



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 :**

---

**Isolement et caractérisation de microorganismes résistants à  
l'insecticide chlorpyrifos et capables de l'utiliser comme seule source  
de carbone et d'énergie**

---

Présenté et soutenu par : *Soltani Imen*

Le : 01/07/2018

*Benzeroual Lamia*

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** *Abdelaziz Wided* (Maître Assistante A - UFM Constantine).

**Rapporteur :** *Zermane Férial* (Maître Assistante A - UFM Constantine).

**Examineur :** *Mergoud Lilia* (Maître Assistante A - UFM Constantine).

*Année universitaire  
2017 - 2018*



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 :**

---

**Isolement et caractérisation de microorganismes résistants à  
l'insecticide chlorpyrifos et capables de l'utiliser comme seule source  
de carbone et d'énergie**

---

Présenté et soutenu par : *Soltani Imen*

Le : 01/07/2018

*Benzeroual Lamia*

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** *Abdelaziz Wided* (Maître Assistante A - UFM Constantine).

**Rapporteur :** *Zermane Férial* (Maître Assistante A - UFM Constantine).

**Examineur :** *Mergoud Lilia* (Maître Assistante A - UFM Constantine).

*Année universitaire  
2017 - 2018*

# **Remerciements**

*Remerciant tout d'abord Dieu tout puissant de nous avoir donné la force afin de réaliser ce travail.*

*Nous remercierons notre encadreur Mme Zermane Férial (Maître Assistante classe A à l'université des frères Mentouri Constantine) pour le privilège et la confiance qu'il nous a accordés durant le stage pratique, pour son aide, le temps qu'il*

*nous a consacré et pour ses précieux conseils.*

*Nous souhaitons exprimer nos remerciements à Mme Abdelaziz Wided (maitre assistante classe A à l'université des frères Mentouri Constantine) qui nous a fait l'honneur de sa présence et d'avoir sacrifié son temps pour juger ce travail.*

*Nous remercions également Mme Mergoud Lilia ( maitre assistante classe A à L'université des frères Mentouri Constantine) qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à Mr Nabile responsable du laboratoire de l'écologie de nous avoir accueillis et fournis tout le nécessaire pour la réalisation de notre travail.*

*Aussi nous remercions la doctorante Locif Karima pour son aide et sa gentillesse.*

*Ainsi nous adressons nos sincères remerciements aux tous les enseignants du département*

*des Sciences Biologique; les chefs et les techniciennes de laboratoire Microbiologique de*

*l'Université Frères Mentouri Constantine. Sans oublier Melle. Fergani Mounia ingénieur Principal de laboratoire*

*Nos remerciements vont également à l'ensemble des personnels qui ont contribué à la*

*Réalisation de ce mémoire, d'une manière directe ou indirecte. Avec une  
mention spéciale à  
nos amis, nos collègues, pour la gentillesse et les bons moments passés  
ensemble.*

*Ainsi que tous ceux et celles qui ont participés de près ou de loin, à la  
réalisation de ce travail*



# Dédicace

*Aujourd'hui et après toutes ces années j'ai  
l'honneur et surtout le plaisir de  
Dédier ce travail de master a toutes les personnes  
qui m'aiment, qui croient en  
Moi et me donne des raisons de devenir meilleure.  
A mes très chers parents, que nulle dédicace ne  
peut exprimer mes sincères sentiments,  
pour leur patience illimitée, leur encouragements,  
leur soutien, en témoignage  
de notre profond amour et respect pour leurs  
grands sacrifices*

*A mes cher frères. : Sief elislem, Sohaibe  
,mohamed ikbel*

*Et ma belle sœur aya*

*Quoi que je fasse je ne pourrais vous rendre ce que  
vous avez fait pour moi. Si je suis arrivé la, c'est  
grâce a vous, Que dieu vous bénisses vous donne  
longe vie et vous protège pour moi.*

*A mes amies pour l'amitié et la sympathie qu'ils  
m'ont témoignées durant ces années. A toute ma  
famille « petit et grand » je dédie ce modeste  
mémoire qui est le fruit de longues années de  
travail*

*SOLTANI IMEN*

# Dédicace

Je dédie ce travail

*À mon cher père*

*Je ne suis peut être pas née assez  
avec toi, sache que ne t'ai jamais  
oubliée un jour, j'espère que tu es  
fière de moi.*

*À ma chère mama*

*la lumière de mes jours, la source de mes  
efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et  
mon bonheur ; maman que j'adore.*

*❖ Rien n'aurait été possible sans toi*

*Mama, cette réussite est donc un peu la  
mienne, mais surtout beaucoup la tienne.*

*Aucun remerciement ne serait être  
suffisant. ❖*

*À mon frère et ma chère sœur*

*Toute ma famille, mes amis et toutes  
les personnes qui ont une place  
spéciale Dans mon cœur*

*❖ Lamia ❖*



❖ Liste des abréviations	
❖ Listes des figures	
❖ Liste des tableaux	
❖ Introduction.....	01
❖ Revue bibliographique	
1. Les pesticides .....	03
1.1. Définition.....	03
1.2. L'usage des pesticides.....	03
1.3. La classification des pesticides .....	03
1.3. La classification selon leurs cibles .....	04
1.3.1. La classification selon la nature chimique.....	04
1.4. La toxicologie des pesticides .....	05
1.4.1. La toxicité pour l'homme .....	05
1.4.2 Ecotoxicité .....	06
1.5. L'impact des pesticides sur la biodiversité .....	07
1.6. Effet des pesticides sur la biologie de sol .....	07
2. Les insecticides .....	08
2.1. Définition .....	08
2.2. Le mode d'action des insecticides .....	08
2.3. La classification des insecticides.....	09
2.3.1. Les organochlorés .....	09
2.3.2. Les carbamates .....	10
2.3.3 Les pyréthrinoides de synthèse .....	10
2.3.4. Les organophosphorés .....	11
2.3.4.1. Définition.....	11
2.3.4.2. Structure chimique et propriétés physicochimiques.....	11
3. Chlorpyrifos.....	13
3.1. Définition .....	13
3.2. Le mécanisme d'action de Chlorpyrifos.....	14

## Table des matières

---

3.3. Les propriétés physicochimiques .....	14
3.4. Les techniques d'analyse.....	14
3.5. L'usage .....	15
3.6. La toxicité de Chlorpyriphos pour l'homme.....	15
3.7. Présence dans l'environnement .....	15
3.7.1. Chlorpyriphos dans les sols.....	15
3.7.2. Chlorpyriphos dans le compartiment aérien.....	16
3.7.3. Chlorpyriphos dans l'eau.....	16
4. Le devenir des pesticides dans l'environnement .....	16
5. La biodégradation des pesticides .....	17
5.1. Le concept de la biodégradation.....	17
5.2. Les mécanismes de la biodégradation.....	18
5.2.1. Le métabolisme direct. ....	18
5.2.2. Le co-métabolisme .....	19
5.2.3. La conjugaison .....	19
5.3. La dégradation abiotique.....	19

### ❖ Matériel et méthodes

1. Application de l'insecticide Dursban.....	20
2. Echantillonnage du sol.....	20
3. Les milieux et réactifs .....	21
4. Isolement des microorganismes dégradants le Dursban .....	22
4.1. Enrichissement .....	22
4.2. Préparation des dilutions .....	22
4.3. Sélection des souches capables à croître en présence de l'insecticide Dursban comme une seule source de carbone et d'énergie.....	22
4.4. Etude de la tolérance des microorganismes dégradants vis-à-vis des différentes concentrations de l'insecticide Dursban.....	22



## Table des matières

---

4.5. Mise en évidence de la dégradation de l'insecticide Dursban par les souches isolées .....	23
5. Etude de la dégradation de l'insecticide Dursban par des souches d'actinomycètes .....	23
5.1. Purification de certaines souches d'actinomycètes .....	23
5.2. Etude de la tolérance des actinomycètes purifiées vis-à-vis de différentes concentrations de l'insecticide Dursban .....	23
5.3. Mise en évidence de la dégradation de l'insecticide Dursban par les souches d'actinomycètes .....	24
6. Identification présomptive des souches actives .....	24
6.1. Identification des bactéries isolées .....	24
6.2. Identification des actinomycètes .....	27
7. Conservation des souches actives.....	27
 <b>❖ Résultats et discussion</b>	
1. Recherche des microorganismes dégradants l'insecticide Dursban (48%Chlorpyriphos).....	28
1.1 Isolement des microorganismes capables d'utiliser le Dursban comme SSCE .....	28
1.2. Etude de la tolérance de la souche X1 vis-à-vis à l'insecticide Dursban .....	28
1.3. Mise en évidence de la dégradation de l'insecticide Dursban par la souche X1.....	30

# Table des matières

---

2. Etude de la dégradation de l'insecticide Dursban par quelques souches d'actinomycètes .....	31
2.1. Purification des souches d'actinomycètes.....	31
2.2. Etude de la tolérance des souches d'actinomycètes à forte concentration de l'insecticide Dursban .....	31
2.3. Mise en évidence de dégradation de l'insecticide Dursban par les souches actinomycètes .....	33
3. Identification des souches actives.....	35
3.1. Identification présomptive de la souche X1 .....	35
3.1.1. Les caractères cultureux.....	35
3.1.2. Aspect microscopique.....	35
3.1.3. Caractères biochimiques .....	37
3.2. Identification présomptive des souches d'actinomycètes.....	39
3.2.1. Observations macroscopiques.....	39
3.2.2. Observations microscopiques.....	40
<b>❖ Conclusion et perspectives.....</b>	<b>45</b>
<b>❖ Référence bibliographiques.....</b>	<b>46</b>
<b>❖ Annexes</b>	

*Liste des abréviations*

**Ach** :acétylcholine

**AchE** : acétylcholinestérase

**ChE** :cholinestérase

**CP** :Chlorpyriphos

**DL50** :dose létale 50

**DTT** :dithiothréitol

**FAO**: Organisation pour l'alimentation et l'agriculture

**GC%**: Coefficient de Chargaff

**HCH** :hexachlorocyclohexane

**HPLC**: Chromatographie Liquide à Haute Performance

**IOP** :insecticides organophosphorés

**ISP**: *international streptomyces project*

**MA**:Mycélium aérien

**MS**:Mycélium de substrat

**OC** : organochloré

**OP** :organophosphorés

**POP** :polluants organiques persistants

**SSCE** : seule source de carbone et d'Energie

**TCP** :trichloro-2-pyridinolchlorpiryphos

**TSI**: Triple Sugar Iron Bio-Rad

Liste des figures

**Figure 1 :** Structure chimique des organochlorés.....9

**Figure 2 :** Structure générale des carbamates .....10

**Figure 3 :** Les insecticides de la classe des pyréthrinoïdes.....11

**Figure 4 :** Structure commune des Organophosphorés .....12

**Figure 05:** Processus impliqués dans le devenir des pesticides dans les sols conditionnant leurs efficacités ou leur Caractère polluant.....17

**Figure 6 :** Arbre traité par l'insecticide Dursban.....20

**Figure 7:** Echantillon de sol contaminé par l'insecticide Dursban.....21

**Figure 8 :** Souche X1 isolée sur milieu MSM gélosé additionné de Dursban.....28

**Figure 9:** Tolérance de la souche X1 à des concentrations croissantes de l'insecticide Dursban.....29

**Figure 10 :** Variation de la DO en fonction du temps de la souche X1 en présence de l'insecticide Dursban comme SSCE.....30

**Figure 11:** Tolérance de la souche A6 au Dursban à une concentration 2 fois plus forte que la dose recommandée.....32

**Figure 12:** Tolérance de la souche A1 au Dursban à une concentration 5 fois plus forte que la dose recommandée.....32

**Figure 13:** Tolérance de la souche A 12 au Dursban à une concentration 5 fois plus forte que la dose recommandée.....33

**Figure 14:** absorbance des souches A1,A6 et A 12 en fonction de temps en présence de Dursban comme SSC.....34

**Figure 15 :** Aspect macroscopique de la souche X1 sur GN.....35

**Figure 16 :** L'état frais de la souche X1(GX40).....36


## Liste des figures

---

<b>Figure 17:</b> coloration de Gram de la souche X1(GX100).....	36
<b>Figure 18 :</b> Résultats des tests biochimiques de la souche X1 (1:mannitol, 2:citrate de simmons, 3 : TSI).....	37
<b>Figure 19 :</b> test de catalase et oxydase pour la souche X1.....	38
<b>Figure 20 :</b> test urée-indole de la souche X1.....	38
<b>Figure 21 :</b> Aspect microscopique de la souche A1 (GX100) Mycélium du substrat.....	41
<b>Figure 22 :</b> Aspect microscopique de la souche A1 (GX100) Mycélium aérien et masse sporale.....	41

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Quelques familles chimiques de pesticides et leur classement selon leurs cibles .....	5
<b>Tableau 2 :</b> Modes d'action des insecticides.....	8
<b>Tableau 3:</b> Classification des insecticides organophosphorés en fonction de leur toxicité chez le rat.....	12
<b>Tableau 4:</b> Principales caractéristiques de certains organophosphorés (OP) employés en agriculture en France.....	13
<b>Tableau 5:</b> Rémanence de quelques pesticides dans le sol.....	17
<b>Tableau 6:</b> Absorbance de souche X1 en présence du Dursban comme SSCE.....	30
<b>Tableau 7 :</b> Tolérance des 3 souches d'actinomycètes à l'insecticides Dursban .....	31
<b>Tableau 8:</b> Absorbance des souches A1, A6 et A12 en présence du Dursban comme SSCE.....	33
<b>Tableau 9 :</b> Caractères cultureux de la souche X1 sur milieu GN.....	35
<b>Tableau 10 :</b> Les caractéristiques biochimiques de la souche (X1).....	39
<b>Tableau 11 :</b> Caractères cultureux de la souche(A1).....	40
<b>Tableau 12:</b> Aspect microscopique de la souche active (A1).....	42



# **Introduction**

La pollution de l'environnement causée par les pesticides et leurs produits de dégradation est un problème écologique majeur (**Guliy et al., 2003**).

L'Algérie importe en moyenne 8827 tonnes de pesticides pour un coût estimé à près de 4 milliards et demi de dinars par an (**Anonyme, 2006**). Cependant, depuis quelques années, on observe dans notre pays, que l'usage des pesticides, des fertilisants, des engrais, et autres se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles. La pullulation des moustiques urbains dans toutes les agglomérations du pays, pousse aussi les ménages à utiliser en abondance divers types d'insecticides. Cette utilisation intense de produits chimiques toxiques, à l'échelle nationale, risque de polluer gravement les sols, les nappes d'eau et menace la santé de la population (**Bouziati, 2007**).

L'utilisation des pesticides par l'agriculture présente deux aspects aux conséquences totalement opposées. Le premier concerne la nécessaire réduction des dégâts causés aux cultures par des organismes phytopathogènes et du développement des adventices pour maintenir la productivité alors que le deuxième tient à la nature même des pesticides qui en fait, dans certaines conditions, de possibles polluants de l'air, des eaux, des aliments et des sols (**Calvet et al., 2005**). La plus part des polluants arrivent au sol où leur comportement va définir leur dispersion vers d'autres compartiments de l'environnement (**Calvet, 1989**). Il a été établi que les pesticides organophosphorés (OP) constituent le plus grand groupe de pesticides utilisés dans le monde et représentent environ 38% du total des pesticides utilisés dans le monde (**Singh et Walker, 2006**).

Le chlorpyrifos est un insecticide à large spectre considéré comme l'un des pesticides organophosphorés les plus fréquemment utilisés (**Maya et al., 2011**). Son application massive a conduit à la contamination de l'eau et du sol et à la perturbation des cycles biogéochimiques (**Chishti et al., 2013**). De plus, ses résidus ont été détectés dans divers systèmes écologiques (**Xue et al., 2005**).

Par conséquent, la décontamination et la détoxification subséquentes de l'environnement pollué sont essentielles. Un certain nombre de méthodes, y compris le traitement chimique, la volatilisation, la photodécomposition peut être utilisée pour la désintoxication du chlorpyrifos (**Muhammad, 2010**). Cependant, la plupart d'entre eux ne sont pas applicables pour une contamination diffuse à faible concentration, car ils sont coûteux, inefficaces et pas toujours respectueux de l'environnement.

La biorestauration offre plusieurs avantages par rapport aux technologies conventionnelles de traitement chimique et physique, en particulier pour les contaminants



dilués et largement répandus (Iwamoto et Nasu, 2001). La biorestauration, qui implique l'utilisation de microbes pour détoxifier et dégrader les polluants, a reçu une attention accrue en tant qu'approche biotechnologique efficace pour nettoyer les environnements pollués (Belal *et al.*, 2008).

Les études sur la dégradation microbienne sont utiles pour le développement de processus de biorestauration visant à détoxifier les pesticides à des concentrations inférieures aux normes établies par les autorités de réglementation (Vidali, 2001).

L'application répétée de pesticides sur les parcelles agricoles peut conduire à l'adaptation de la microflore du sol qui acquiert la capacité de dégrader ces molécules. L'adaptation de la microflore du sol conduit à la mise en place du phénomène de biodégradation qui se caractérise par la diminution de la demi-vie des molécules actives (Topp *et al.* 2008).

