



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 : *Biologie moléculaire des microorganismes*

Intitulé :

---

## Essai d'optimisation de la biodégradation de l'herbicide Apyros (75% Sulfosulfuron) par une souche d'actinomycète

---

Présenté et soutenu par : *Redouane AminaYasmine*

Le : 21/07/2019

*Adref Amina*

Jury d'évaluation :

Président du jury : *ABDALAZZIZ Widad* (MCB- UFM Constantine1).

Rapporteur : *ZERMANE Ferial* (MAA - UFM Constantine1).

Examinatrice : *MEZIANI Meriem* (MAA- UFM Constantine1).

*Année universitaire  
2018 - 2019*

## **Remerciements**

*Nous remercions Dieu d'avoir donné à l'homme le pouvoir de raisonner et d'exploiter les vérités de l'univers.*

*Nous remercions profondément, notre encadreur Mme Zermane F pour son aide, sa patience, sa gentillesse, ses conseils lors de la rédaction de ce mémoire, ainsi pour son œil critique qui nous a été très précieux pour structurer le travail et améliorer la qualité des différentes sections.*

*Nos sincères remerciements vont aussi à Mme Abdelaziz W de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury, nous avons eu la chance de l'avoir comme président de thèse de Master et nous voulions qu'elle sache que leur étudiantes garderont toute leur vie un très bon souvenir.*

*Nos remercions aussi Mme Meziani M pour l'intérêt qu'elle a porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.*

*Nous remercions Dr Lezzar Fouzi responsable de conférence de l'Est (Université Abdelhamid Mehri Constantine 2), pour toute l'assistance.*

*Nous exprimons notre profond remerciement à Madame Loucif Karima (doctorante et chercheur) pour l'excellent accueil, les conseils avisés, la bonne humeur partagée, et de nous avoir répondu a nos questions.*

*Nous souhaitons remercier aussi Monsieur Chehili Hamza enseignant en informatique pour les informations qu'il nous a transmises, nous avons grandement apprécié votre soutien.*

*Nous remercions également Monsieur Nabil ingénieur du laboratoire de biochimie ainsi que Madame Nadia et Nadjet tous pour leur accueil.*

*Nous remercions également la doctorante Oumaima pour son aide.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants qui par leur compétence nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.*

*Nous voudrions aussi exprimer nos vifs remerciements à tous ceux qui ont été un soutien moral et aide de près ou de loin.*

*Merci à vous*

*Amina yasmine*

*Amina*

# *Dédicaces*

*Merci Allah pour m'avoir donné la sante, la volonté nécessaire et la force pour mener à réalisé ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui m'aiment, qui croient en moi et me donne des raisons de devenir meilleur.*

*A mon Père, le meilleur des pères dont je suis fier, mon guide et mon exemple dans cette vie, L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif, merci papa pour ce que tu as été pour moi  
Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te Préserve et te procure santé et longue vie.*

*A ma mère qui m'a encourager durant toutes mes études, et qui sans elle, ma réussite n'aura pas en lieu, merci pour vos prières, votre soutien.  
Qu'Allah t'accorde longue vie dans la santé*

*A mon très cher frère Walid à celui qui me soutien, celui qui m'a accompagné dans les bons et mauvais moments de la vie, celui qui m'apportes de la joie dans ma vie, tu es un grand frère au grand cœur. Je t'adore mon frère*

*A ma très chère sœur Meriem, Ensemble nous avons traversé des moments difficiles avec courage, nous avons surmonté les incompréhensions et les conflits, merci pour ton encouragement continu, Sans toi ma vie ne serait que simple. Je t'aime ma sœur*

*A mon binôme « Amina » qui a partagée avec moi les bons et les mauvais moments de ce Travail. C'était un véritable plaisir de travailler avec toi Amina. Je suis fier de notre fidélité en amitié.*

*A mon entraîneur de karaté, Je suis aujourd'hui super fière d'être ceinture noire car c'est une étape très importante dans la vie d'un karatéka et c'est grâce à vous. Je suis aussi très contente d'avoir un coach comme vous  
Je vous remercie de tout cœur*

*Ames superbes amies et sœurs Nassima, Manel et sa fille Rochen, Meriem, Loubna, Roumaïssa, Roufaïda, Wassila. Mille merci, je suis vraiment chanceuse de vous voir à mes cotés. Je vous aime*

*Amina Yasmine*

## *Je dédie ce travail*

*A la mémoire de*

*Mes chères parents, ma grande mère Yakouta, j'aurais aimé qu'ils soient à mes cotés ce jour, J'espère qu'ils soient fières de moi.*

*A mes chères frères : Hichem, Imad, Fares, Faycal et Jaloul pour leur amour*

*A mes chères sœurs*

*Meriem et Loulou que j'aime le plus fort au monde, merci pour votre amour, soutien et compréhension, qui m'ont toujours encouragé tout au long de mes études.*

