اثنا عشر (12) سلالة من طرف السيدة زرمان من تربة زراعية معالجة مسبقا بمبيد الاعشاب الضارة "ابيروس" (سلفوسلفرون) على وسط

بعد تنقيتها، يتم اختبار هذه السلالات لقدرتها على استخدام مبيدات الأعشاب الضارة "ابيروس" كمصدر وحيد للكربون والطاقة على وسط معدني صلب ، فقد بينت النتائج أن ثلاثة سلالات اعطت نموًا جيدًا على الوسط.

ويتم دراسة حركية تحلل "الابيروس" لسلالة واحدة من ثلاث سلالات نشطة من قبل التحليل الكروماتوغرافي عالي الأداء. وأظهرت النتائج أن السلالة قادر على هدم 98% من المادة الفعالة سلفوسلفرون.

انخفاض في تركيز المادة الفعالة سلفوسلفرون على مر الزمن، وتراقبه زيادة في امتصاص الميكروبات، يشير إلى أن سلالة تستخدم سلفوسلفرون كمصدر وحيد للكربون والطاقة

تظهر الدراسة من هدم مبيدات الأعشاب ابيروس من استخراج الانزيمات قدرة هذه السلالة على هدم 95% من سلفوسلفرون.

الدراسة المورفولوجية (العينية و المجهرية) التي اجريت لسلالة الاكثر نشاطا مكننت في تصنيفها في جنس *Nocardia*

الكلمات الدالة: الشعاعية، مبيدات الأعشاب، ابيروس، سلفوسلفرون، والتحلل البيولوجي، واستخراج الانزيم.

Thème : Cinétique de biodégradation de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron) par des souches d'actinomycètes isolées d'un sol agricole contaminé par le même herbicide

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie microbienne

Résumé :

A partir d'un sol agricole traité par l'herbicide Apyros (sulfosulfuron) douze souches isolées par Mme Zermane sont purifiées sur le milieu ISP2.

Après purification, ces souches sont testées pour leur capacité à utiliser l'herbicide apyros comme seule source de carbone et d'énergie sur le milieu MSM solide, les résultats montrent que trois souches seulement le sont.

L'étude de la cinétique de biodégradation du même herbicide par l'une des trois souches actives, est réalisée par analyse chromatographique à haut performance. Les résultats montrent que la souche est capable de dégrader le sulfosulfuron à un taux de 98%.

La diminution de la concentration du sulfosulfuron au cours du temps, s'accompagne avec une augmentation de l'absorbance microbienne, ce qui indique que la souche utilise le sulfosulfuron comme seule source de carbone et d'énergie.

L'étude de la dégradation de l'herbicide apyros par l'extrait enzymatique de la souche étudiée montre que 95% du substrat est dégradé.

L'étude des caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) de la souche étudiée, ont permis de rapprocher cette souche au genre *Nocardia*

Mots clés : actinomycètes, herbicide, Apyros, sulfosulfuron, biodégradation, extrait enzymatiques.

Laboratoire de recherche : laboratoire de génie microbiologique et applications.

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHABBI Rabah (Maître Assistante « A » - UFM Constantine).

Rapporteur : ZERMANE Férial (Maître Assistante « A » - UFM Constantine)

Examineur : BENKAHOUL Malika (Maître de conférences « B » - UFM Constantine)

Date de soutenance : 22/06/2016