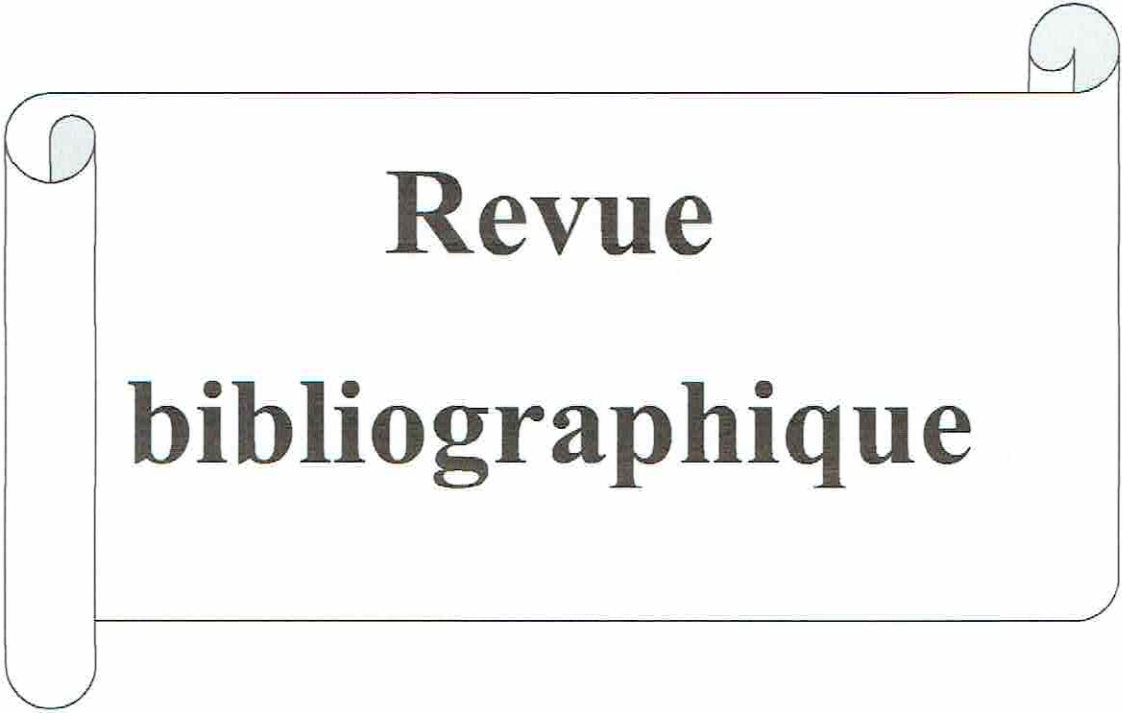
Du point de vue agronomique, la biodégradation peut, dans certains cas, être dommageable en diminuant l'efficacité du traitement phytosanitaire. Du point de vue environnemental, la biodégradation est par contre intéressante parce qu'elle réduit la persistance du produit phytosanitaire dans le sol et limitant ainsi son transfert vers les autres compartiments de l'environnement, notamment les eaux de surface et souterraines. La biodégradation représente donc à la fois un enjeu agronomique et environnemental (Devers *et al.* 2007).

Le but essentiel de notre travail est d'isoler des microorganismes capables de tolérer et dégrader un insecticide organophosphoré, très utilisé dans le monde et hautement toxique pour l'homme et son environnement, qui le Dursban (48% chlorpyrifos), et l'identification présomptive des souches actives.

La partie bibliographique, comporte des informations générales sur les pesticides et Précisément sur un insecticide organophosphoré (le chlorpyrifos) et ses effets néfastes sur l'homme et sur la nature.

La partie matériel et méthodes comporte les étapes suivantes :

- ❖ Application foliaire de cet insecticide sur un arbre situé dans notre université (UMC1) ;
- ❖ L'isolement des microorganismes dégradants le Dursban;
- ❖ Etude de la tolérance des microorganismes isolés vis à vis à l'insecticide Dursban ;
- ❖ Mise en évidence de la dégradation de Dursban par les souches isolées
- ❖ Une pré- identification des souches actives.



**Revue**  
**bibliographique**

## 1. Les pesticides

### 1.2 Définition des pesticides

Le terme pesticide dont la traduction étymologique est "tueurs de fléaux" dérive de "Pest", mot anglais désignant tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs, mammifères, oiseaux) susceptible d'être nuisible à l'homme et/ou à son environnement (**Berrah, 2011**). Selon la **FAO**, un pesticide est une substance, ou un mélange des substances, utilisé pour empêcher d'agir, détruire ou neutraliser un ravageur, un vecteur de maladie humaine ou animale, une espèce végétale ou animale nocives (**CODEX, 1984**).

### 1.2. L'usage des pesticides

Les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les champignons et les herbes nuisibles à la production et à la conservation de culture et produit agricoles et le traitement des locaux, ils sont fortement contribués à l'amélioration des rendement (**Buckley et al., 2011**).

Ces produits sont utilisés aussi dans des applications domestiques comme la protection du bois contre les champignons ou les termites, les insecticides ménagers (les mouches, les moustiques), les produits antiparasitaires (anti-acariens, antipuces ...etc.)(**Truchon et al., 2012**). Ainsi que, ils sont utilisés dans le domaine d'industrie pour la conservation des produits en cours de fabrication (textiles, papiers) pour combattre principalement les moisissures dans les circuits de refroidissement et les algues et pour la désinfection de locaux. Dans le domaine de la médecine le but principal d'utilisation des pesticides est l'amélioration de la santé publique, en particulier en luttant contre les insectes, vecteurs de pathologies contre certaines maladies comme paludisme, typhus et autres épidémies (**Benziane, 2012**).

### 1.3. La classification des pesticides

Il existe de nombreuses classifications des pesticides, en fonction de l'organisme visé, de la structure chimique du composé utilisé ou de la nature et de la gravité des risques correspondants pour la santé (**Gunng et al., 1976**).

## 1.3.1. La classification selon leurs cibles et modes d'action

Les pesticides peuvent être classés en fonction de leur cible principale. Les trois catégories principales sont :

- les herbicides, qui luttent contre les plantes adventices des cultures .
- les fongicides, qui luttent contre les champignons pathogènes .
- les insecticides, qui luttent contre les insectes nuisibles.

La grande diversité des cibles s'accompagne d'une grande variété de modes d'action, aussi bien entre les différentes catégories de pesticides qu'à l'intérieur même de ces catégories, en lien avec leurs propriétés physicochimiques, et donc toxicologiques (IAU, 2010).

## 1.3.2. La classification selon la nature chimique

Ce système de classification tient compte de la nature chimique de la substance active qui compose majoritairement les produits phytosanitaires .Il existe un très grand nombre de familles chimiques. Les plus anciennes et principaux groupes chimiques sont Les organochlorés, Les organophosphorés, Les carbamates, les triazines et les urées (Cietap, 2003). Il n'existe pas de relation univoque simple entre une famille chimique et les propriétés des molécules qui la composent, celles-ci dépendent à la fois de leur composition élémentaire et de leur structure (Calvet, 2005), en découle que certaines familles chimiques de pesticides peuvent contenir des substances ayant des cibles différentes **Tableau 1**.

**Tableau 1 :** Quelques familles chimiques de pesticides et leur classement selon leurs cibles (Afsset, 2010).

Famille chimique	Exemples de molecules	Classement selon cible
Organochlorés	<i>DDT, Chlordane, Lindane, Dieldrine, Heptachlore...</i>	Insecticides
Organophosphorés	Malathion, Parathion, Chlorpyrifos, Diazinon...	Insecticides
Pyrethrinoides	Permethrine...	Insecticides
Carbamates	Aldicarbe, Carbaryl, Carbofuran, Methomyl	Insecticides
	Asulame, Diallate, Terbucarbe, Triallate	Herbicides
	Benthiavalicarbe	Fongicides
Dithiocarbamates	<i>Mancozebe, Manebe...</i>	Fongicides
Phtalimides	Folpel, Captane, Captafol	Fongicides
Triazines	Atrazine, Simazine...	Herbicides
Phenoxyherbicides	MCPA, 2,4-D, 2,4,5-T...	Herbicides
Chloroacetamides	Alachlore...	Herbicides
Pyridines, bipyridiliums	Paraquat, Diquat...	Herbicides
Aminophosphonates glycine	Glyphosate	Herbicides

#### 1.4. La toxicologie des pesticides

Les cas d'intoxication par les pesticides ont été plusieurs fois rapportés dans les littératures (Morison *et al.*, 1966; Alexander *et al.*, 1966; Nath *et al.*, 1997; Chung *et al.*, 1996).

##### 1.4.1. La toxicité pour l'homme

Lorsqu'un pesticide atteint des zones non cibles, ce qui peut arriver de pire est que des gens s'empoisonnent. On estime à un million par année, le nombre d'intoxications accidentelles par les pesticides dans le monde et à 20 000 celui de cas mortels (WHO-UNEP,

1989). Les pesticides sont plus ou moins toxiques à l'égard de l'homme qui peut les absorber par contact (voie cutanée et voie oculaire), inhalation (voie respiratoire), ou ingestion (voie digestive) (Conso *et al.*, 2002). 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 (Jensen, 1983). 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). La toxicité, et notamment la toxicité chronique, se manifeste par des effets très divers outre la toxicité proprement dite, les effets carcinogènes, immunodépresseurs, mutagènes, neurotoxiques et tératogènes (Hayes, 1991).

Dans les effets d'ordre dermatologiques et respiratoires on observe l'irritation, de l'érythème, de l'urticaire, des éruptions cutanées, des dermatites, des allergies, la toux chronique, l'asthme, la dyspnée, la rhinite ainsi qu'une baisse de capacité ventilatoire observée chez les agriculteurs exposés aux pesticides pour ce qui est de la toxicité aiguë. (Mollier *et al.*, 2010).

Plusieurs pesticides ont été identifiés comme étant cancérigènes; les types de cancer sont les lymphomes, la leucémie ainsi que le cancer des tissus conjonctifs, du cerveau et de la prostate et des reins. Ainsi que l'exposition aux pesticides provoque certains troubles de la reproduction et du développement. Selon certains chercheurs, les agriculteurs qui utilisent des pesticides ont une densité des spermatozoïdes moins élevée que les agriculteurs possédant des fermes biologiques (Conso *et al.*, 2002).

### 1.4.2. Ecotoxicité

Au cours des traitements des plantes par des produits phytosanitaires une bonne part du produit atteint toujours le sol, où vivent des bactéries, des champignons, des algues, des vers de terre et des insectes (Russel, 1973). Ces 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), 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 imbibent le sol. Une forte pluie juste après un traitement est dangereuse pour eux (EPPO, 1993). Les pesticides et tout particulièrement les insecticides, peuvent être dangereux pour les antagonistes (compétiteurs, prédateurs et parasites) des ravageurs cibles. (Holland *et al.*,

1994) l'emploi massif de pesticides conduit en général à la diminution des effectifs d'insectes et autres invertébrés (**Linders *et al.*, 1994**).

Les morts de mammifères imputables aux pesticides sont généralement la conséquence de l'ingestion d'une nourriture contaminée (**Madhun *et al.*, 1990**).

Les pesticides peuvent provoquer des dégâts importants dans la faune aquatique, les mortalités de poissons étant les plus spectaculaires (**Pimentel *et al.*, 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 (**Linders *et al.*, 1994**). En plus d'avoir des effets négatif sur les espèces aquatiques, la présence de pesticide dans l'eau des rivières a également un impact direct sur la qualité des sources d'approvisionnement en eau potable. Ainsi que ces pesticides vont se retrouver dans les eaux souterraines et représentent une menace de la qualité de ces eaux par leur taux de solubilité (**Madhun *et al.*, 1990**).

### 1.5. L'impact des pesticides sur la biodiversité

Charles Darwin et Alfred Wallace furent parmi les premiers scientifiques à reconnaître l'importance de la biodiversité pour les écosystèmes (**Darwin *et al.*, 1858**). Les pesticides sont un facteur majeur d'incidence sur la diversité biologique, de même que la perte d'habitat et le changement climatique. Ils peuvent avoir des effets toxiques sur le court terme sur les organismes qui y sont directement exposés, ou des effets sur le long terme, en provoquant des changements dans l'habitat et la chaîne alimentaire (**Boatman *et al.*, 2007**).

### 1.6. Effets des pesticides sur la biologie des sols

Les pesticides sont prioritairement utilisés pour détruire ou repousser des insectes nuisibles aux cultures et récoltes et/ou pour détruire les adventices. Leur emploi superficiel sur les mauvaises herbes ou sur les cultures n'épargne pas le sol qui en reçoit une bonne part. Les organismes vivants des sols sont donc inévitablement en contact avec les pesticides. Ainsi, ces pesticides ou leurs produits de dégradation peuvent avoir une action directe ou indirecte sur les organismes vivants du sol (**Columa, 1977; Calvet *et al.*, 2005**).

Les pesticides peuvent être toxiques pour les microorganismes des sols. Dans ce cas, l'activité microbienne est ralentie et on assiste à une sélection des microorganismes résistants

aux pesticides ou pouvant l'utiliser comme source de carbone. Cela se traduit par des réajustements microbiens pouvant être associés à des modifications de caractéristiques physiologiques de la microflore des sols et peut être aussi à une diminution de la diversité des microorganismes (Columa, 1977 ; Barriuso *et al.*, 1996 et Savadogo *et al.*, 2007) .

## 2. Les insecticides

### 2.1. Définition

Les insecticides sont des biocides destinés à détruire les insectes : largement utilisés en agriculture pour éliminer les ravageurs (Eddleston *et al.*, 2005). Sont utilisés pour la protection des plants contre les insectes nuisibles (Tomlin, 2003). Ils interviennent en les tuant ou en empêchant leur reproduction, ce sont souvent les plus toxiques (Christine, 2008) .

### 2.2 Mode d'action des insecticides

Les insecticides ciblent le système nerveux, la croissance et le développement, ou la production d'énergie de ravageur (Scotti, 1978), ils provoquent une hyperactivité générale, perturbant les mouvements, l'alimentation et entraînent des tremblements et ou des convulsions, aboutissant à la paralysie et à la mort de la cible (Regnault-Roger , 2002). D'autres insecticides agissent sur les mécanismes respiratoires (Park *et al.*, 2002), les insecticides ne nuisent pas aux non-cibles comme les microbes du sol, ils sont devenus plus ciblés et attaquant ainsi un site particulier (Chapman *et al.*, 1976) .

**Tableau 2 : Modes d'action des insecticides (Periquet *et al.*, 2004) .**

<b>Action sur le système nerveux</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Action sur les synapses et les neuromédiateurs</li><li>• Action sur la transmission axonale</li></ul>	<b>Action sur la cuticule</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Inhibition de la chitine</li></ul>
<b>Action sur la respiration</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Inhibition du transport des électrons dans les mitochondries</li><li>• Inhibition de la phosphorylation oxydative</li></ul>	<b>Perturbateurs de mue</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Action sur l'ecdysone</li><li>• Action sur l'hormone juvénile</li></ul>



## 2.3 Classification des insecticides

Les trois plus grandes familles auxquelles appartiennent les insecticides organiques de synthèse sont (Cietap, 2003).

### 2.3.1. Les organochlorés

Les organochlorés (OC) sont un groupe de composés chlorés, ils contiennent du carbone, de l'hydrogène et des atomes de chlore (Porta *et al.*, 2002). Ces produits chimiques appartiennent à la classe des polluants organiques persistants (POP) à forte persistance dans l'environnement. Les insecticides OC ont été utilisés avec succès pour lutter contre le paludisme et le typhus, mais ils sont interdits dans la plupart des pays avancés (Aktar *et al.*, 2009). Les rapports d'évaluation sur l'utilisation de différents pesticides montrent que 40% de tous les pesticides utilisés appartiennent à la classe des produits chimiques organochlorés. Les insecticides organochlorés tels que le DDT, l'hexachlorocyclohexane (HCH), l'aldrine et la dieldrine figurent parmi les pesticides les plus utilisés dans les pays en développement d'Asie (FAO, 2005 ; Gupta, 2004 ; Lallas, 2001)

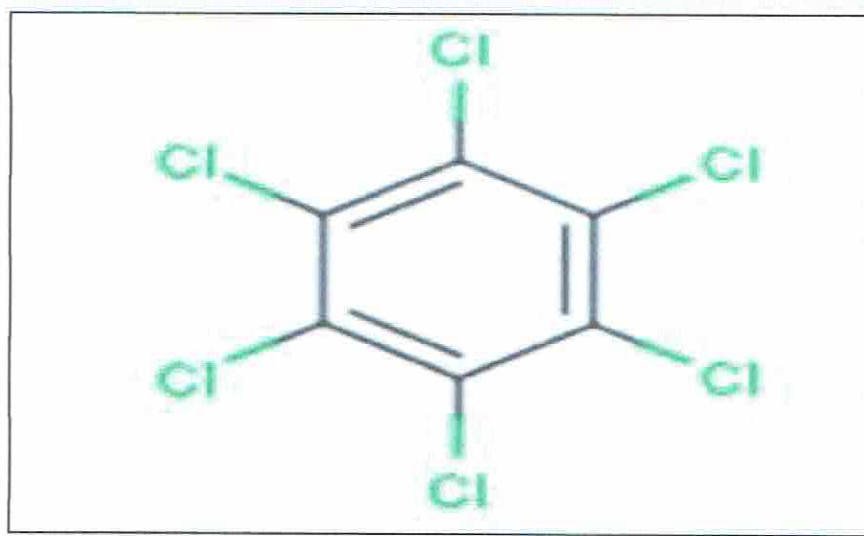


Figure 1 : Structure chimique des organochlorés (Porta *et al.*, 2002).

### 2.3.2. Les carbamates

Les carbamates sont des composés organiques dérivés de l'acide carbamique ( $\text{NH}_2\text{COOH}$ ). Le groupe fonctionnel présent dans les insecticides à base de carbamate sont des esters de carbamate. Leur mécanisme d'action est l'inactivation réversible de l'enzyme acétylcholinestérase. Les carbamates se décomposent dans l'environnement en quelques semaines ou mois (Goel *et al.*, 2007). Ces produits ont un large spectre d'action, certains sont systémiques. Ils agissent par contact et par ingestion, parfois également par inhalation, sur une grande variété d'insectes (Ecobichon, 2001 ; Agrawal *et al.*, 2010).