*Que Dieu les gardent et les protègent en leur souhaitant une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A ma très chère tante Nassira, pour son amour et aide toutes ses années, sans oublier son marie Djamel.*

*Ames chères Merwa, Yasmine, Safaa et Noureddine .*

*A toute ma famille*

*A ma très chère amie d'enfance Amina Yasmine pour tous les moments que nous avons passés ensemble, durant ces années.*

*A tous ceux qui ne sont pas mentionnés dans ce mémoire, mais ils sont dans mon cœur.*

*AMINA*

**Liste des abréviations****Listes des figures****Liste des tableaux**

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>I. Les sulfonylurées.....</b>	<b>3</b>
1. Historique.....	3
2. Définition.....	5
3. Le marché des sulfonylurées.....	5
3.1. Le marché mondial.....	5
3.2. Le marché Algérien.....	6
4. Chimie et activité herbicide des sulfonylurées.....	7
5. Propriétés physico-chimiques des sulfonylurées.....	8
6. Mode d'action.....	9
7. Toxicité des sulfonylurées.....	10
8. Devenir des sulfonylurées dans le sol.....	11
8.1. Dégradation des sulfonylurées.....	11
8.1.1. Hydrolyse.....	12
8.1.2. Dégradation microbiologique.....	12
9. Facteur influençant la dégradation des sulfonylurées.....	14
9.1. La température.....	14
9.2. Le pH.....	14
9.3. L'humidité relative.....	15
9.4. Effet de la concentration de sulfonylurées.....	16
9.5. Conditions météorologiques.....	16
10. Résistance aux sulfonylurées.....	16
<b>II. Le Sulfosulfuron.....</b>	<b>17</b>
1. Définition.....	17
2. Propriétés physico-chimiques de sulfosulfuron.....	18
3. Mode d'action.....	18
4. Persistance du sulfosulfuron dans le sol.....	19
5. Effet du sulfosulfuron sur la germination et la croissance des plantes.....	19
6. Effets du sulfosulfuron sur l'environnement.....	20

---

7. Dégradation du Sulfosulfuron.....	20
<b>III. Herbicides commerciales à base de Sulfosulfuron</b>	<b>20</b>
1. Généralités.....	20
2. L'herbicide APYROS .....	21
2.1. Caractéristiques.....	21
2.2. Mode d'action.....	21
2.3. Utilisation.....	22
3. L'herbicide Monitor .....	22
3.1. Définition.....	22
3.2. Caractéristiques.....	23
3.3. Mode d'action.....	23
3.4. Utilisation.....	23
❖ <b>Matériel et méthode</b>	
1. Purification et réactivation de la souche d'actinomycète A1 dégradante de l'herbicide sulfosulfuron.....	25
2. Milieux et réactifs.....	25
3. Préparation des inocula des souches isolées.....	25
3.1. Préparation de l'inoculum générale.....	25
3.2. Préparation de l'inoculum lavé.....	26
4. Etude, in vitro, des facteurs influençant la biodégradation de l'herbicide Apyros par une souche d'actinobactérie A1 .....	26
4.1. Etude de l'effet de la Température.....	26
4.2. Etude de l'effet du pH.....	27
4.3. Etude de l'effet de la concentration de l'Apyros.....	27
5. Etude de la cinétique de dégradation de l'herbicide Sulfosulfuron.....	27
6. Etude chimiotaxonomique de la souche d'actinomycète.....	28
6.2. Détermination des acides aminés pariétaux.....	28
6.2.1. Hydrolyse acide des cellules.....	28
6.2.2. Analyse chromatographique.....	28
6.3. Détermination des sucres cellulaires.....	29
6.3.1. Analyse cellulaire des sucres.....	29
6.3.2. Analyse chromatographique.....	29

---

<b>❖ Résultats et discussion</b>	
1. Purification et réactivation de la souche d'actinomycète A1 dégradante de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron) .....	<b>31</b>
2. Etude, <i>in vitro</i> , des facteurs influençant la dégradation de l'herbicide Apyros par la souche d'actinomycète A1.....	<b>31</b>
➤ Effet de la température .....	<b>31</b>
➤ Effet du pH .....	<b>33</b>
➤ Effet de la concentration.....	<b>36</b>
3. Etude in- vitro de la cinétique de la dégradation de l'herbicide Sulfosulfuron.....	<b>38</b>
➤ Effet de la température.....	<b>38</b>
➤ Effet du pH .....	<b>39</b>
➤ Effet de la concentration.....	<b>40</b>
4. Etude des caractères cultureux et identification chimiotaxonomique de la souche A1 dégradante de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron).....	<b>41</b>
4.1.Caractères cultureux de la souche A1.....	<b>41</b>
4.2. Etude chimiotaxonomique de la souche d'actinomycète A 1 purifiée.....	<b>43</b>
❖ <b>Conclusion générale</b> .....	<b>45</b>
❖ <b>Référence bibliographiques</b> .....	<b>46</b>
❖ <b>Annexes</b>	