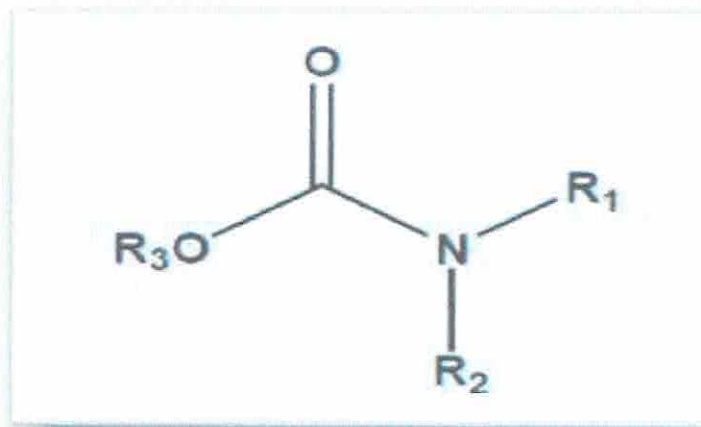


Figure 2 : Structure générale de carbamate (Hachoumi ,2013).

### 2.3.3. Les pyréthrinoïdes de synthèse

Les pyréthroïdes et les pyréthrines sont des composés organiques similaires isolés des fleurs de pyréthrines (*ChrysanthemumCoccineum* et *C. cinerariaefolium*). Les propriétés insecticides des pyréthrines proviennent d'esters céto-alcooliques d'acides chrysanthémiques et pyréthroïques (Reigert *et al.*, 1999). Les pyréthroïdes affectent les canaux sodiques et conduisent à la paralysie de l'organisme. Les pyréthroïdes ont un niveau relativement faible de toxicité pour les mammifères et ont une capacité de biodégradation rapide. L'exposition à de très hauts niveaux de composés dans l'air, la nourriture ou l'eau peut causer des vertiges, des maux de tête, des vomissements, des contractions musculaires, une faible énergie, des convulsions et une perte de conscience (Goel *et al.*, 2007).

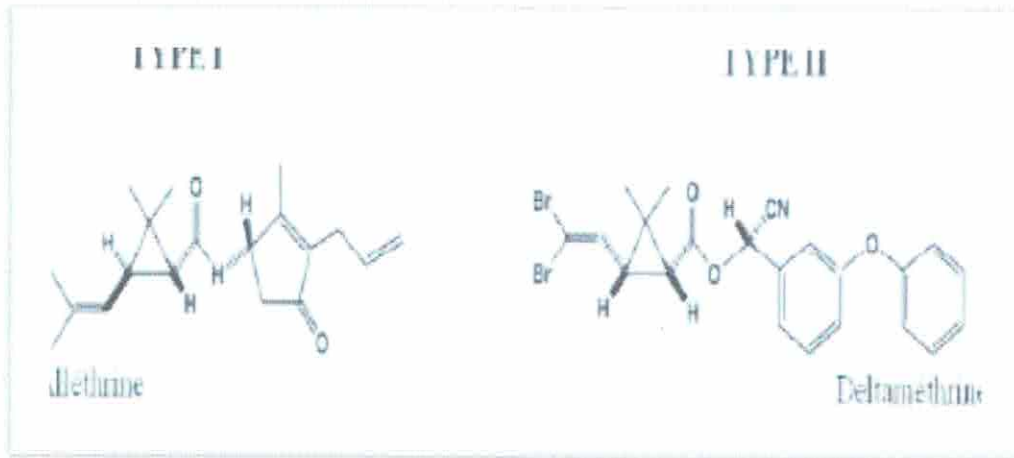


Figure 3 : Les insecticides de la classe des pyréthriinoïdes (Endris *et al.*, 2000).

### 2.3.4. Les organophosphorés

#### 2.3.4.1. Définition

Les OPP sont une classe d'insecticides hautement toxiques. Jusqu'au 21<sup>ème</sup> siècle, ils étaient parmi les insecticides les plus largement utilisés disponibles. Trente-six d'entre eux sont actuellement homologués aux États-Unis et tous peuvent potentiellement causer une toxicité aiguë et subaiguë. Les organophosphorés sont utilisés dans l'agriculture, les maisons, les jardins et les cabinets vétérinaires. Cependant, au cours de la dernière décennie, plusieurs d'OPP notables ont été arrêtés pour utilisation (Dubois, 1971).

#### 2.3.4.2. Structure chimique et propriétés physico-chimiques

Ce sont des dérivés esters, amides ou soufrés des acides phosphoriques, phosphoniques, phosphorothioiques ou phosphonothioiques. La plupart des OPP sont peu solubles dans l'eau, peu volatils, mais très liposolubles, tous sont dégradés par hydrolyse avec formation de dérivés hydrosolubles non toxiques (Minton, 1988). La DL50 par voie orale ne dépend pas exclusivement de leur toxicité propre, mais fait intervenir d'autres facteurs, en particulier leur facilité de pénétration dans l'organisme. Elle permet de les classer en quatre groupes de toxicité croissante **Tableau2**

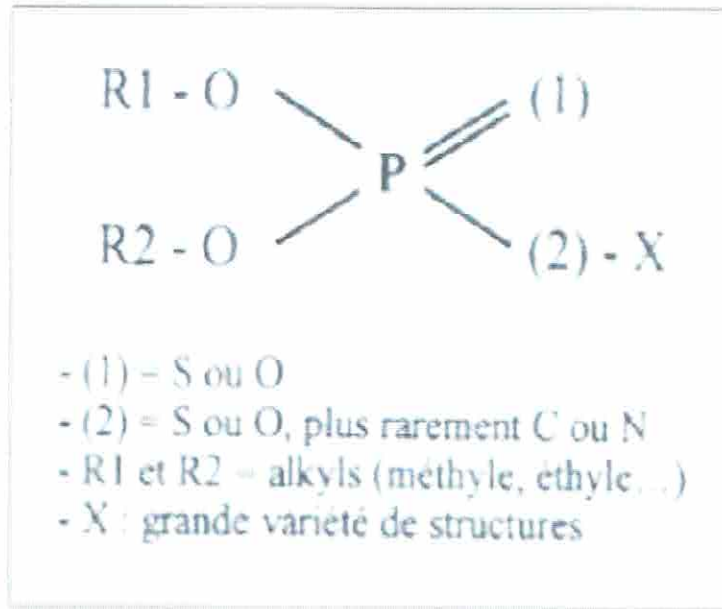


Figure 4 : Structure commune des Organophosphorés (Laurentin ,2009).

Tableau 3: Classification des insecticides organophosphorés en fonction de leur toxicité chez le rat (Minton *et al.* ,1988).

DL50 (mg/kg)	Exemple	Toxicité	Utilisation
60-1 300	Malathion	Faible	Insecticide de contact à large spectre
30-50	Dichlorvos	Modérée	Insecticide de contact
1-30	Chlorfenvinphos	Importante	Insecticide de contact

Il existe plus de 40 organophosphorés sur le marché, vendus sous plusieurs centaines de noms de marques différents, tant pour les agriculteurs que pour l'usage ménager (Eddleston *et al.*, 2005).

**Tableau 4:**Principales caractéristiques de certains organophosphorés (OP) employés en agriculture en France (**Eddleston et al., 2005**)

	Classement (OMM)	DL <sub>50</sub> chez le rat par voie orale (mg/kg)	Caractéristiques particulières	Persistance d'action	Teneurs maximales en résidus (mg/kg)	DJA (µg/kg/poids)	VMR (mg/m <sup>3</sup> )
Mevinphos S)	Xn (classe II)	1.100				25	-
Azinphos-méthyl	T+ (classe II)	16	Activation métabolique	17 jours	0,5 à 1	4	0,2
Cadusafos	T+ (classe II)	17	Inhibiteur ; activation métabolique		-	0,1	-
Chlorpyrifos	T+ (classe II)	10 à 19	Inhibiteur préférentiel de la AChE	2 à 3 semaines (feuilles) ; 2 à 4 mois (sol)	0,02 à 1	0,4	-
Chlorpyrifos-éthyl	T (classe II)	13 à 163	Tox légèrement volatil ; activation métabolique ; inhibiteur préférentiel de la AChE ; inhibiteur de la NIT	3 mois (sol)	0,05 à 1	10	0,2
Diazinon ou diméthylate	Xn (classe II)	300 à 850	Activation métabolique ; inhibiteur préférentiel de la AChE	8 jours (feuilles)	0,02 à 1	2	0,1
Dichlorvos ou DDVP	T+ (classe II)	80	Volatil ; inhibiteur préférentiel de la AChE ; inhibiteur de la NIT	4 à 5 jours	0,1 à 2	4	1
Diathion	T (-)	208		3 à 4 semaines	0,05 à 1	2	0,4
Thiophosate S)	Xn (classe II)	320 à 380	Hydro-soluble (25 g/l)	2 à 3 semaines	0,02 à 2	2	-
Ethionphos	T+ (classe II)	62			0,01	0,1	-

### 3. Chlorpyrifos

#### 3.1. Définition

Le chlorpyrifos est un insecticide de la famille chimique des organophosphorés. Cette substance se présente sous forme des cristaux blancs et très peu solubles dans l'eau : 2 mg/l (**ACTA, 2004**). Le chlorpyrifos est un insecticide à large spectre d'utilisation (**Hayes et al., 1990**), utilisé comme insecticide, acaricide et nématicide (**Mackay et al., 1999**). Le chlorpyrifos entre dans la composition de plus de 30 produits homologués vendus sous diverses marques commerciales comme Dursban, Lorsban, Brodan, DetmolUA, Dowco 179 et Empire (**Eisler, 2000; EXTOWNET, 1996**). Il est vendu sous forme de concentré émulsifiable, de poudre mouillable, de granules et de préparations microencapsulées (**EPA, 1997; ARLA, 2000**).

## 3.2. Le mécanisme d'action de chlorpyrifos

Le mécanisme d'action de chlorpyrifos c'est l'inhibition de la cholinestérase (ChE). L'inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE), se traduit par une accumulation d'acétylcholine (ACh) au niveau des récepteurs de la choline, ce qui entraîne une stimulation nerveuse continue (Giesy *et al.*, 1999). Le chlorpyrifos est un inhibiteur de l'AChE assez faible comparé à son métabolite de type oxon (El-Merhibi *et al.*, 2004) ; la toxicité provient donc de la formation de chlorpyrifos-oxon par désulfuration oxydative (Eisler, 2000; Giesy *et al.*, 1999).

## 3.3. Les Propriétés physico-chimiques :

- La pression de vapeur du chlorpyrifos est de  $2,49 \times 10^{-3}$  Pa à 25°C.
- Sa solubilité dans l'eau est de 2 mg/L à 25°C (Guide des produits chimiques ,1982).
- Le chlorpyrifos est fortement absorbé par le sol .Il persiste dans le sol pendant des périodes allant de 60 à 120 jours(Worthing ,1983).
- Sa dégradation est principalement attribuable à l'action microbienne (Environnement ,1987). et les produits de dégradation comprennent le trichloro-3,5,6pyridinol-2, qui est ensuite scindé en composés organochlorés et en dioxyde de carbone (The Royal Society of Chemistry, 1988).
- La vitesse d'hydrolyse du chlorpyrifos dans l'eau augmente en fonction du pH et de la température ainsi qu'en présence de cuivre (Hughes *et al.*, 1980).
- De 30 à 60 pour cent de tout le chlorpyrifos peut disparaître en phase aqueuse pendant 24 heures par adsorption, dégradation et vaporisation (Hughes *et al.*, 1980).
- Sa masse moléculaire : 350,59 (Mackay *et al.*, 1999) .

## 3.4. Les techniques d'analyses

Dans un échantillon on utilise habituellement la chromatographie en phase gazeuse pour déterminer les concentrations de chlorpyrifos, de son analogue oxygéné et de 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) On peut également utiliser la chromatographie en couche mince et la chromatographie liquide à haute performance. On utilise ces méthodes de concert avec des méthodes de détection sélectives comme la détection à photométrie de flamme, la détection thermionique azote-phosphore ou la détection à capture d'électrons .La détermination des concentrations de chlorpyrifos dans les milieux environnementaux commence par une extraction liquide-liquide, une extraction en phase solide (EPS) (ATSDR, 1997) .

### 3.5. L'usage

Le chlorpyrifos ( $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ ) est un insecticide organophosphoré utilisé pour lutter contre les moustiques, les mouches, divers nuisibles dans les cultures par épandage sur le sol ou le feuillage, les nuisibles de maison et les larves aquatiques. De 100 000 à 500 000 kg de ce produit sont utilisés chaque année au Canada (**Ottawa, 1987**). Le chlorpyrifos a d'abord été utilisé pour lutter contre les ravageurs associés aux pelouses, aux plantes d'ornement et aux milieux ambiants (**EPA, 1997; ARLA, 2000**). Dans les années 1970, le chlorpyrifos a été utilisé en agriculture : sur les céréales, dans les champs (par exemple le maïs et le tabac), sur les fruits, les noix et les cultures légumières (**ARLA, 2007**). Les seuls usages rapportés pour le chlorpyrifos sont liés à son action de pesticide (**EPA, 2000**) soit pour un usage agricole, soit pour un usage domestique et/ou industriel.

Cet insecticide utilisé pour le traitement des :

Parties aériennes ;

Des semences ;

Des sols (formulation sous forme de granulés) ;

Des locaux de stockage, des bâtiments d'élevage (**ACTA, 2004**)

### 3.6. La toxicité de chlorpyrifos pour l'homme

L'intoxication par le chlorpyrifos peut affecter le système nerveux central, le système cardiovasculaire et le système respiratoire. C'est aussi un irritant pour la peau et les yeux (**Occupational Health Services, Inc. 1986**). Le Système de surveillance des incidents liés aux pesticides (PIMS) a signalé 319 incidents d'exposition humaine, la plupart résultant d'une exposition par inhalation et par voie cutanée (**Sept, 1984**).

### 3.7. Présence dans l'environnement

#### 3.7.1. Chlorpyrifos dans les sols

Suite à l'usage agricole du chlorpyrifos, des quantités importantes de la substance non dirigée vers les plantes atteignent directement ou indirectement, le sol (**ACTA, 2004**). Sur la base des données disponibles. Le chlorpyrifos se dégrade lentement dans les sols (conditions anaérobiques et/ou aérobiques), son temps de demi-vie dans le sol est estimé à 35 jours (**Gouzy et al., 2005**).

### 3.7.2 Chlorpyrifos dans le compartiment aérien

Le temps de demi-vie dans l'air est faible : < 2 jours (**Gouzy et al., 2005**). De plus, la volatilisation ne semble pas être une source de dissipation majeure pour le chlorpyrifos : en laboratoire moins de 10% de volatilisation en un mois (**EPA, 2000**).

### 3.7.3. Chlorpyrifos dans l'eau

Ce produit n'est pas entraîné par lessivage dans le sol. Il est donc peu probable qu'il contamine les eaux souterraines (**Edilalux, 2002**). D'autre part, en France, cette substance n'est pas présente en quantité suffisante pour être identifiée dans les eaux de boisson (**Ministère de la santé et de la protection sociale, 2004**). De même, malgré la rareté des informations françaises sur la présence de chlorpyrifos dans les eaux de surface et les eaux souterraines, on peut estimer que cette substance n'est présente dans ces milieux que de façon exceptionnelle (**IFEN, 2002**).

## 4. Devenir des pesticides dans le sol :

Le comportement global des pesticides dans le sol est complexe car il dépend d'une multitude de processus interconnectés et de la diversité des molécules actives (**Colleu et al, 2000; Barussio et al., 1996 ; Calvet et al., 2005**).

- La mise en solution dans le sol à partir d'une spécialité commerciale ou un produit formulé; L'absorption par la microflore du sol et par les végétaux;
- L'adsorption sur la phase solide organo-minérale du sol;
- La biodégradation par la microflore du sol;
- Le transport dans la solution du sol;
- La formation des résidus liés plus ou moins stables.
- Certains processus tendent à fixer le pesticide ou ses métabolites sur la phase organique du sol: c'est la rétention du pesticide. D'autres par contre l'entraînent à se concentrer dans la phase liquide du sol: c'est la persistance du produit. Une forte rétention du pesticide par les matières organo-minérales réduit les risques de pollution par les transferts hydriques, tandis que plus un produit est persistant, plus il est mobile et facilement transporté et donc les risques de pollution des eaux sont plus grands.



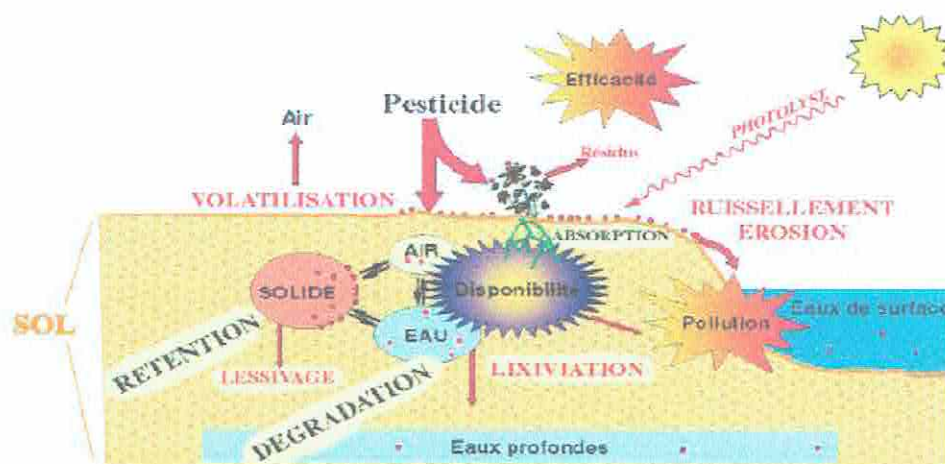


Figure 05: Processus impliqués dans le devenir des pesticides dans les sols conditionnant leurs efficacités ou leur Caractère polluant (Barriuso *et al.*, 1996).

Tableau 5: Rémanence de quelques pesticides dans le sol (Gouzy *et al.*, 2005) .