**ACI** : Agro Consulting International

**ALS** : Acétolactate synthétase

**CCM** : Chromatographie en couche mince

**CuSO<sub>4</sub>** : Sulfate de cuivre

**°C** : Degré Celsius

**DAP**: Acide 2,6 diaminopimélique

**FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O** : Sulfate de fer sept fois hydraté

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Acide sulfurique

**ISP**: *International Streptomyces Project*

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>**: Phosphate monopotassique

**K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**: Phosphate dipotassique

**MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O**: Sulfate de magnésium sept fois hydraté

**MnCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O**: Chlorure de manganèse quatre fois hydrate

**m/v**: masse/volume

**(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Sulfate d'ammonium

**PF**: Point de fusion

**pH**: Potentiel d'hydrogène

**pKa**: Constante d'acidité

**PM**: Poids moléculaire

**SE**: Solubilité dans l'eau



**SSCE** : Seule Source de Carbone et d'Energie

**SU**:Urées-Sulfonyle

**THDP**:Thiaminedi-phosphate

**Tpm**: tour par minute

**v/v** :volume/volume

**WG** : Water dispersible granules (Granules soluble dans l'eau)

**ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O**: Sulfate de zink sept fois hydrate

---

<b>Figure 1:</b> les premières tentatives de synthèse d'herbicides sulfonyles.....	4
<b>Figure 2 :</b> structure chimique de la Propazine.....	4
<b>Figure 3 :</b> Evolution (en tonnes) des sulfonyles commercialisés en France entre 2000 et 2004.....	6
<b>Figure 4:</b> Structure générale des sulfonyles.....	7
<b>Figure 5 :</b> Structure moléculaire du Sulfosulfuron.....	17
<b>Figure 6 :</b> Effets du sulfosulfuron utilisé en post émergence sur les feuilles formées après pulvérisation des plantules de soja.....	19
<b>Figure 07 :</b> Variation de l'absorbance la souche A1 à différentes températures.....	32
<b>Figure 8 :</b> Variation de l'absorbance de la souche A1 à différents pH.....	34
<b>Figure 9:</b> Variation de l'absorbance de la souche A1 à différentes concentrations de l'herbicide Apyros.....	36
<b>Figure 10 :</b> cinétique de biodégradation du sulfosulfuron à différentes températures.....	38
<b>Figure 11 :</b> cinétique de biodégradation du sulfosulfuron à différents pH en fonction du temps.....	39
<b>Figure 12 :</b> cinétique de biodégradation du sulfosulfuron à différentes concentration en fonction du temps .....	41
<b>Figure 13 :</b> Caractères culturaux de la souche A1 sur le milieu ISP2.....	42
<b>Figure 14 :</b> caractérisation des acides aminés pariétaux par chromatographie sur papier, de la souche A1.....	44

---

<b>Tableau 01</b> : Niveau d'activité des sulfonyleurées selon leurs constituants .....	8
<b>Tableau 02</b> : Propriétés physicochimiques de quelques sulfonyleurées.....	9
<b>Tableau 03</b> : les propriétés physico-chimiques du sulfosulfuron.....	18
<b>Tableau 04</b> : Caractéristiques d'herbicide Apyros.....	21
<b>Tableau 05</b> : Usage et dose appliquée de l'herbicide Apyros.....	22
<b>Tableau 06</b> : Quelques caractéristiques d'herbicide Monitor.....	23
<b>Tableau 07</b> : Champ d'activité de Monitor en application de sortie d'hiver.....	24
<b>Tableau 08</b> : croissance de la souche A1 à différentes températures.....	31
<b>Tableau 09</b> : Effet du pH sur la croissance de la souche A1 .....	33
<b>Tableau 10</b> : Effet de la concentration de l'Apyros sur la croissance de la souche A1 .....	36
<b>Tableau 11</b> : densité optique du surnageant en fonction du temps à différentes température.....	38
<b>Tableau 12</b> : densité optique du surnageant à différents pH.....	39
<b>Tableau 13</b> : La densité optique du surnageant à différentes concentrations du sulfosulfuron.....	40
<b>Tableau 14</b> : critères chimiques d'identification des actinomycètes.....	43