Pesticides	Rémanence
DDT ( organochloré)	4-30 ans
Lindane (organochloré)	3-10 ans
Endosulfan (organochloré)	1 mois à 2 ans
Carbofuran (carbamate)	6mois
Parathion (organophosphoré)	3-6 mois

## 6. La biodégradation des pesticides

### 6.1. Le concept de la biodégradation

On désigne sous le terme biodégradation, la transformation biologique des substances sous une autre forme (Berry, 1987)

La biodégradabilité est dite totale lorsque les molécules organiques sont totalement minéralisées sous la forme d'espèces dont la nature et la proportion dépendent du métabolisme

suivi. En effet dans le cas d'une biodégradation anaérobie totale les produits finaux du métabolisme sont le CO<sub>2</sub>, le CH<sub>4</sub>, le NH<sub>4</sub>, le S<sup>2-</sup> et le H<sub>2</sub>O tandis que la biodégradation aérobie donne le CO<sub>2</sub>, et le H<sub>2</sub>O, mais avec du NO<sub>3</sub> et du SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Une biodégradation incomplète peut avoir un impact négatif sur la microflore elle-même et sur l'environnement général. Par exemple une substance sans danger peut être convertie en une substance toxique (**Jim et Van Veld, 1983**). La dégradation biotique des pesticides dans le sol et dans les eaux, est réalisée par la microflore présente dans ces milieux et consiste sur des transformations chimiques dues à leurs systèmes enzymatiques. Dans les sols, les champignons, les algues, les protozoaires et les bactéries sont impliqués dans la dégradation des pesticides, mais les bactéries et les champignons sont en majorité responsables de cette dégradation. Les réactions de dégradation des pesticides peuvent se dérouler à l'intérieur et/ou à l'extérieur des microorganismes. Dans tous les cas, ces réactions sont catalysées par des enzymes et cela nécessite que les pesticides soient dissouts dans la phase liquide du sol. (**Columa ,1977**), et (**Calvet et al., 2005**).

### 6.2. Les mécanismes de la biodégradation :

Trois mécanismes sont considérés comme étant directement à l'origine de la dégradation microbienne des pesticides: ce sont le métabolisme direct, le cométabolisme et la conjugaison.

#### 6.2.1. Le métabolisme direct

Consiste sur une utilisation des pesticides comme source d'énergie par les microorganismes. En effet, ils ont besoin d'éléments nutritifs (C, N, P, S, éléments traces) d'eau et d'énergie pour croître et maintenir leur activité. Il existe une multitude de pesticides qui peuvent servir de sources d'éléments nutritifs et d'énergie pour les microorganismes. Certains microorganismes, notamment des bactéries, sont capables d'assurer la minéralisation complète des molécules de pesticide. D'autres par contre ne peuvent effectuer qu'une partie des transformations, ce qui nécessite l'intervention de plusieurs espèces pour obtenir la minéralisation complète des molécules de pesticides. Les réactions de métabolismes conduisent à leur destruction complète avec formation de molécules inorganiques que sont le dioxyde de carbone, l'ammoniac, l'eau et les anions sulfates et phosphates (**Colleu et al., 2000; Calvet et al., 2005**).

### 6.2.2. Le co-métabolisme

C'est un processus au cours duquel des microorganismes assurent leur maintenance et leur multiplication au dépend d'un substrat organique tout en dégradant des pesticides sans que ceux-ci soient une source d'énergie et d'éléments nutritifs (Dalton *et al.*, 1982; Bollag *et al.*, 1990 ; Calvet *et al.*, 2005). De nombreux microorganismes peuvent participer à ce processus de dégradation qui est très fréquent dans le sol (Calvet *et al.*, 2005). Les microorganismes particulièrement impliqués dans le cométabolisme sont les champignons en raison de l'abondance de leur système enzymatique à large spectre d'activité. La dégradation complète des pesticides et la production de métabolites par ce processus requiert la participation de plusieurs souches. Les métabolites formés ont des propriétés différentes de celles du pesticide initial, en particulier celles relatives à leur transport et leur toxicité. Ils sont souvent plus polaires et donc plus solubles dans l'eau et parfois plus toxiques (Calvet *et al.*, 2005).

### 6.2.3. La conjugaison

C'un processus au cours duquel des pesticides interagissent entre eux ou avec d'autres molécules présentes dans la solution du sol, les réactions chimiques étant catalysées par des enzymes exocellulaires, elle conduit à l'union de deux molécules par méthylation ou par acétylation. Lorsque la conjugaison réunit plus de deux molécules on parle de condensation (Bollag *et al.*, 1990 ).

### 6.3. La dégradation abiotique

La dégradation abiotique des pesticides est un phénomène bien connu .Elle est souvent liée à l'action de la lumière notamment les rayons ultra-violet(U.V) du soleil, à la température, au pH, à l'humidité du sol et de l'air, à la volatilité du pesticide, à certains ions et la structure du sol (Coulibaly *et Smith*, 1990).



# **Matériel et méthodes**

### 1. Application de l'insecticide Dursban (48% chlorpyrifos)

Le Dursban (48% chlorpyrifos) est un pesticide classé comme un insecticide organophosphoré modérément toxique, il est utilisé dans le secteur agricole pour lutter contre les insectes très nuisibles de cultures, telles que le coton, les fruits, les légumes et les céréales. Il est très connu en Algérie et à large spectre d'utilisation.

Après une préparation d'une dilution de 7ml de ce produit dans 5L d'eau (selon le mode d'emploi du produit), une application foliaire d'un arbre situé dans notre université (UMC 1) a été effectuée par pulvérisation.



**Figure 6 :** Arbre traité par l'insecticide Dursban

### 2. Echantillonnage du sol

Nous avons fait l'échantillonnage après 30 jours de traitement par le Dursban, les échantillons de sol utilisés dans cette étude ont été prélevés de 5 sites différents.

Après avoir écarté les cinq premiers centimètres de la couche superficielle de sol, 100-150g de sol sont recueillis aseptiquement dans un flacon stérile et transporté le plus

rapidement possible au laboratoire, les échantillons sont immédiatement conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'utilisation (Pochon *et al.*, 1962).



**Figure 7:** Echantillon de sol contaminé par l'insecticide Dursban

### 1. Milieux et réactifs

L'insecticide utilisé au cours de cette étude est le chlorpyrifos sous sa forme commerciale (Dursban), il est obtenu à partir des revendeurs des produits phytosanitaires d'Elkhroub, Constantine.

Le milieu liquide MSM (minimal salt medium) (**Annexe1**) contenant l'insecticide Dursban comme SSCE est utilisé pour tester la capacité des microorganismes de sol à utiliser cet insecticide comme SSCE (Ying *et al.*, 2011).

Le milieu ISP2 (International Streptomyces Project) est utilisé pour le repiquage ainsi que pour l'étude et la caractérisation des souches d'actinomycètes.

Le milieu liquide ISP9 contenant l'insecticide Dursban comme SSCE est utilisé pour tester la capacité de quelques souches d'actinomycètes précédemment isolées à partir d'un autre sol par Mme Zermane. F à dégrader et utiliser cet insecticide comme SSCE.

### **4. Isolement des microorganismes dégradants de Dursban**

#### **4.1. Enrichissement**

5g de sol sont ajoutés à un Erlenmeyer de 250 ml stérile contenant 50 ml de milieu liquide MSM additionnés de 50 mg/L de Dursban, la culture est incubée à 30°C sous agitation à 150 tr / min, pendant quatre semaines, l'expérience est réalisée en triple (Akbar *et al.*, 2014).

#### **4.2. Préparation des dilutions**

Après 30 jours d'incubation, une série de dilutions décimales a été effectuée jusqu'à la dilution de  $10^{-6}$ .

#### **4.3. Sélection de souches capables à croître en présence de l'insecticide Dursban comme une seule source de carbone et d'énergie (SSC)**

Cette étude est réalisée sur le milieu MSM solide contenant l'insecticide Dursban (CP) à la dose recommandée (50mg/ l) comme une seule source de carbone et d'énergie, chaque dilution estensemencée en surface et les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant 24-48 heures. Les souches ayant une bonne croissance sont sélectionnées.

#### **4.4. Etude de la tolérance des microorganismes dégradantes vis-à-vis des différentes concentrations de l'insecticide Dursban**

Les souches isolées sontensemencées sur GN additionné de l'insecticide Dursban (CP) à différentes concentrations : fois1 (50mg /L), fois2(100mg/L, fois5(250mg/L) et 10 fois supérieures à la dose recommandée (500mg /l).

Les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant 24 heures. La croissance des souches actives est estimée par comparaison avec celles obtenues sur le milieu GN (Annexe1) sans l'addition de l'insecticide.

### 4.5. Mise en évidence de la dégradation de l'insecticide Dursban par les souches isolées

Des erlenmeyers de 250 ml contenant 100 ml du milieu minéral MSM liquide additionné de 100 mg / L de Dursaban sont inoculés par une suspension de la souche sélectionnée.

Les cultures sont incubés à 30°C sous agitation à 150 tr / min pendant 10 jours (Akbar *et al.*, 2014) .

La capacité des souches sélectionnées à dégrader le pesticide Dursban et à l'utiliser comme SSCE est estimée par mesure de leur croissance sur milieu liquide contenant le Dursban comme SSCE, pour cela des échantillons de 1 ml sont prélevés à partir des cultures sélectionnées à des intervalles réguliers de 1 jour pendant 10 jours continus. La croissance est évaluée par mesure de la DO à 600 nm (Deepti *et al.*, 2015).

## 5. Etude de la dégradation de l'insecticide Dursban par des souches d'actinomycètes :

### 5.1. Purification de certaines 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).

Afin d'obtenir des souches pures, les différentes colonies sont repiquées et ensemencées par stries sur gélose ISP2 (Annexe1), puis incubées à 30 °C pendant 7-21 jours.

### 5.2. Etude de la tolérance des actinomycètes purifiées vis-à-vis de différentes concentrations de l'insecticide Dursban

Les actinomycètes purifiées sont ensemencées sur milieu ISP2 solide additionné de l'insecticide Dursban à différentes concentrations fois2(100mg/L), fois5(250mg/L) jusqu'à 10fois supérieures à la dose recommandée (500mg/L) (Zaki *et al.*, 2012).

Les boites sont ensuite incubées à 30°C pendant 10 jours. La croissance des Actinomycètes est estimée par comparaison avec celle obtenue sur ISP2 sans l'addition de l'insecticide.



### 5.3. Mise en évidence de la dégradation de l'insecticide Dursban par les souches d'actinomycètes

Des Erlenmeyer de 250 ml stériles contenant 100 ml du milieu minéral ISP9 additionné de 100 mg /L de Dursban sont inoculés avec les souches actinomycètes . Trois cultures pour chaque souche sont réalisées. Ces cultures sont ensuite incubés à 30 °C sous agitation à 150 tr / min

La capacité des souches actinomycètes à dégrader le pesticide Dursban et à l'utiliser comme SSCE est estimée par mesure de leur croissance sur milieu liquide contenant le Dursban comme SSCE.

Pour cela des échantillons de 1 ml à partir de chaque culture d'actinomycètes sont prélevés à des intervalles réguliers de 1jour, pendant 6jours continus. La croissance est évaluée par mesure de la DO à 600nm (Deepti.G et Abhinav.M, 2015).

## 6. Identification présomptive des souches actives

### 6.1. Identification des bactéries isolées

#### ➤ Examen macroscopique

Après incubation sur milieu GN: la taille, la forme, la couleur ou la pigmentation des colonies, etc., sont notés.

#### ➤ Observation microscopique

- L'état frais :

Une fraction de la colonie étudiée est prélevée et mis en suspension homogène dans une goutte d'eau préalablement déposée sur une lame, puis recouvert avec une lamelle, et observer rapidement à l'objectif X 40.

- Coloration de Gram :

La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Elle doit être parfaitement maîtrisée car c'est le point de départ du choix des examens

complémentaires à effectuer et des milieux à ensemercer. Elle est réalisée selon le protocole classique suivant :

- Préparation du frottis et fixation.
- Coloration au violet de gentiane phéniqué durant une minute, puis rinçage à l'eau du robinet.
- Mordançage : recouvrement de la lame de réactif de Lugol pendant 1 minute (réactif iodo-ioduré qui accentue la coloration), puis rinçage à l'eau.
- Epreuve (alcool résistance) : plongement 3 ou 4 fois ,pendant 30 secondes dans un pot d'alcool, puis rinçage à l'eau du robinet immédiatement.
- Contre coloration à la Fuschine ou de safranine pendant une minute.
- Rinçage à l'eau du robinet et séchage entre deux feuilles de papier absorbant.
- Observation à l'objectif X 100(**Gueye , 2007**).

### ➤ Tests biochimiques

- **Utilisation du Glucose, Lactose et saccharose et la production de l'H<sub>2</sub>S**

La pente du milieu TSI estensemencée par des stries et le culot par piqureavec l'inoculum de la souche sélectionnée. Après incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures,la lecture estfaite au niveau du culot pour le glucose et au niveau de la pente pour le lactose et lesaccharose. L'utilisation des sucres est traduite par un virage de couleur du milieu vers lejaune. Dans le cas où le dégagement d'H<sub>2</sub>S, un noircissement est provoqué dans le culot(**Smriti et al., 2012**).

- **Utilisation du citrate comme seule source de carbone**

La pente du milieu de citrate de Simmons (**Annexe1**) estensemencée par strie longitudinale au moyen d'une anse de platine avec l'inoculum de la souche sélectionnée. L'incubation s'effectue à 30°C pendant 24-48 heures (**Meziani ,2012**).

- **Recherche de la production d'indole**

4,5 ml d'eau physiologique contenant 4 gouttes du milieu Urée-indole estensemencé par 0,5 ml de la suspension de la souche sélectionnée. La lecture est effectuée après incubation à

30 °C pendant 24 heures, 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs sont ajoutées à 1 ml de la culture. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'un anneau rouge à la surface (Smriti *et al.*, 2012).

- **Test d'oxydase**

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède une bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

Un disque oxydase imprégné de diméthyl-paraphénylènediamine est placé stérilement sur une lame, à l'aide d'une pipette Pasteur, une colonie est prélevée et déposée doucement sur ce disque, la lecture se fait après 30 secondes (Dhayanithi *et al.*, 2010).

- **Test de Catalase**

Le test consiste à mettre la bactérie à tester en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Si elle possède la catalase, elle dégrade le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles (Khan *et al.*, 2011).

- **Test du mannitol-mobilité**

Le milieu mannitol mobilité permet l'étude de la mobilité de la souche grâce à la présence d'une faible teneur d'agar (gélose semi-molle) qui rend possible le déplacement des bactéries mobiles autour de la piqûre centrale.

L'utilisation du mannitol acidifie le milieu qui peut ainsi être révélé par le virage de l'indicateur de pH (rouge de phénol) à sa teinte acide (jaune).

L'ensemencement est effectué par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur fermée puis Incubation 24 heures à 37°C (Nkang *et al.*, 2009).

## 6.2. Identification des souches actinomycètes

### ➤ Observation macroscopique des colonies

L'aspect macroscopique (couleur, forme, etc.) des actinomycètes est déterminé par ensemencement sur le milieu ISP2 (Annexe 1), et observé après 21 jours d'incubation à 30°C.

### ➤ Morphologie des mycéliums aériens et de substrat (technique de culture sur lamelle)

La détermination de la morphologie des chaînes des spores, du mycélium aérien et du substrat est effectuée selon la technique des lamelles obliques.

Cette technique consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans le milieu gélosé ISP2 de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec la surface de celui-ci. Une goutte de l'inoculum est déposée contre la lamelle en contact avec le milieu.

Après 14 jours d'incubation à 30 °C, la lamelle est retirée soigneusement de la gélose, entraînant avec elle des mycéliums de substrat et aérien non dénaturé. Elle est ensuite déposée sur une lame contenant une goutte de bleu de coton ou lactophénol puis examinée au microscope optique (G x 40 et x 100).

La forme des filaments du mycélium aérien peut être également observée sous microscope optique (G x 10) autour des colonies (**Williams et Cross ,1971**).

## 7. Conservation des souches actives

La souche bactérienne isolée, capable d'utiliser le fongicide étudié comme seule source de carbone et d'énergie, est conservée sur milieu GN inclinée à 4°C.

Les souches actinomycètes purifiées sont conservées sur le milieu ISP2, 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**).

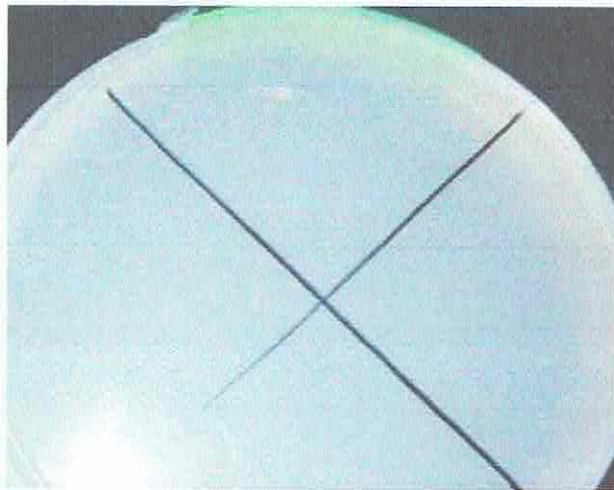


# **Résultats et Discussion**

### 1. Recherche des microorganismes dégradants l'insecticide Dursban (48%Chlorpyriphos)

#### 1.1. Isolement des microorganismes capables d'utiliser le Dursban comme SSCE

Après 48 heures d'incubation à 30°C, une seule colonie notée X1, à pousser sur le milieu MSM gélosé additionné de 50 mg /L de l'insecticide Dursban, ce qui indique sa capacité à utiliser cet insecticide comme unique source de carbone et d'énergie.



**Figure 8 :** Souche X1 isolée sur milieu MSM gélosé additionné de Dursban comme SSCE

#### 1.2. Etude de la tolérance de la souche X1 vis-à-vis à l'insecticide Dursban

Cette méthode est basée sur l'appréciation de la croissance sur milieu gélose nutritive additionné de l'insecticide Dursban à des concentrations croissantes : (dose recommandée : DR, DR fois 2, DR fois 5, DR fois 10) comparée avec celle obtenue sur le même milieu GN sans insecticide.

Après incubation à 30 °C, la souche X1 donne une bonne croissance sur toutes les concentrations de l'insecticide, jusqu'à la plus forte concentration (10 fois plus concentré que la dose recommandée), ce qui montre la capacité de cette souche à tolérer de fortes concentrations de cet insecticide comme illustré dans la **Figure 9**.

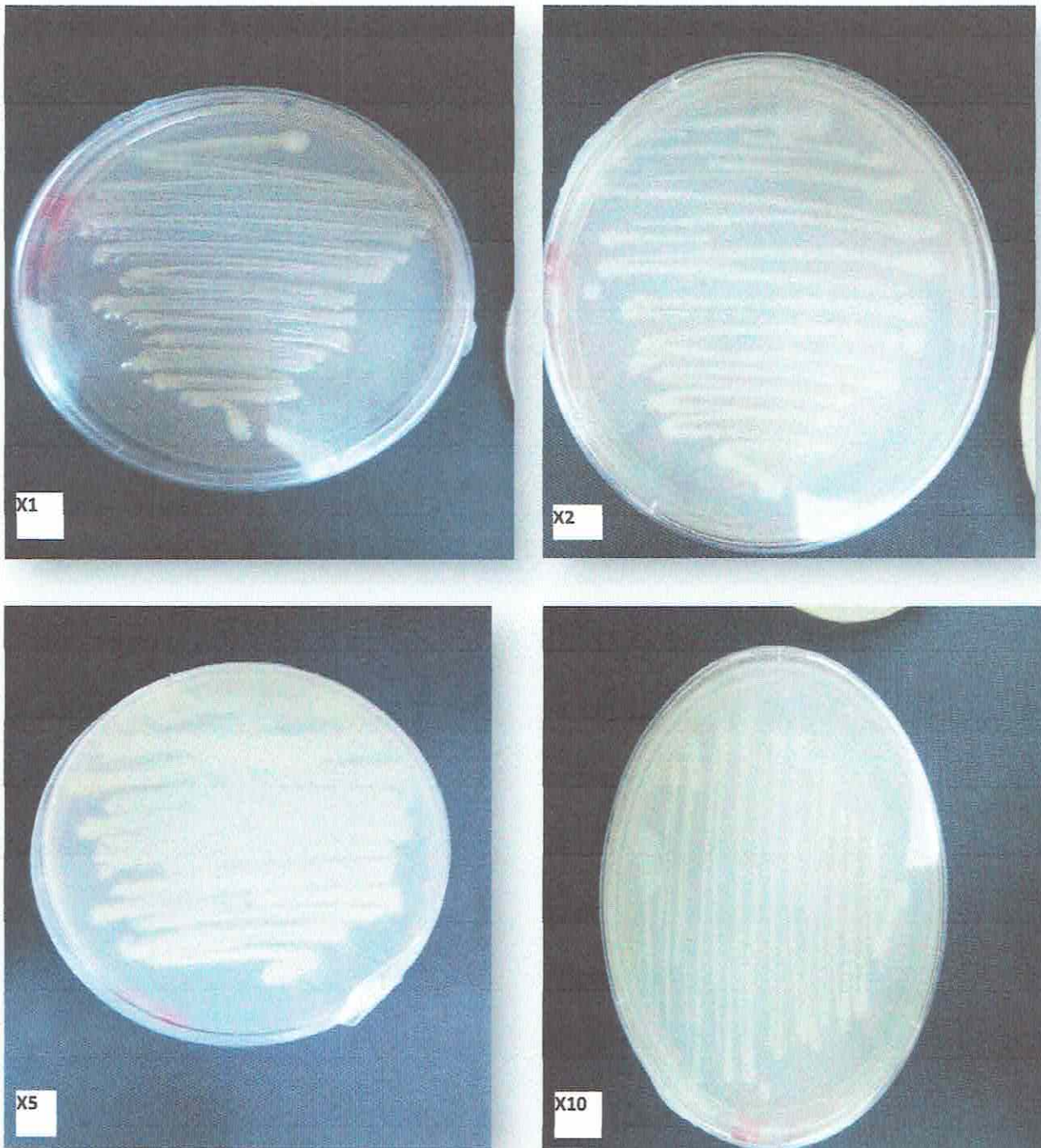


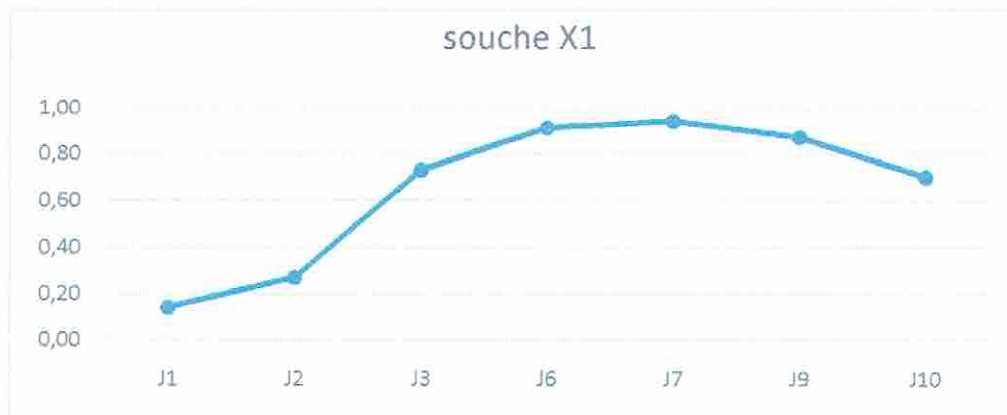
Figure 9: Tolérance de la souche X1 à des concentrations croissantes de l'insecticide Dursban

### 1.3. Mise en évidence de la dégradation de l'insecticide Dursban par la souche X1

La dégradation de l'insecticide Dursban par la souche X1 est estimée par mesure sa croissance (DO) à 600nm, la variation de la densité bactérienne au cours des 10 jours d'incubation sur milieu MSM plus l'insecticide comme SSCE est représentée dans le **Tableau 6** et **Figure 10**

**Tableau 6:** Absorbance de souche X1  
En présence du Dursban comme SSCE

	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
X1	0,14	0,28	0,73	0,91	0,94	0,87	0,70



**Figure 10 :** Variation de la DO en fonction du temps de la souche X1 en présence de l'insecticide Dursban comme SSCE.

D'après la courbe, la souche X1 présente aux premiers jours d'incubation, une légère croissance, c'est la phase d'adaptation au insecticide Dursban, puis elle augmente progressivement, jusqu'au 7ème jour d'incubation ou elle devient maximal, ce qui confirme que la souche X1 utilise l'insecticide Dursban comme SSCE, au 10ème jour d'incubation la croissance devient minimal, dans cette phase le milieu est épuisé et peut contenir des métabolites de dégradation de l'insecticide Dursban, qui peuvent être toxiques pour notre



souche, ou non utilisés par cette dernière comme SSCE, qui provoque la décroissance de notre souche X1.

## 2. Etude la dégradation de l'insecticide Dursban par quelques souches d'actinomycètes

### 2.1. Purification des souches d'actinomycètes

Trois souches d'actinomycètes (A1, A6 et A12), précédemment isolées à partir d'un autre sol par Mme ZERMANE.F(enseignante attaché au laboratoire de Génie microbiologique et applications).sont purifiées sur milieu ISP2 , dans le but de tester leur capacité à tolérer l'insecticide Dursban et à l'utilisé comme SSCE.

### 2.2. Etude de la tolérance des souches d'actinomycètes à forte concentration de l'insecticide Dursban

L'étude de la tolérance des souches d'actinomycètes à différentes concentrations de l'insecticide Dursban est représentée dans le **Tableau 7**

**Tableau 7 :** Tolérance des 3 souches d'actinomycètes à l'insecticides Dursban .

Souches d'actinomycètes	Croissance en absence de Dursban (témoin)	Croissance en présence de Dursban 2fois supérieur à la DR	Croissance en présence de Dursban 5fois supérieur à la DR	Croissance en présence de Dursban 10fois supérieur à la DR
A1	+++	+++	+++	+++
A6	+++	++	++	++
A12	+++	++	++	+

(+++): Bonne croissance, (++) : croissance modérée, (+) : croissance faible, dose recommandé = 50mg /l.

Cette méthode repose sur l'appréciation de la croissance, sur milieu ISP2, en présence de l'insecticide Dursban à forte concentration (2 fois, 5 fois et 10 fois supérieur à la dose recommandée), en la comparant avec celle obtenue sur le même milieu sans insecticide.

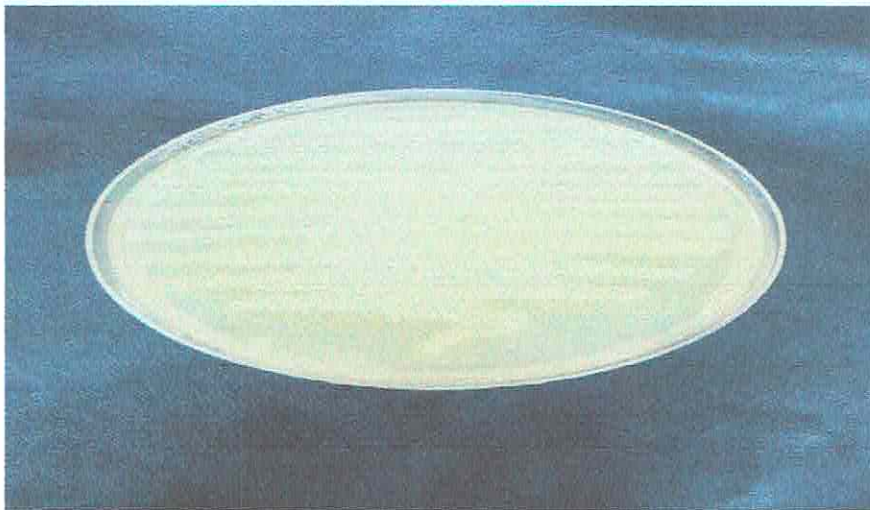
Parmi les 3 souches testées, la souche A1 présente une bonne croissance, la souche A6 et la souche A12 présentent une croissance modérée sur ce milieu (**Figure 11**, **Figure 12**, **Figure 13**).



**Figure 11:** Tolérance de la souche A6 au Dursban à une concentration 2 fois plus forte que la dose recommandée.



**Figure 12:** Tolérance de la souche A1 au Dursban à une concentration 5 fois plus forte que la dose recommandée



**Figure 13:** Tolérance de la souche A 12 au Dursban

A une concentration 5 fois plus forte que la dose recommandée

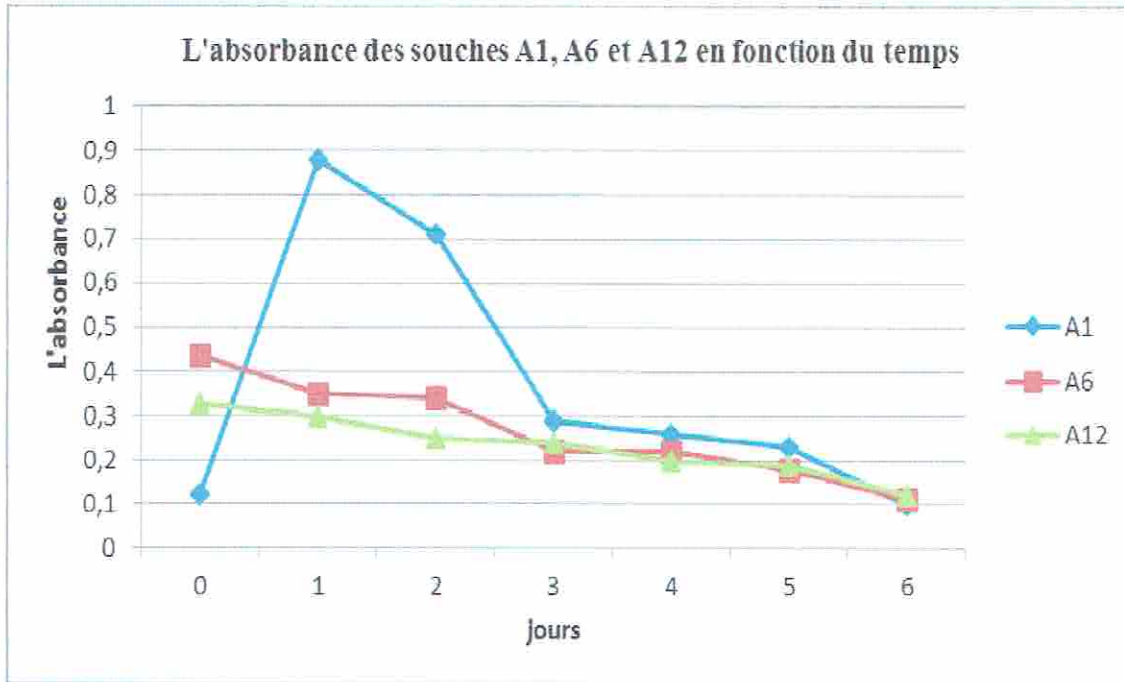
### 2.3. Mise en évidence de dégradation de l'insecticide Dursban par les souches actinomycètes

La tolérance d'une souche microbienne à un pesticide, n'est pas toujours un indice de sa capacité de le dégrader, en effet, (Singh *et al.*,1999) ont rapportés que le champignon blanc *Trametes hirsutus* accumule le pesticide Lindane sans le dégrader.

Pour cela, les souches d'actinomycètes tolérantes sont soumises à un deuxième test, elles sont ensemencées sur le milieu ISP9 liquide contenant l'insecticide Dursban comme SSCE, la dégradation de Dursban est appréciée par mesure de la croissance (DO) à 600 nm (Akbar *et al.*,2014). Les résultats sont représentés dans **Tableau 8** et **Figure 14**

**Tableau 8:** Absorbance des souches A1,A6 et A12 en présence du Dursban comme SSCE

	Jour 0	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 6
A1	0,12	0,88	0,71	0,29	0,26	0,23	0,10
A6	0,44	0,35	0,34	0,22	0,22	0,18	0,11
A12	0,33	0,30	0,25	0,24	0,20	0,19	0,12



**Figure14:** absorbance des souches A1,A6 et A 12 en fonction de temps  
En présence de Dursban comme SSCE

L'augmentation de l'absorbance est due à une augmentation de la croissance microbienne dans le milieu, et révèle une dégradation progressive du produit au cours du temps :

D'après la **Figure 14**, il est remarquable qu'à partir du 1<sup>er</sup> jour la valeur de l'absorbance de la souche A1 est plus grande que celle de A6 et A 12, Cela, signifie que le taux de la dégradation du Dursban par la souche A1 est plus grand que chez les souches A6 et A12 .

Donc la souche A 1 est plus performante que les souches (A6, A12) pour la dégradation du Dursban, et de ce fait , elle peut être utilisée dans la biodégradation et la biorémédiation des sols contaminé par cet insecticide.

### 3. Identification des souches actives

#### 3.1. Identification présomptive de la souche X1

##### 3.1.1. Les caractères cultureux

Les caractères cultureux de la souche x1 sont représentés dans le **Tableau 9** et la **Figure 15**



**Figure 15** :Aspect macroscopique de la souche X1 sur GN

**Tableau 9** : Caractères cultureux de la souche X1 sur milieu GN

Souche	Couleur	Taille	Forme	Aspect	Elévation	Bord	Consistance	opacité
X1	Blanchâtre	Petite	Circulaire	Lisse	Plaine	régulier	Muqueuse	Opaque

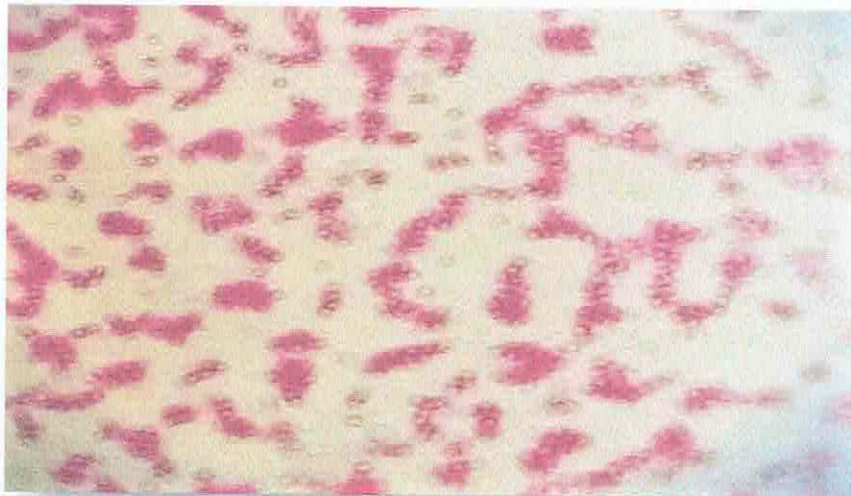
##### 3.1.2. Aspect microscopique

L'observation microscopique à l'état frais à l'objectif X40 montre que la souche X1 est de forme sphérique, immobile, non sporulée comme illustré dans la **Figure 16**



**Figure 16 :** L'état frais de la souche X1(GX40)

L'observation microscopique de la coloration de GRAM montre que la souche X1 est de forme cocci à gram négatif, regroupée en chaînette, comme illustré dans la **Figure 17**



**Figure 17:** coloration de gram de la souche X1(GX100)

### 3.1.3. Caractères biochimiques

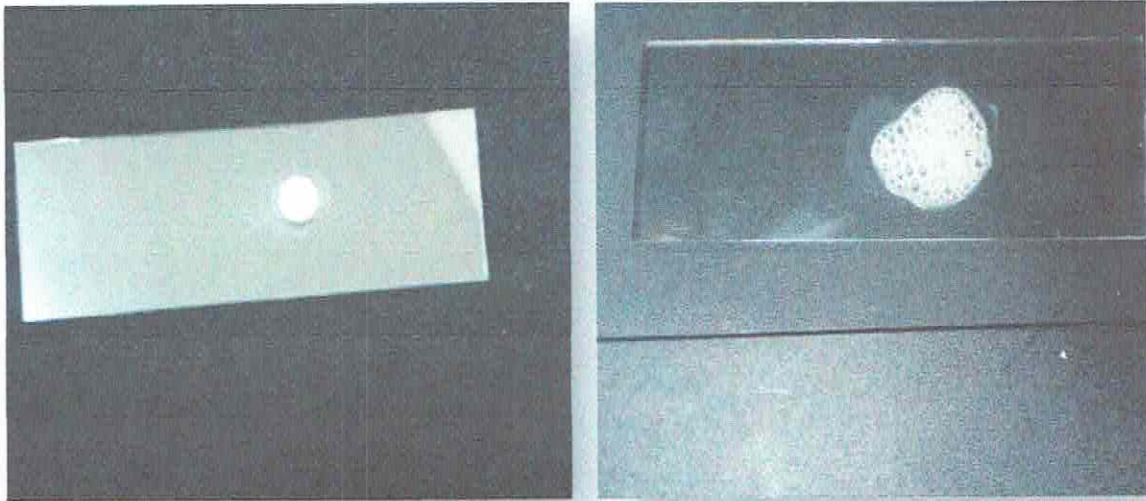
La souche X1, se développe sur les différentes sources de carbone étudiées, elle utilise le lactose, le saccharose et le glucose, ainsi que le mannitol et le citrate comme source de carbone (**Figure 18**) .