## ملخص

تمت تنقية سلالة أكتينوميستال A1 المعروفة بقدرتها على تحليل مبيدات الأعشاب أبيروس (سلفوسولفورون 75٪) على الوسط ISP2 تتم دراسة تحلل مبيدات الأعشاب الضارة (سولفوسولفورون) بواسطة سلالة A1 تحت تأثير تباين بعض العوامل: درجة الحرارة ( 25 درجة مئوية ، 30 درجة مئوية و 35 درجة مئوية) ، درجة الحموضة (5، 7 و 9) ، تركيز Apyros، 0.05 (غ/ل، 0.1 غ/ل و 0.2 غ/ل) ، على فترات زمنية مختلفة (20 سا، 24 سا، 43 سا، 72 سا، 96 سا). يتم تقدير هذا التحلل من ناحية عن طريق قياس النمو البكتيري بواسطة مقياس الطيف المرئي للأشعة فوق البنفسجية عند 600 نانومتر، ومن ناحية أخرى عن طريق قياس الكثافة البصرية لطاف الزراعة البكتيرية عند 255 نانومتر. وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها للنمو البكتيري الأمثل وكذلك تحلل مبيدات الأعشاب Apyros (Sulfosulfuron) عند 25 درجة مئوية، ودرجة الحموضة = 9 و تركيز 0.1 غ/ل من Apyros الخصائص الزراعية ودراسة التصنيف الكيميائي للجدار الخلوي للسلالة A1 قد جعلته أقرب إلى جنس *Streptomyces*.

الكلمات المفتاحية: اكتينوميستات، ستريبتوميستات، مبيدات الاعشاب، التحلل، ابيروس، سلفوسولفورون، الامثل.

## Résumé

Une souche actinomycétale A1 connue par sa capacité à dégrader l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron 75%) a été purifiée sur milieu gélosé *ISP2*. La dégradation de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron) par la souche A1 est étudiée sous l'effet de la variation de certains facteurs : température (:25 °C, 30 °C et 35 °C), pH (5,7 et 9), Concentration de l'Apyros (0.05 g/l, 0.1 g/l et 0.2 g/l), à différents intervalles de temps (20h, 24h, 43h, 72h et 96h). Cette dégradation est estimée d'une part par mesure de la croissance bactérienne par spectrophotomètre UV-visible à 600 nm, et d'autre part par mesure de la densité optique du surnageant de la culture bactérienne à 255nm. D'après les résultats obtenus, L'optimum de la croissance bactérienne et ainsi la dégradation de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron) ont été constaté à 25°C, pH =9 et à une concentration de 0.1g/l de l'Apyros. Les caractères cultureux et l'étude chimiotaxonomique de la paroi cellulaire de la souche A1, ont permis de la rapprocher au genre *Streptomyces*.

**Mots clés :** actinomycètes, Streptomyces, Herbicide, Apyros, Sulfosulfuron, Dégradation, optimisation.

***Abstract***

An actinomycétale A1 strain known by its ability to degrade Apyros herbicide (Sulfosulfuron 75%) was purified on ISP2 agar medium. The degradation of Apyros (Sulfosulfuron) herbicide by the A1 strain is studied under the effect of the variation of certain factors: temperature (: 25 °C, 30 °C and 35 °C), pH (5,7 and 9) ), Concentration of Apyros (0.05 g / l, 0.1 g / l and 0.2 g / l), at different time intervals (20h, 24h, 43h, 72h and 96h). This degradation is estimated on the one hand by measuring the bacterial growth by UV-visible spectrophotometer at 600 nm, and on the other hand by measuring the optical density of the supernatant of the bacterial culture at 255 nm. According to the results obtained, the optimum bacterial growth and thus the degradation of Apyros herbicide (Sulfosulfuron) were observed at 25 ° C, pH = 9 and at a concentration of 0.1 g / l of Apyros. The cultural characteristics and the chemotaxonomic study of the cell wall of the A1 strain have brought it closer to the genus *Streptomyces*.

**Key words:** Actinomycetes, *Streptomyces*, Herbicide, Apyros, Sulfosulfuron, Degradation, Optimization.

# *Introduction*

Le secteur agricole pose, actuellement, dans le monde en générale et en Algérie en particulier de nombreux problèmes de pollution surtout ceux causés par les pesticides. Les pesticides ont une arme à double tranchant. D'une part, ce sont désormais des moyens efficaces et indispensables pour la protection des cultures et d'autre part, des polluants potentiels de l'environnement et des poisons qui peuvent arriver jusqu'à nos assiettes.

Pour toutes ces raisons, les pesticides ont fait l'objet de nombreuses études durant ces dernières années non seulement pour protéger la santé humaine mais aussi pour mieux comprendre leur comportement et surtout leur devenir dans l'environnement (**Benalileche et Ikhlef, 2016**).

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

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

Au cours de son transport, le polluant organique subit différents processus de transformation qui génèrent des sous-produits plus ou moins toxiques. De nombreuses études abordent ce sujet sous forme d'essais au laboratoire et/ou en plein champ, cherchant à identifier les principales voies de dégradation pour chaque famille de pesticides, à optimiser la dégradation biologique et à les intégrer dans les modélisations sur le devenir des polluants dans l'environnement.

De ce fait, l'objectif de notre travail est d'optimiser la biodégradation d'un herbicide qui appartient à la famille des Sulfonylurées commercialisé sous forme de plusieurs formulations tel que : l'Apyros (Sulfosulfuron) qui est largement utilisé en



Algérie ; par une souche d'actinomycète déjà connue par sa capacité à dégrader ce même pesticide.

Pour atteindre cet objectif, quatre étapes ont été suivies durant ce travail :

\*\* Purification d'une souche actinomycétale capable de tolérer et dégrader l'herbicide Apyros.

\*\* Etude, in vitro, des facteurs qui affectent la dégradation de l'herbicide Apyros (température, pH, concentration) par la souche d'actinomycète ;

\*\* Etude, in vitro, de la cinétique de biodégradation de l'herbicide Sulfosulfuron, par spectrophotométrie.

\*\* Identification chimiotaxonomique d'actinobactérie d'intérêt.

*Synthèse  
bibliographique*

## I. Les sulfonylurées

### 1. Historique

Les propriétés herbicides des sulfonylurées ont été rapportées pour la première fois en 1966 par Koog avec le composé **I** dérivé de la propazine (**Figure 1**), l'activité du composé I était très similaire à celle de la molécule mère propazine (**Figure 2**). Au début des années 70 le biophysicien et chimiste américano-israélo-britannique Levitt nota que la sulfonylurée **II** (**Figure 1**), dérivée du 4-cyanoaniline avait une faible action sur la croissance des plantes et ce n'est qu'en 1975 qu'il a pu synthétiser la sulfonylurée **III** (**Figure 1**). C'est ainsi qu'un large programme de recherche dans l'histoire des produits phytosanitaires commença (**Hay, 1990**).

Les propriétés sulfonylurées ont été développées à la fin des années 1970, et sont quasiment dans tous les programmes de désherbage des cultures sur toute la planète (blé, colza, maïs, riz, pomme de terre...) (**Lee et al., 2013**).

Le premier herbicide sulfonylurée commercialisé fut le chlorsulfuron en 1981 (**Brown et Cotterman, 1994**). Actuellement, la famille des sulfonylurées est composée d'une vingtaine d'herbicides développés principalement par le chimiste français Du Pont. Ces molécules sont caractérisées par une activité herbicide à des doses très réduites (10-100 fois moins que les herbicides conventionnels), ce qui a permis leur introduction rapide sur le marché des herbicides (**Brown et Cotterman, 1994**). On compte aujourd'hui plus de 50 produits différents sur le marché (**Lee et al., 2013**).