**Figure 18** : Résultats des tests biochimiques de la souche X1 (1 :mannitol, 2 :citrate de simmons, 3 : TSI)

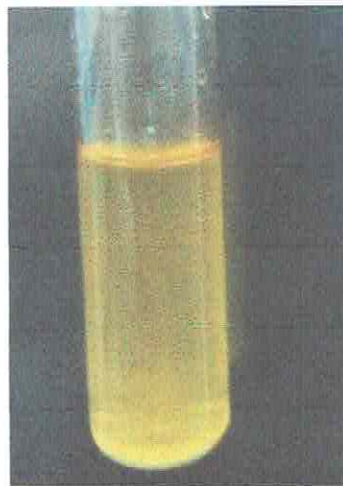
Le résultat de l'ensemencement sur le milieu TSI, montre que la souche X1 est incapable de produire l' $H_2S$ . L'ensemencement sur milieu mannitol mobilité confirme que la souche étudiée est immobile.

Les résultats des autres tests biochimiques montrent que la souche X1 ne possède pas l'enzyme oxydase, et à catalase positif comme illustré dans la **Figure 19** .



**Figure 19** : test de catalase et oxydase pour la souche X1

Après l'incubation à 30°C pendant 24 heures, l'addition de 2 gouttes de réactif kovacs dans le milieu urée indole ensemencé par la suspension bactérienne de la souche X1 conduit à l'apparition d'un anneau rouge au niveau de la surface de milieu. Ce qui montre que cette souche est une bactérie productrice de l'indole comme indiqué dans la **Figure 20**



**Figure 20** : test urée-indole de la souche X1.



Les résultats des différents caractères biochimiques de la souche active sont réunis dans le **Tableau 10**

**Tableau 10** : Les caractéristiques biochimiques de la souche (X1)

LE TEST	L'utilisation De glucose	L'utilisation De Lactose et saccharose	La production L'H <sub>2</sub> S	L'utilisation De mannitol	La production de l'indole	La présence de l'oxydase	La présence de catalase
Résultat	+	+	+	+	+	-	+

(-): Absence, (+): Présence

Les différentes caractéristiques réunies sur l'isolat bactérien X1 sont comparées avec celles décrites dans la neuvième édition du *Bergey's Manual of Determinative bacteriology* (2007). Nos résultats sont conformes aux caractéristiques du genre *Acinetobacter*

### 3.2. Identification présumptive des souches d'actinomycètes

Parmi les trois souches d'actinomycètes, la souche la plus performante (A1) est identifiée

#### 3.2.1. Observations macroscopiques

L'étude des caractères macroscopiques des actinomycètes est largement employée pour caractériser le groupe des actinomycètes et même dans certain cas les genres.

Après incubation sur milieu ISP2, la surface des colonies de la souche A1 est poudreuse. Après maturation, la souche développe une masse sporale de couleur blanchâtre, il n'y a pas production de pigments diffusibles.

Les caractères culturaux de la souche A1 sont représentés dans le **Tableau 11**.

Tableau 11 : Caractères cultureux de la souche A1

Milieu	La souche	Mycélium laire	Mycélium laire	Masse sporale	Pigmentation	Aspect de la colonie
ISP2	A1	Transparent	Gris blanchâtre	Blanche	–	Colonies bien Incrustées dans la gélose, rondes, à bordure régulière, légèrement bombées, d'aspect cotonneux

### 3.2.2. Observations microscopiques

Les critères de détermination que nous avons utilisés sont essentiellement ceux de la classification (*Taxonomie Outline of the procaryotes, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2004*).

Plusieurs auteurs ont pu déterminer les genres des actinomycètes à partir des caractéristiques morphologiques comme (*Zaitlin et al., 2003*) dont les travaux ont permis d'identifier le genre par simple observation microscopiques d'une souche actinomycétale par observation des chaînes de spores au microscope optique (*Balagurunathan et al., 1996*).

La technique de la culture sur lamelle oblique permet de caractériser les actinomycètes par leurs aspects morphologiques du mycélium aérien et celui du substrat. Après 7 jours d'incubation, les lamelle sont retirées de la gélose et déposées sur une lame puis observées au microscope optique ( $G \times 100$ ). Les résultats sont représentés dans le **Tableau 12** et **Figure 21** et **Figure 22**



**Figure 21** :Aspect microscopique de la souche A1 (GX100)

Mycélium du substrat



**Figure 22** : Aspect microscopique de la souche A1 (GX100)

Mycélium aérien et masse sporale

**Tableau 12:** Aspect microscopique de la souche active ( A1)

mycélium	MS		MA		
	Fragmentation	Sporulation	Formede Chainesde spores	Longueur de chaines de spores	Forme de la spore
A1	Non fragmenté	Non Sporulé	Spiral	>20	Ovale

Hyphe du mycélium végétatif de la souche A1 sont fins, très ramifiés, non fragmentés, non sporulés. Il se développe en surface et pénètre dans la gélose, pour ensuite donner naissance à un mycélium aérien long, fin et très ramifié, il porte de longues chaînes de spores plus de 20 spores par chaîne. Les chaînes de spores sont formées par fragmentation du mycélium aérien, elles sont en doubles spires, ces caractéristiques permettent de rapprocher cette souche au genre *Streptomyces*.

Une étude d'identification des souches d'actinomycètes tolérantes aux Silinium est réalisée par **El-Meleigy et al., 2011** a montré que les caractéristiques morphologiques de souche identifiée (*Streptomyces variabilis*), sont similaires à ceux de souches (A1)

(**Yang et al., 2006**) et (**Li et al., 2007**) montrent l'utilisation de Chlorpyrifos comme unique source de carbone et d'énergie par plusieurs souches bactériennes qui appartiennent à la microflore du sol.

Une autre étude montre que des souches bactériennes (*Pseudomonas sputida*, *Micrococcus lylae*, *Pseudomonas aureofaciens*, et *Acetobacterliquefaciens*) qui ont été isolées à partir d'un sol égyptien, utilisent le malathion ( un insecticide de la même famille de Chlorpyriphos comme unique source de carbone et d'énergie (Goda *et al.*, 2010)

Plusieurs recherches affirment qu'il ya beaucoup des gènes responsables de la biodégradation des insecticides organophosphorés hébergeant des bactéries du sol qui ont été rapportés sur des plasmides (Chung *et al.*, 1998). Ces gènes codants pour les enzymes de dégradation, plusieurs plasmides cataboliques ont été trouvés chez les espèces de *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Actinobacter*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Moraxella* et *Arthrobacter* (Saylor *et al.*, 1990).

De nombreuses études ont rapporté que *Acinetobactersp* utilise un large éventail de substances toxiques tel que le biphényle comme seule source de carbone et d'énergie (Sabit *et al.*, 2011) .

Azmy *et al.*, 2015 trouvent trois différents isolats bactériens qui ont une capacité de dégrader de hautes concentrations de malathion (un insecticide organophosphoré de même Famille de Chlorpyriphos), les tests biochimiques montrent l'identification des isolats comme, *Acinetobactersp*

Plusieurs études ont montré la résistance de souches d'actinomycètes isolées de différentes rhizosphères contaminées par de nombreux pesticides :

Lara *et al.*, 2005 ont testé la tolérance de 53 actinomycètes isolées d'un sol contaminé par le pesticide Alachlor, ils ont trouvés que 16 sur 53 actinomycètes testées croissent sur l'Alachlor à des fortes concentrations (720 mg/l), ces dernières souches sont sélectionnées pour des tests de dégradation de même pesticides.

Des espèces du genre *Streptomyes* qui peuvent utiliser le chlorpyriphos comme seule source de carbone ont été analysés et parmi 29 isolats SJRO-06, SJRO-10 et SJRO-36 dégradent le chlorpyriphos à 1000 mg / l (Eissa *et al.*, 2014 ; Supreeth *et al.*, 2016). Des résultats similaires ont été obtenus par (Lin *et al.*, 2011)

Javid *et al.*, 2016 ont rapporté que les actinomycètes sont capables de dégrader le chlorpyriphos,

Briceno *et al.*, 2012 ont montré que le chlorpyriphos utilisé aux concentrations de 25 mg / l et 50 mg / l dans le milieu de culture est dégradé par le genre *Streptomyces*.

Plusieurs genres et espèces de la famille des actinomycètes sont impliqués dans la biodégradation des insecticides : D'après (Xiaoqiang *et al.*, 2008 ; Diez ,2010), les actinomycètes sont des transformateurs et dégradeurs de pesticides .

La population d'actinomycètes a été identifiée comme l'une des groupes principaux de la population du sol, Ils produisent de nombreux produits naturels tels que les antibiotiques et les enzymes capables de dégrader les complexes organiques dans le sol et les sédiments. Les actinomycètes ont potentiel considérable pour la biotransformation et la biodégradation des pesticides (Santos *et al.*, 2012, ; Schrijver *et al.*, 1999 ; Philip *et al.*, 2014) .



**Conclusion et  
perspectives**

### Conclusion

La pollution de l'environnement causée par les pesticides et leurs produits de dégradation est un problème écologique majeur.

Le chlorpyrifos est un insecticide à large spectre, considéré comme l'un des pesticides organophosphorés les plus fréquemment utilisés. Son application massive a conduit à la contamination de l'eau et du sol et à la perturbation des cycles biogéochimiques. De plus, ses résidus ont été détectés dans divers systèmes écologiques.

La biorestauration, qui implique l'utilisation de microbes pour détoxifier et dégrader les polluants, a reçu une attention accrue en tant qu'approche biotechnologique efficace pour nettoyer les environnements pollués.

Dans le but de rechercher des microorganismes dégradants l'insecticide Dursban (48% chlorpyrifos), un isolement par enrichissement sélectif sur milieu MSM additionnée de Dursban comme seule source de carbone et d'énergie, est réalisé à partir d'un sol traité par ce même pesticide. Une seule souche a été isolée à partir de ce milieu.

Dans le même but, trois souches d'actinomycètes précédemment isolées par Mme Zermane.F (MAA, UMC1), sont purifiées sur milieu ISP2.

La tolérance des souches étudiées, est testée sur milieu GN pour la bactérie isolée et sur milieu ISP2 pour les actinomycètes, ces milieux sont supplémentés par le Dursban à différentes concentrations (DR X 2, DR X 5, DR X 10). Toutes les souches étudiées tolèrent le pesticide jusqu'à la plus forte concentration.

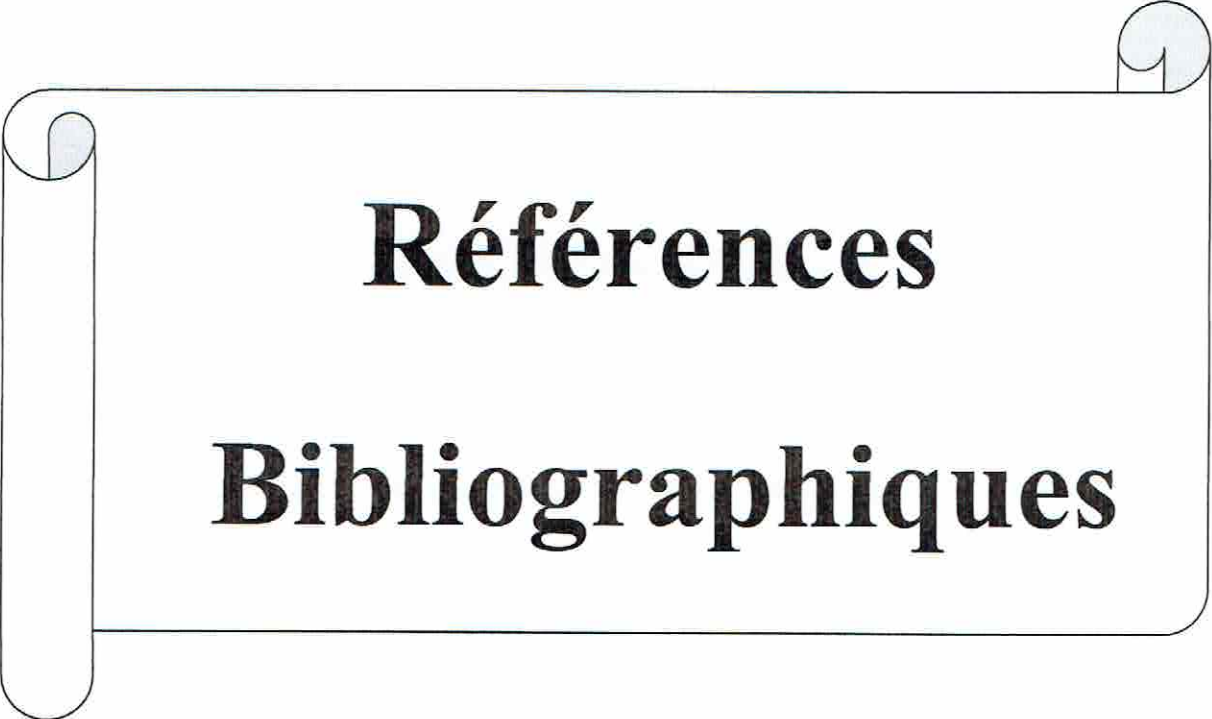
La dégradation de l'insecticide par les souches tolérantes est estimée par mesure de la croissance bactérienne (DO) à 600nm, sur milieu minéral contenant le Dursban à la dose recommandée (50mg/l) comme seule source de carbone et d'énergie, ainsi, deux souches seulement présentent une croissance considérable sur ce pesticide, et sont donc capables d'utiliser le Dursban comme seule source de carbone et d'énergie, et peuvent de ce fait être utilisées pour la biodégradation et la dépollution des sols contaminés par ces insecticides.

L'étude de quelques caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques a permis de rapprocher les deux souches actives aux genres *Streptomyces* et *Acinetobacter*.

### Perspectives

- Confirmation de la biodégradation de l'insecticide chlorpyrifos par la technique d'Hplc ;
- Identification des métabolites de biodégradation de cet insecticide par spectrométrie de masse ;
- Identification biomoléculaire des souches actives ;
- Utilisation de ces souches dans la dépollution des sols contaminés par le chlorpyrifos.





**Références**  
**Bibliographiques**

### Références bibliographique

- ACTA, Association de Coordination Technique Agricole., (2004). Index phytosanitaire.40 ,P :804.
- Afsset., (2010). Exposition de la population générale aux résidus de pesticides en France.Synthese des données d'utilisation, de contamination des milieux et d'impregnation de la population,P : 354.
- Agrawal A., Sharma B. (2010). Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems.
- Agric. Food. Chem., Suresh A., Varma B M., Kumar R P S.,(1997). Changes in protein metabolism in hemolymph and fat body of the Silkworm, *Bombyxmoori* (Lepidoptera=Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity. Ecotoxicol. Environ. safety (USA). 36,P:169-173.
- agriculture: their benefits and hazards. Interdisciplinary Toxicology. 2,P:1-12.
- Akbar S., Sultan S., Kertesz M., (2014). Bacterial community analysis in chlorpyrifos enrichment cultures via DGGE and use of bacterial consortium for CP biodegradation. World J Microbiol Biotechnol. 30,P:2755-2766.
- Aktar MW., Sengupta D., Chowdhury A., (2009). Impact of pesticides use in
- ARLA (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire),, (2000). Environmental Assessment of Chlorpyrifos. Division de l'évaluation environnementale, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, Ottawa .
- ARLA (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire),, (2007). Mise à jour sur la réévaluation du chlorpyrifos au Canada. Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, Ottawa.
- ARLA (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire),,(2000). Environmental Assessment of Chlorpyrifos. Division de l'évaluation environnementale, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, Ottawa.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry),,( 1997). Toxicological Profile for Chlorpyrifos. US Department of Health and Public Services, Atlanta, GA
- Aubertot J N., Barbier JM., Carpentier ., (2005). Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise Scientifique Collective INRA/CEMAGREF,P: 64 .

## Références bibliographique

- **Azmy A., Saafan A., Essam T., Magdy A., Shanban H ., (2015).** word academy of science ,Eenginnering International Journal of bioengineering and Life science .9 , P: 55-65 .
  - **Balagurunathan R. , Xu L., Jiang C., (1996).** Diversity of Actinomycetes from south India and south China. Actinomycetes.4, P :89-94.
- **Barriuso E., (2004).** Evaluation des risques environnementaux des pesticides. INRA Editions, Paris, P: 123.
- **Barriuso E., Calvet R., Schiavon M. et Soulas G., (1996).** Les pesticides et les polluants organiques des sols. Forum « le sol, un patrimoine menacé? » numéro spécial ,p : 279-295.
- **Belal E B., Zidan N A., Mahmoud H A., Eissa, F I., (2008).** Bioremediation of pesticides-contaminated soils. Journal of Agricultural Research, Kafrelsheikh University. 34, P : 588 – 608.
- **Benziane C., (2012).** Effet toxique des résidus des pesticides utilisés Sur la flore de la région de Sétif. These présenté pour l’obtenir diplôme de doctorat.
  - **Bergey’s Manual., (2004).** Systematic of bacteriology, Taxonomic outline of the prokaryotes. Second edition. Garrity. G.M; Bell. J. A; Lilburn.T.G, Springer, New York Berlin Heidelberg.
- **BerrahAwatef., (2011).** Etude sur les pesticides. Mémoire Master 2 en toxicologie appliquée . Université de Tébessa, Algérie ,P :2.
  - **Boatman ND et al., (2007).** Impacts of agricultural change on farmland biodiversity in the UK, In: Hester RE, and Harrison RM (eds), Biodiversity under threat, RSC Publishing, Cambridge ,p :1-32.
- **Boseret J-PH., (2000).** Pollution des sols: les pesticides [http://w.w.w.geocities.com/lboss\\_be\\_99/pesticides.htm](http://w.w.w.geocities.com/lboss_be_99/pesticides.htm)
  - **Bouziati M., (2007).** L’usage immodéré des pesticides : De graves conséquences sanitaires. Le guide de la médecine et de la santé en Algérie. Santemaghreb.com, p :4.
- **Buckley NA., Eddleston M., Li Y., Bevan M., Robertson J. Oximes., (2011).** for acute organophosphate pesticide poisoning. Cochrane SystRev .16, P :85-50.
  - **Calvet R ., (2000).** Le sol propriétés et fonctions, constitution et structure, phénomènes aux interfaces. Tome 1. Edition France Agricole. Paris (France), p :83- 90.

## Références bibliographique

- **Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit C., Charnay M P. et Coquet Y.,(2005).** Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. *Éditions France Agricole* ,**P : 637** .
- **Calvet R., Schiavon M., Soulas G., (1996).** Les pesticides et les polluants organiques des sols. *Forum « le sol, un patrimoine menacé? » numéro spécial* ,**p : 279-295**.
- **Calvet R.,(2005).** Les pesticides dans le sol : consequences agronomiques et environnementales.Reference scientifique. Editions France Agricole ,**P : 641** .
- **Ceylan O., Okmen G., UgurA.,(2008).** Isolation of soil Streptomyces as source of antibiotics active against antibiotic resistant bacteria. *EurAsian Journal of Biosciences*. **2,P: 73-82**.
- **Chanika E., Georgiadou D., Soueref E., Karas P., Karanasios E., Nikolaos GT., Tzortzakakis EA and Karpouzas DG.,(2011).** Isolation of Soil Bacteria able to Hydrolyze Both Organophosphate and Carbamate Pesticides. *Bioresource Tech*.**2,P:3184-92**.
- **Chapman ., Hall Ltd.,(1976)** . London:P: 632 . Wilkinson CF., *Insecticide Biochemistry and Physiology*, Vol. XXII. Plenum Press, New York,**P:768** .
- **Chen SH., Yang L., Hu MY., Liu JJ., (2011).** Biodegradation of fenvalerate and 3-phenoxybenzoic acid by a novel *Stenotrophomonas* sp. strain ZS-S-01 and its use in bioremediation of contaminated soils. *ApplMicrobiolBiotechnol*.**90,P: 755-767**.
- **Chishti Z., Hussain S., Arshad K R., Khalid A., Arshad M., (2013).** Microbial degradation of chlorpyrifos in liquid media and soil. *Journal of Environmental Management*.**114,P : 372-380**.
- **Christine C.,(2008).** Les pesticides encore appelées produits phytosanitaires, institut français de l'éducation ,**P : 4**.
- **Chung K H., Roy D., (1996).** Fate and enhancement of Atrazine biotransformation in Anaerobic Wetland Sediment. *Wat. Res* .**30,P:341-346**.
- **Chung MJ.,Jong KA.,(1998).**Isolation and characterization of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degrading bacteria from paddy soils. *J Microbiol* .**36,P:256-61**.
- **CIETAP.,(2003).** Guides produits phytosanitaires, réglementation et bonnes pratiques. *Phytoma-la défense des végétaux*.**560, P : 13-42**.

## Références bibliographique

- **Colleu S., Mignard E., (2000).** La lutte contre la pollution des sols par les pesticides: limiter les apports, réduire les fuites. INRA ,P :5.
- **Columa., (1977).** Les herbicides et le sol. *ACTA* ,P :143 .
- **Conso F., De Cormisl.,Cugier J ., Bouneb F., Delemotte B.,Gingomard M., Grillet J .,Pairon C.,(2002).** Toxicologie : impact des produits phytosanitaires sur la santé humaine,P : 659-698.
- **Darwin C., and Wallace A., (1858).** On the tendency of species to form varieties; and on the perpetuation of varieties and species by natural means of selection, *Journal of the Proceedings of the Linnean Society of London, Zoology*.3, p: 45-62.
- **De Schrijver A., and De Rene M.,(1999).** Degradation of Pesticide by Actinomycetes. *Critical Reviews of Microbiology*. 25 ,P: 85-119.
- **Devers M., Rouard N., Martin-Laurent F., (2007).** Fitness drift of an atrazine-degrading population under atrazine selection pressure. *Environmental Microbiology*.
- **Dhayanithi N B., Ajith Kumar TT., Kathiresan K., (2010).** Effect of neem extract against the bacteria isolated from marine fish. *Journal of Environmental Biology*. 31 ,P: 409-412.
- **Diez M C.,(2010).** Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants. *Journal of soil science and plant nutrition* .10,P: 244-267.
- **Ecobichon D J., (2001).** Carbamate Insecticides. In: Krieger R., Doull J.,Ecobichon D.J.,
- **Ecobichon D J., (2001).**Carbamate Insecticides. In: Krieger R., Doull J.,Ecobichon D.J.
- **Eddleston M., Singh S., Buckley N.,(2005).** Organophosphoruspoisoning(acute). *Clin EviTestud F.* Insecticides organophosphorés, carbamates anticholinestérasiques et pyréthriinoïdes de synthèse. In:TestudF,Garnier R, DelemotteB, editors. *Toxicologie humaine des produitsphytosanitaires*. Paris: ESKA, P : 67-116 .
- **Eddleston M., Singh S., Buckley N.,(2005).**Organophosphoruspoisoning(acute). *ClinEvid* ,P:44-55.
- **EDIALUX., (2002).** Fiche de données de sécurité : Nom du produit: EMPIRE\* 200 INSECTICIDE ,P : 7 . (<http://www.edialux.be/fr/vf/Fds%20Empire.pdf>).
- **Eisler R.,( 2000).** Handbook of Chemical Risk Assessment. Health Hazards to Humans, Plants, and Animals. Volume 2: Organics. LewisPublishers, Washington, D.C. Chapter .14, p : 883-902.

## Références bibliographique

- **Eisler R.,( 2000).** Handbook of Chemical Risk Assessment. Health Hazards to Humans, Plants, and Animals. Volume 2: Organics. Lewis Publishers, Washington, D.C. Chapter .14 ,P : 883-902.
- **Eissa FI., Mahmoud H A., Zidan N A., Belal E B., (2006).** Microbial, thermal and photodegradation of cadusafos and carbofuran pesticides. Journal of Pest Control and Environmental Sciences .14 , P: 107–130.
- **El-Meleigy M A., Mokhtar M M., Mohamed H F., Salem M S., (2011).**Morphological, biochemical and sequence base identification of some selenium tolerant Actinomycetes. New York science journal.4 , P : 8.
- **El-Meleigy M A., Mokhtar M M., Mohamed H F., Salem M., (2011).**Morphological, biochemical and sequence based identification of some selenium tolerant Actinomycetes. New York science journal.4,P: 8.
- **El-Merhibi A., Kumar A., and Smeaton T., (2004).** Role of piperonylbutoxide in the toxicity of chlorpyrifos to *Ceriodaphniadubia*and *Xenopuslaevis*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 57,P: 202-212.
- **EndrisRG.,Matthewson MD., Cooke MD., Amodie D .,(2000).** Repellency and efficacy of 65%.
- **Environnement Canada.,(1987).** Recommandations pour la qualité des eaux au Canada. Préparé par le Conseil canadien des ministres des ressources et de l'environnement.
- **EPA, US Environmental Protection Agency.,( 2000).** Reregistration eligibility science chapter for chlorpyrifos: Fate and environmental risk assessment chapter,P: 94.
- **EPPO., (1993).** Decision-making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products, Chapter 8, Earthworms. *EPPO Bulletin*. 23,P : 131-149.
- **FAO ., (2005).** Proceedings of the Asia Regional Workshop. Bangkok: Regional Office for Asia and the Pacific.
- **Fukuto T R., (1987).** «Organophosphorus and carbamates esters: The anticholinesterase insecticides ». In Fate of Pesticides in the Environnement, Proceedings of a Technical seminar; Division of Agriculture and Natural Resources, University of California Press: Oakland, chapitre 1.
- **Gerber H R .,Anderson J P E.,Bugel-mogensensenB.,Caster D., Domsch K H.,Malkoms H P .,Arnold D J .,Van dewerf H.,Verbeken R.,Vonk J H .,(1989).** Revision of recommended laboratory tests for assessing side-effects of

## Références bibliographique

- pesticides on soil microflora. 4th Int. Workshop, Basle, Bundesforschungsanstalt, Braunschweig.
- **Giesy J P., Solomon K R., Coates J R., Doxon K R., Giddings J .M.,Kenaga E. E., (1999).** Chlorpyrifos: Ecological risk assessment in North American environments. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* .160,P:1-130.
  - **Goda I. E., ElsayedT., A. Khodair W., El-Sayed., and M. E.Mohamed., (2010).** "Screening for and isolation and identification of malathiondegrading bacteria: cloning and sequencing a gene that potentially encodes the malathion-degrading enzyme, carboxylesterase in soil bacteria," *Biodegradation*, vol. 21. 6, P:903–913
  - **Goel A., Aggarwal P., (2007).**Pesticide Poisoning. *The National Medical Journal of India* .20, P:182 –191.
  - **Gouzy A., Farret R. and Le Gall A.C.,( 2005).** Détermination des pesticides à surveiller dans le compartiment aérien : approche par hiérarchisation, Rapport INERIS n° DRC – 05 – 45936 – 95 – AGo.
  - **Gueye O.,(2007).** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a Gram négatif. 27,P: 28-44.
  - **Guidance for reregistration of pesticides containingchlorpyrifos as the active ingredient.,(1984).** Case #0100. Office of Pesticide Programs. Washington, DC.
  - **Guide des produits chimiques utilisés pour la protection des cultures.,(1982).** 7e édition. Publication n° 1093.
  - **Guide to Codex recommendations concerning pesticide residues.,(1984).** Part 1. *General notes and guidelines*. La Hayes, Commissiondu Codex Alimentarius.CONSEIL DE L'EuROPE*Pesticides- Advice and recommendations* .
  - **Guliy O I., Ignatov O V., Makarov O E., Ignatov V V., (2003).** Determination of organophosphorus aromatic nitro insecticides and p-nitrophenol by microbial-cell respiratory activity. *Biosensors and Bioelectronics* .18,P : 1005-1013
  - **Gunn D.L.,Stenevs J.G.R., (1976) .Pesticides and human welfare.**Oxford, Oxford UniversityPress. GUPTA, S.K. ET AL. *Healthhazards*).
  - **Gupta PK., (2004).** Pesticide exposure—Indianscene. *Toxicology*. 198, P:83–90.
  - **Hachoumi Imane ., (2013) .Analyse et dosage des résidus de carbamates dans la pomme par HPLC,** Thesisfor: Master, Advisor , [https://www.researchgate.net/publication/316750118 Analyse et dosage des resi dus de carbamates dans la pomme par HPLC](https://www.researchgate.net/publication/316750118_Analyse_et_dosage_des_residus_de_carbamates_dans_la_pomme_par_HPLC))

## Références bibliographique

- **Hayakawa, M., (2008).** Studies on the isolation of rare actinomycetes in soil. *Actinomycetol.* **22,P : 12-19.**
- **Hayes W.,(1982).** Organicphosphorus pesticides. In: *Pesticides studied in man.* Baltimore: Williams & Wilkins .**p : 284-435.**
- **Hayes.,Laws E.,(1990).** Handbook of Pesticide Toxicology, Vol. 3, Classes of Pesticides. AcademicPress, Inc., NY.
- **HaysewJ ., (1991).** Dosage and other factors influencing toxicity. In W.J. Hayes &E.R.Laws :*Handbook of Pesticide Toxicology.* Academic Press, San Diego, CA, USA,**P:39-105.**
- **Hazardous Substances Databank.,(1988).**Toxicology Data Network. U.S. National Library of Medicine, Bethesda, MD.
- **Hollanander DH., Nell EE.,(1954).**Improved preservation of Treponemapallidum and other bacteria by freezing with glycerol. *ApplMicrobiol.* 1954 May,**2,P:164-170.**
- **Holland J M .,Frampton G K .,Cilgy T.,Wratten S D.,(1994).**Arable acronyms analysed - a review of ntegrated arable farming systems research in Western Europe. *Ann. appl. Biol.* **125, P:399-438.**
- **Holt J G., Krieg N R., SneathP H A., Staley J T., Williams ST.,(2000).**Bergeys manual of determinative Bacteriology, Lippincot Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland. 9th edition.
- **Hughes D N., Boyer M G., Papst M H., Fowle C D., Rees G A V et Baulu P.,(1980).** Persistence of three organophosphorus insecticides in artificial ponds and some biological implications. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **9, P :269.**
- **IAU (institutue d'aménagement et d'urbanisme)., (2010).** Produits phytosanitaires risques pour l'environnement et la santé; Connaissances des usages en zone non agricole, **P :22.**
- **IFEN.,( 2002).** Les pesticides dans les eaux : Bilan annuel .Etudes et Travaux IFEN .**36,P : 25.**(<http://www.ifen.fr/publications/ET/pdf/et36.pdf>).
- **Isenring R., (2010).** Les pesticides et la perte de la biodiversité. *Pesticide Action. Network Europ* ,**P: 15.**
- **Iwamoto T., Nasu M., (2001).** Current bioremediation: Practice and perspective. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* **12, P : 1-8.**



## Références bibliographique

- **Jensen A.A.,( 1983).** Chemical contaminants in human milk. *Res. Rev.* **89,P: 1-128.**
- **Jim C S., Van Veld P A., (1983).** Adaptation of natural microbial communities to degradation of xenobiotic compounds: effets of concentration, exposure, time, inoculum, and chemical structure. *Appl. Environ. Microbiol.***45,P:428-435.**
- **Karpouzas D G., Singh B K., (2006).** Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: Metabolic pathways and molecular basis. *Advances in microbial physiology.* **51,P :119-185.**
- **Keifer M., R.Mahurin R .,(2009).** Chronic neurologic effects of pesticide overexposure, *Occup Med*, 1997 Laurentin Dupuis : Intoxications par les organophosphorés BOUCHET Jean-Baptiste DESC Réanimation médicale Montpellier <http://slideplayer.fr/slide/1580137/>
- **Khan F., Rizvi M., Shukla I., Malik A. (2011).** A novel approach for identification of members of Enterobacteriaceae isolated from clinical samples. *Biology and Medicine.* **3, P : 313-319.**
- **Küster E.,S. T. Williams., (1964).** Selection of media for isolation of Streptomyces. *Nature, London.* **202,P: 928.**
- **Lallas P., (2001).** Reproductive Effects in Birds Exposed to Pesticides and Industrial Chemicals. The Stockholm Convention on persistent organic pollutants. *American Journal of International Law.* **95,P:692 –708.**
- **Lara D. Sette, Valéria M. de Oliveira & Gilson P. Manfio, (2005).** Isolation and characterization of alchlor-degrading actinomycètes from soil. *Tonie van Leeuwenhoek.* **87,P :81-89.**
- **Laurentin Dupuis.,(2009).** Intoxications par les organophosphorés BOUCHET Jean-Baptiste DESC Réanimation médicale Montpellier <http://slideplayer.fr/slide/1580137/R1> et R2 sont des groupements basiques, X est un groupement acide.
- **Li X.,He J., Li S., (2007).** Isolation of Chlorpyrifos Degrading Bacterium, *Shengomonassp*, strain DSP-2 and Cloning of the MPD Gene. *Research Microbiology.***158,P: 143-149.**
- **Linders J B H J ., Jansma J W., Mensink B J W G ., Otermank K .,(1994).** *Pesticides : benefaction or Pandora's box ? A synopsis of the*

## Références bibliographique

- environmental aspects of 243 pesticides*. National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM), report n° 679101014, Bilthoven, Pays-Bas.
- **Mackay D., Shiu W Y., Ma K C.,(1999)**. Physical-chemical Properties and Environmental Fate Handbook.,CRC Press LLC, Boca Raton, FL
  - **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,P: 429-466.
  - **Maya K., Singh R., Upadhyay S., Dubey S., (2011)**. Kinetic analysis reveals bacterial efficacy for biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolyzing metabolite TCP. *Process Biochemistry* .46, P: 2130–2136.
  - **Meziani M.,( 2012)**. Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentes phylogénétiques : cas des Entérobactéries et Pseudomonas. 39,P :41-45.
  - **Minton NR., Murray VSG.,(1988)**. A review of organophosphate poisoning. *Med ToxicolAdv Drug Exp*. 3,P : 350-75.
  - **Mollier P., Chabriat G., (2010)**. Pour une agriculture compétitive plus économe en pesticides. *INRA magazine*.12-35.
  - **Monacheva P., Tishkov S., Dimitrova N., Chipeva V., Nikolova S A., and Bogatzevska N.,(2000-2002)**. Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica. *Journal of Culture Collections*. 3,P: 3-14.
  - **Morrison R J., Harrison N., GangaiyaP.,( 1996)**. Organochlorine contaminants of the fiji islands. *Environ. Poli* .93,P: 159-167.
  - **Muhammad S G., (2010)**. Kinetic studies of catalytic photodegradation of chlorpyrifosinsecticide in various natural waters. *Arabian J. Chem*. 3,P :127-133.
  - **Nkang A O., Okonko O I., Fowotade A., Udeze A O., Ogunnusi T A., Fajobi E.A, et al., (2009)**. Antibiotics susceptibility profales of bacteria from clinical samples in Calabar, Nigeria. *J. Bacteriol*.1, P:89-96.
  - **OccupationalHealth Services.,(1986)**.Inc. Material safety data sheet on chlorpyrifos. Secaucus, N.J: OHS, Inc.)
  - **OccupationalHealth Services.,(1991)**. Inc. MSDS for Chlorpyrifos. OHS Inc., Secaucus, NJ.)
  - **Ottawa .,(1987)**. Environnement Canada/Agriculture Canada. Sondage auprès des fabricants de pesticides enregistrés, rapport de 1986. Direction des produits chimiques commerciaux, Conservation et Protection, Environnement Canada.