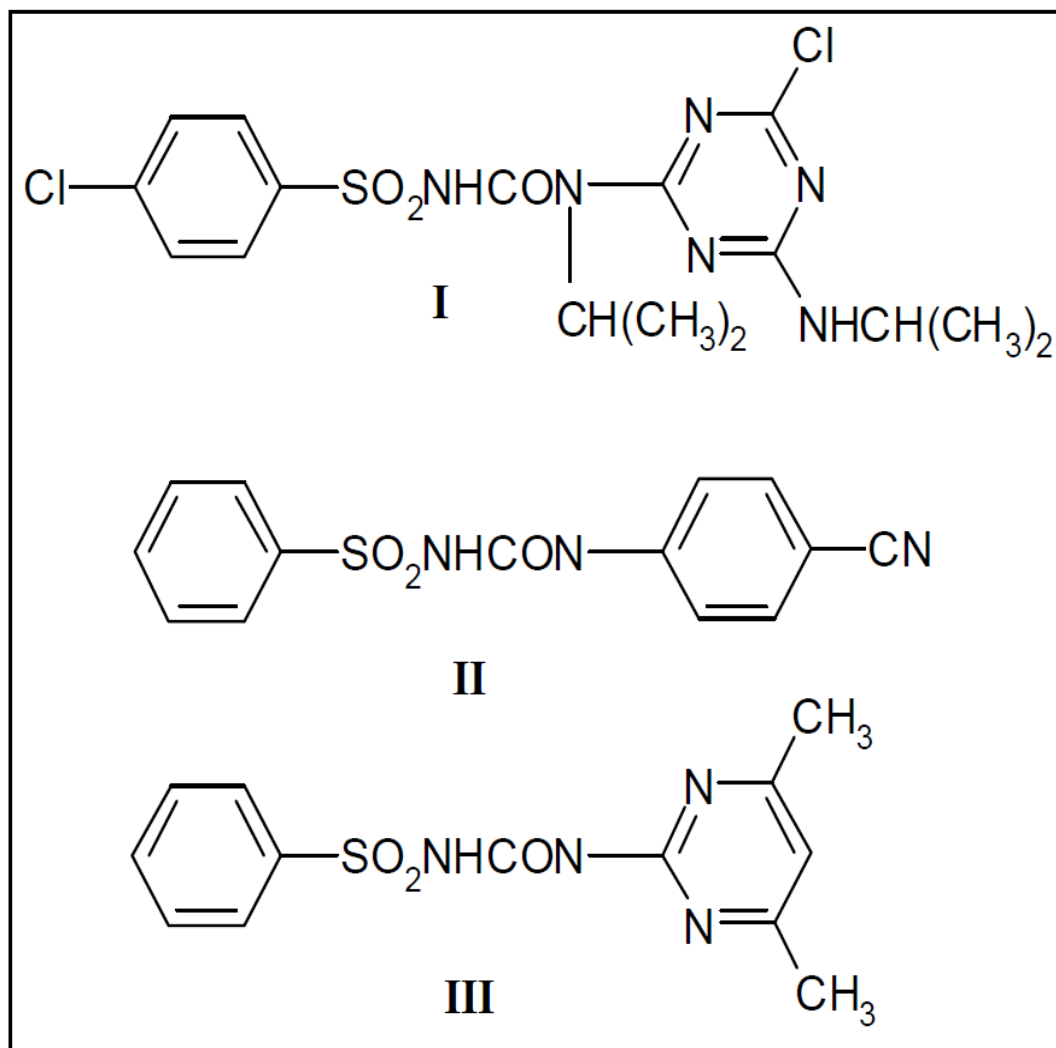


Figure 1: les premières tentatives de synthèse d'herbicides sulfonurées (Hay, 1990).

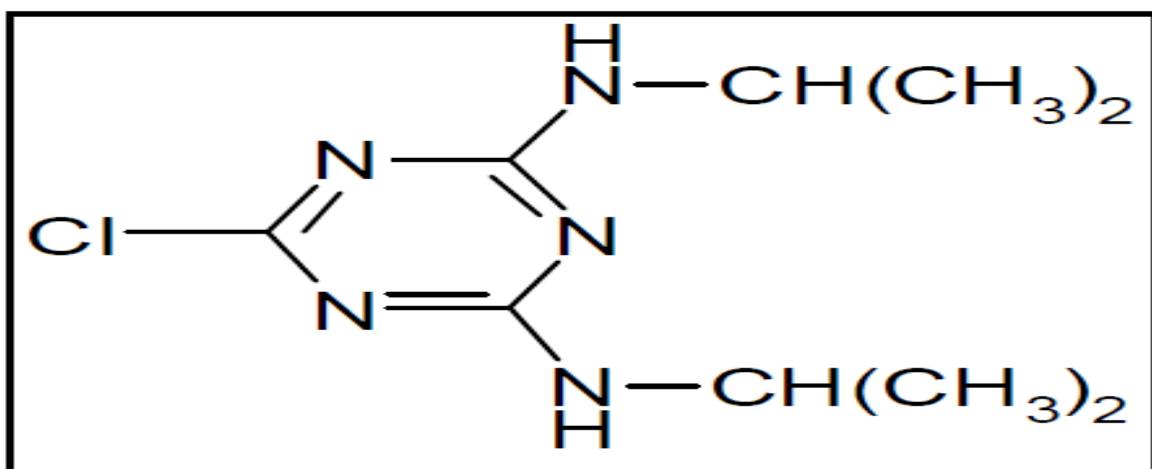


Figure 2 : structure chimique de la Propazine (Hay, 1990).

## 2. Définition

Les herbicides sulfonyles sont des molécules découvertes par Dupont, leur nom commercial est herbicides **SU Dupont**. Ce sont des urées substituées qui sont utilisées en poste émergence et prélevées de très faibles doses (5 à 35 g de matière active par hectare de blé) (**Fournier, 1988**).

Les sulfonyles sont généralement caractérisées par des demi-vies dans le sol inférieur à deux mois, bien que dans certaines conditions climatiques et/ou pédologiques (les climats secs, les sols alcalins), ils peuvent durer plus longtemps et causer des dommages dans la rotation des cultures (**Blair et Martin, 1988**).

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

## 3. Le marché des sulfonyles

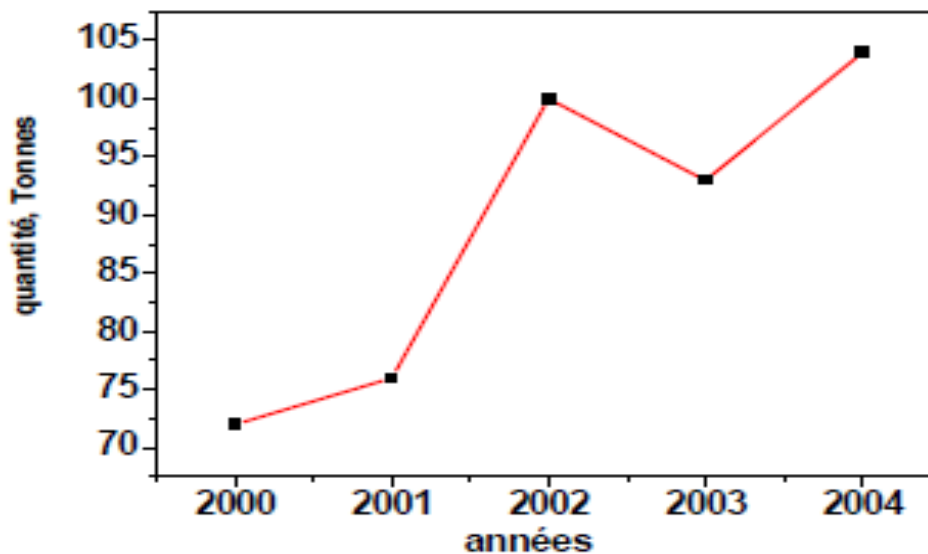
### 3.1. Le marché mondial

Aujourd'hui on compte plus de 30 000 types de mauvaises herbes dans le monde et plus de 200 groupes d'herbicides permettant de les contrôler. Les herbicides représentent 60% des ventes totales mondiales de pesticides et 90% de ces produits sont utilisés en agriculture (**Edelahi, 2004**).

En 2008, 78 600 tonnes des substances actives ont été vendues en France pour des usages agricoles et 10 % pour les usages non agricoles (entretien des infrastructures routières et ferroviaires, des espaces verts, des trottoirs, jardinage, traitement des locaux...).

Les sulfonyleurées ont été extrêmement populaires dans le monde entier en raison de leur faible toxicité pour les mammifères, de leur faible taux d'utilisation et de leur activité herbicide (**Sarmakh et Sabadie,2002**).

Les sulfonyleurées sont très utilisées au Maroc et aussi en France, la (**figure 3**) nous montre une augmentation de commercialisation des SU en France de 72 tonnes/an à 104 tonnes/an entre 2000 et 2004 (**Chahboune, 2015**).



**Figure 3** :Evolution (en tonnes) des sulfonyleurées commercialisés en France entre 2000 et 2004 (**Chahboune, 2015**).

### 3.2. Le marché Algérien

Il existe trois grandes firmes distributeurs des herbicides BAYER, SYNGENTAet BASF. Parmi les sulfonyleurées commercialisées en Algérie-WEEDAZOL TL, APYROS,GENAMIN T-200 BM, GRANSTAR 75 DF, Chevalier® (**Anonyme1, 2019**).

#### 4. Chimie et activité herbicide des sulfonylurées

La structure chimique générale des sulfonylurées est représentée dans la (**Figure 4**). Ils sont constitués de trois parties distinctes : le groupement Aryle, le pont et l'Hétérocycle.

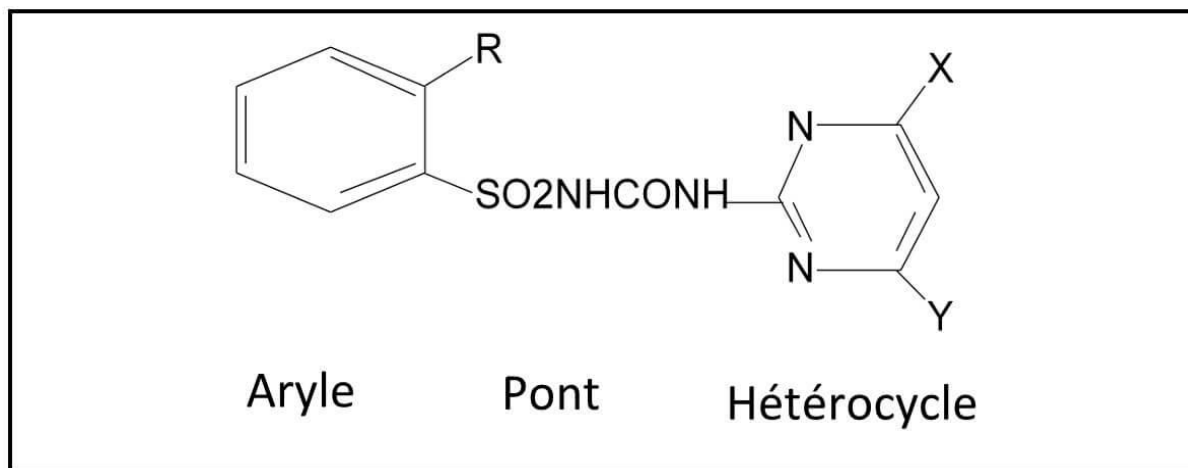
Chacune de ces trois parties joue un rôle indispensable quant à l'activité herbicide de la molécule. Ainsi, le niveau de l'activité herbicide de la molécule sulfonylurée varie selon sa composition. L'activité herbicide est de haut niveau lorsque le cycle aromatique est ortho substitué, quant à l'hétérocycle (dérivé de la triazine), le maximum d'activité herbicide est obtenu quand il est substitué par des groupements alkyl ou alkoxy (**Brown, 1990; Martins et Mermoud, 1999**). Par contre, les sulfonylurées à pont non substitué sont plus actifs (**Tableau 1**).