- **Ottow., HGlathe., (1968).** Rose Bengal- malt extract- agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Appl. Microbiol.* **16, P: 170-171.**
- **Park I K., Lee S.G., Choi D H., Ahn Y J., (2002).** Insecticidal properties of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparissobtusa* against *Callosobruchuschinensis* (L.) and *Sitophilusoryzae* (L.). *Journal of Stored Products Research.* **39,P : 375-384.**
- **Periquet Alain., Boisset Michel.,(2004).** Casse Francine. Catteau Michel. Lecerf Jean-Michel. Carole Leguille. Pesticides risques et sécurité alimentaire. Paris.
- **Philip C., Shrivastava A K.,(2014).** and Shrivastava, R. Effect of Organochlorine Pesticide on Growth of Actinomycetes. *Indian Journal of Science and research.* **4, P:191-195.**
- **Porta M., Zumeta E., (2002).** Implementing the Stockholm Treaty on Persistent Organic Pollutants. *Occupationnal and environmental medecine.* **59,P:651 -652.**
- **Regnault-Roger C., (2002).** De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire. In Regnault-Roger C., Philogène B. J. R., Vincent C. Biopesticides d'origine végétale. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, **p : 19-39.**
- **Reigert JR., Roberts JR., (1999).** Organophosphate Insecticides. Recognition and Management of Pesticide Poisonings. U. S. Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office. **5, P:34 - 40.**
- **Russell E., (1973).** *Soil conditions and plant growth.* Longman, London..
- **Sabit.Said O M., Shamseldin A E., El-Sayed K .,(2011).** "Molecular identification of *acinetobacter* isolated from Egyptian dumpsite as potential bacteria to degrade malathion," *Int.J.Acad.Res.* **4, P:84-90, 2011.**
- **Santos E R., Teles Z N S., Campos N M., Souza D A J., Bispo A S R., and Nascimento R P.,(2012).** Production of  $\alpha$ - Amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 Strain using Agro-industrial by-products. *An International Journal of Brazilian Archives of Biology and Technology.* **55,P: 793- 800.**
- **SaylerGS., Hooper SW., Layton AC ., King JMH.,(1990).** Catabolic plasmids of environmental and ecological significance. *Microbial Ecol.* **19,P:1- 20.**
- **Scotti G., (1978).** Les insectes et les acariens des céréales stockées. ITCF/AFNOR. Paris, **P : 238.**

- **Singh BK., KuhadRC., Singh A., Lal R .,TriapthiK K., (1999).** Biochemical andmolecular basis of pesticide degradation by microorganisms. Crit Rev Biotechnol.19,P: 197-225.
- **Singh, H., (2006).** Mycoremediation: Fungal bioremediation. John Wiley& Sons Inc, New Jersey.
- **Soulas G., (1999).** Techniques d'évaluation de l'écotoxicité des substances xénobiotiquesvis-à-vis de la microflore des sols. *Ingénieries*.19,P : 57-66.
- **SPEA R., (1991).** Recognised and possible exposure to pesticides. In W.J. Hayes & E.R. Laws, E.R. :*Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press, SanDiego, CA, USA,P: 245-274.
- **Sunitha B.J., OnkarappaR.,(2017).** Biodegradation of chlorpyrifos using Actinomycetes, isolated from coffee plantation soil of Chikmagalur, Karnataka, India. International Journal of Creative Research Thoughts .5, P:66-74.
- **Suntio L R., Shiu W Y., Mackay D., Seiber J N. et Glotfelty D.,(1988).** Critical review of Henry's Law constants for pesticides. Rev. Environ.Contam. Toxicol ,P: 103.
- **Tamura K., Dudley J., Nei M., (2007).** MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. MolBiolEvol.24,P:1596-1599.
- **The Royal Society of Chemistry.,(1988).** The agrochemicalshandbook. 2e édition (première mise à jour, avril 1988). Nottingham .
- **Tomlin., C D S., ( 1971).** The Pesticide Manual: A World The toxicity of organophosphorus compounds to mammals. Bull World Health Organ. 44,P:233-240.
- **Topp B L., Sherman W B.,Raseira M C B.,( 2008) .** Low-chill cultivar development. In: Layne, D.R.; Bassi, D., eds. The peach: botany, production and uses. CAB international, Wallingford, UK.),P: 106-138.
- **Truchon G., Tardif R., Drolet D ., Levesque M., Boucher J .,(2012) .**Guide technique T-03. Guide de surveillance biologique de l'exposition. Stratégie de prélèvement et interprétation des résultats, 7 édition, Que bec :L'insti-tut de recherche Robert- Sauvé en santé et en sécurité du travail(IRSST) .57,P :12-36 .
- **US Environmental Protection Agency.,( June, 1989).** Registration Standard (Second Round Review) for the Reregistration of Pesticide Products Containing Chlorpyrifos. Office of Pesticide Programs, US EPA, Washington, DC.)

## Références bibliographique

---

- **Vidali, M., (2001).** Bioremediation. An overview. Pure applied chemistry .73, P: 1163-1172.
- **WHO-UNEP.,( 1989).** *Public health impact of pesticides used in agriculture.* World Health Organization-United Nations Environment Programme. Genève, Suisse.
- **Wilkinson CF., (1976).** Insecticide Biochemistry and Physiology, Vol. XXII. Plenum Press, New York,P: 768.
- **Williams S T., Cross T., (1971).**“Actinomycetes” In: Methods in microbiology.Booth C. Ed., Academic Press, London. 4,P: 295-34.
- **Worthing C.R.,(1983).** The pesticide manual — a world compendium. 7e édition. British Crop Protection Council.
- **Xiaoqiang C., Hua F., Xuedong P., Xiao W., Min S., Bo F., and Yunlong, Y.,(2008).** Degradation of Chloropyrifos alone and in Combination with Chlorothalonil and their effects on soil microbial populations. Journal of Environmental Science. 20, P:464-469.
- **Xue N., Xu X., Jin Z., (2005).** Screening 31 endocrine-disrupting pesticides in water and surface sediment samples from Beijing Guanting reservoir. Chemosphere. 61, P : 1594–1606.
- **Yang,C., Liu N ., Guo X., Qiao C., (2006).** Cloning of mpd gene from a Chloropyrifos degrading bacterium and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. *FEMS Microbiology Letter* .265,P: 118-125.
- **Ying Hou., Jian Tao., WenjingShen., Juan Liu., Jingquan Li., Yongfeng Li., Hui Cao .,Zhongli Cui., (2011).** Isolation of the fenoxaprop-ethyl (FE)-degradingbacterium.
- **Zaitlin B., Watson S.b., Ridal J., Satchwill T. & Parkinson D., (2003).**Actinomycetes in lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. *Res. J. Can.* 95,P:113-118
- **Zaki M M., Saleh E M., Rahal A., Sonya H., Mohamed., (2012).** *Streptomyces* species able to utilize some herbicides as nitrogen and carbon sources.Pak. J. biotechnol.9,P: 57-70.

A decorative scroll graphic with a black outline and a white fill. The scroll is unrolled in the middle, with the top and bottom edges curving upwards at the ends. The word "Annexes" is written in a bold, black, serif font across the center of the scroll.

# Annexes

Annexe 1

Milieux de culture

**Milieu de sel minéral (MSM)**

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,5 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5g

NaCl 0,5g

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5g

MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,2g

PH = 6,8-7,0

Eau distillée 1000 ml

**Gélose nutritive GN**

Peptone 6g

Extrait de bœuf 1g

Extrait de levure 2g

Chlorure de sodium 5g

Agar 14g

Eau distillée 1000 ml

PH = 7.3

**Milieu ISP 2**

Extrait de levure 4 g

Extrait de malt 10 g

Glucose 4 g

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

pH = 7,3

### Milieu ISP9

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2,64 g

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  2,38 g

$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  5,65 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1 g

Solution saline 21 ml(Annexe2)

Eau distillée 1000 ml

pH = 6,8-7,0

### Milieu Mannitol Mobilité

Peptone 20 g

Nitrate de potassium 1 g

Mannitol 2 g

Rouge de phénol 40mg

Eau distillée 1000 ml

Agar 4 g

pH = 8,1

### Milieu Citrate de Simmons

Citrate de sodium 1g

Chlorure de sodium 5g

Sulfate de magnésium 200mg

Dihydrogénophosphate d'ammonium 1g

Monohydrogénophosphate de potassium 1g

Bleu de bromotymol 80mg

Agar 1

Eau distillée 1000 ml

PH=6,8

### Milieu urée- indol



L-Tryptophane **3g**

Phosphate monopotassique **1g**

Chlorure de sodium **5g**

Urée **20g**

Rouge de phénol **0.025**

Alcool à 95° **0.01mL**

Eau distillée **1000 ml**

PH=**6,7**

### **Milieu TSI ( TripleSugarIron Bio-Rad)**

Extrait de viande **3g**

Extrait de levure **3g**

Peptone **20g**

Chlorure de sodium **5g**

Lactose **10g**

Saccharose **10g**

Glucose **1g**

Sulfate ferreux ammoniacal **300mg**

Rouge de phénol **24mg**

Thiosulfate sodium anhydre **300mg**

Agar **11g**

Eau distillée **1000 ml**

PH=**7,4**

**N.B.** L'ajustement des pH des milieux de cultures s'effectue à l'aide d'une solution de **NaOH 1N** ou une solution d'**HCl 1N** selon le cas.

**Annexe 2**

**Solutions et colorants**

**Solution d'oligo – éléments.**

Na<sub>2</sub>EDTA · 2H<sub>2</sub>O, **500mg**

FeCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O **143mg**

ZnCl<sub>2</sub> **4,7mg**

MnCl<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O **3,0mg**

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> **30mg**

CoCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O **20mg**

CuCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O **1mg**

NiCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O **2mg**

Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O **3,0mg**

CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O **100mg**

**Solution saline 2**

CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O **0,64 g**

FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O **0,11 g**

MnCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O **0,79 g**

ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O **0,15 g**

Eau distillée **100ml**

**Violet de gentiane**

Violet de gentiane 1g Ethanol **10ml**

Phénol 2g Eau distillée **100ml**

Annexe 3



L'insecticides commercialisé « DURSBAN »

### Résumé

A partir d'un sol forestier traité par l'insecticide Dursban (48% chlorpyriphos), une souche Bactérienne notée X1 est isolée par enrichissement sélective sur milieu MSM supplémenté par l'insecticide Dursban comme seule source de carbone et d'énergie et supporte de forte concentration (10 fois la dose recommandé) de ce pesticide sur milieu GN.

D'un autre coté, trois souches d'actinomycètes précédemment isolées par Mme Zermane .F (MAA ,UMC1) sont soumises aux mêmes tests et tolèrent le Dursban à une dose dix fois supérieur à la dose recommandée sur milieu ISP2 .

La dégradation du pesticide par l'ensemble des souches, est estimée par mesure de leur croissance (DO) à 600 nm pendant 10 jours, sur milieux minérales additionnés de Dursban comme seule source de carbone et d'énergie.

Deux souches (X1, A1) présentent une croissance maximal sur cet insecticide, et possèdent de ce fait un potentiel élevé d'être utilisées dans la bioremédiation des environnements pollués par le chlorpyriphos

L'étude des caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques), biochimiques et physiologiques, a permis de rapprocher les deux souches actives au genre *Streptomyces* et *Acinetobacter*

**Mot clés:** Pollution, organophosphoré, chlorpyriphos, bioremédiation, Streptomyces, Acinetobacter.

### Summary

From a forest floor treated with Dursban Insecticide (48% chlorpyrifos), a bacterial strain noted X1 is isolated by selective enrichment on MSM medium supplemented with insecticide Dursban as sole source of carbon and energy and supports strong concentration (10 times the recommended dose) of this pesticide on GN medium.

On the other hand, three strains of actinomycetes previously isolated by Ms. Zermane .F (MAA, UMC1) are subjected to the same tests and tolerate Dursban at a dose ten times higher than the recommended dose on ISP2 medium.

The degradation of the pesticide by all strains, is estimated by measuring their growth (OD) at 600 nm for 10 days, on mineral media supplemented with Dursban as sole source of carbon and energy.

Two strains (X1, A1) show maximum growth on this insecticide, and thus have a high potential to be used in the bioremediation of environments polluted by chlorpyrifos

The study of the morphological (macroscopic and microscopic), biochemical and physiological characteristics, allowed to bring the two active strains to the genus *Streptomyces* and *Acinetobacter*

**Key words:** Pollution, organophosphorus, chlorpyrifos, bioremediation, *Streptomyces*, *Acinetobacter*.

### ملخص:

إنطلاقاً من تربة غابية معالجة بواسطة المبيد الحشري، (كلوربيريفوس 48%) Dursban، تم عزل السلالة البكتيرية XI بواسطة التخصيب الإنتقائي في الوسط الزراعي MSM مضاف له المبيد الحشري Dursban كمصدر وحيد للكربون و الطاقة و السلالة XI مقاومة لتراكيز عالية (10 أضعاف التركيز الموصى به) لهذا المبيد في الوسط الزراعي .GN

من ناحية أخرى، ثلاثة من الفطريات الشعاعية معزولة من قبل السيدة ( MAAUMG ). Zermene تعرضوا لنفس الاختبارات، بحيث وجدانهم يستطيعون مقاومة هذا المبيد الحشري Dursban بتراكيز عالية 10 اضعاف التركيز الموصى به في الوسط الزراعي ISP2.

تم تقدير هدم المبيد من قبل السلالات البكتيرية من خلال قياس نموها Do على 600 نانومتر لمدة 10 ايام في الأوساط المعدنية مضاف لها المبيد Dursban كمصدر وحيد للكربون و الطاقة.

السلالتين XI، AI لديهما نمو أعلى على هذا المبيد و بالتالي لديها القدرة لإستخدامها في المعالجة البيولوجية للبيئات الملوثة بكلور بيريفوس.

الدراسة المرفولوجية (العينية و المجهرية) و الدراسة الكيمائية الحيوية و الفيزيولوجية ساعدت على التعرف على السلالات النشطة من جنس: السبحية و الراكدة.

الكلمات المفتاحية: التلوث، كلور بيريفوس، الفوسفات العضوي، المعالجة البيولوجية، السبحية، الراكدة.

**,Isolement et caractérisation des microorganismes résistants à l'Insecticide chlorpyryphos et capables de l'utiliser comme seule source de carbone et d'énergie**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en **Ecologie Microbienne**.**Résumé**

A partir d'un sol forestier traité par l'insecticide Dursban (48% chlorpyriphos), une souche Bactérienne notée X1 est isolée par enrichissement sélectif sur milieu MSM supplémenté par l'insecticide Dursban comme seule source de carbone et d'énergie et supporte de forte concentration (10 fois la dose recommandé) de ce pesticide sur milieu GN.

D'un autre coté, trois souches d'actinomycètes précédemment isolées par Mme ZARMANE F (MAA ,UMC1) sont soumises aux mêmes tests et tolèrent le Dursban à une dose dix fois supérieur à la dose recommandée sur milieu ISP2 .

La dégradation du pesticide par l'ensemble des souches, est estimée par mesure de leur croissance (DO) à 600 nm pendant 10 jours, sur milieux minérales additionnés de Dursban comme seule source de carbone et d'énergie.

Deux souches (X1, A1) présentent une croissance considérable sur cet insecticide, et possèdent de ce fait un potentiel élevé d'être utilisées dans la bioremédiation des environnements pollués par le chlorpyriphos

L'étude des caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques), biochimiques et physiologiques, a permis de rapprocher les deux souches actives au genre *Streptomyces* et *Acinetobacter*

**Mots clés :** Pollution, organophosphoré, chlorpyriphos, bioremédiation ,*Streptomyces*, *Acinetobacter*.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire N° 14 de Microbiologie

Jury d'évaluation :

**Présidente du jury :** *Abdelaziz Wided* (Maître Assistante A - UFM Constantine).

**Rapporteur :** *Zermane Férial* (Maître Assistante A - UFM Constantine).

**Examinatrice :** *Mergoud Lilia* (Maître Assistante A - UFM Constantine).

**Date de soutenance :** 01/07/2018