Leur synthèse s'effectue en trois étapes :

1-Synthèse du sulfonamide

2-Substitution de l'hétérocycle

3-Couplage du groupement sulfonamide avec l'hétérocycle



**Figure 4:** Structure générale des sulfonylurées (**Beyer et al., 1988**).

**Groupement R activant:** CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; NO<sub>2</sub>; F; Cl; Br; SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; SCH<sub>3</sub>; SO<sub>2</sub>N (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; CF<sub>3</sub>; CH<sub>3</sub>; CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>; OCF<sub>3</sub>;

**Groupements non activant:** COOH; OH; X=CH<sub>3</sub>; Y=OCH<sub>3</sub>

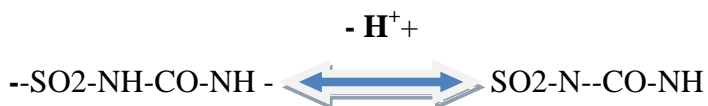
**Tableau 1** : Niveaux d'activité des sulfonylurées selon leurs constituants

Selon le radical						
R	CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Cl	CO <sub>2</sub> H	OH
Niveau d'activité (g/ha)	1-2	4-8	8-16	8-16	>400	>2000
Selon l'hétérocycle						
Hétérocycle						
Niveau d'activité (g/ha)	1-2	16-31	62-125	1000		
Selon le pont						
Le pont						
Niveau d'activité (g/ha)	1-2	8-16	16-31	16-31	31-62	

## 5. Propriétés physico-chimiques des sulfonylurées

Les sulfonylurées sont des composés non volatils et ne sont pas photodégradables (**Sondhia *et al.*, 2013**).

Ils ont tous un proton acide adjacent au groupement sulfonyle et se comportent ainsi comme des acides faibles avec des valeurs de pka allant de 3 à 5 , ce qui rend leur solubilité dans l'eau (pH 7) dix fois plus importante que dans les solvants acides (pH 5) (**Beyer *et al.*, 1988**).

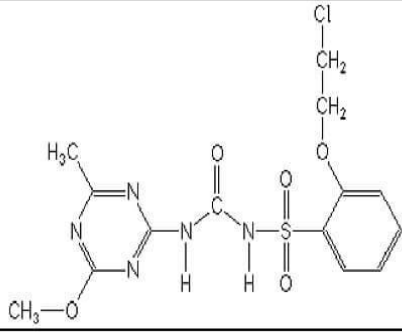
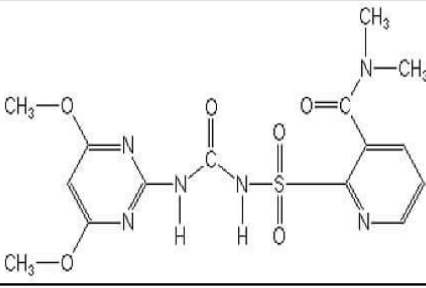
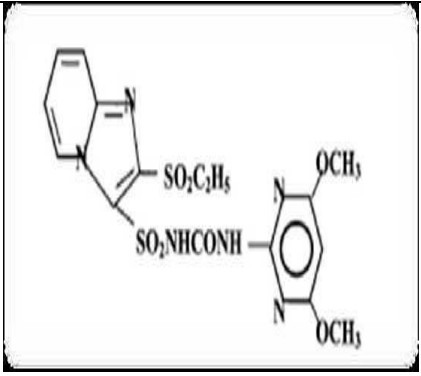


En solution dans l'eau elles peuvent exister sous deux formes, la forme neutre et la forme anionique résultant de la perte de l'ion hydrogène (**Gauvrit, 1996**).

Le tableau 2 donne les constantes physiques de quelques sulfonylurées commercialisées. Ces caractères jouent un rôle très important dans le devenir des sulfonylurées dans l'environnement.



**Tableau 2 :** Propriétés physicochimiques de quelques sulfonylurées (**Bedrane, 2017 ; Ikhlef, 2016**).

Triasulfuron		PM: 401,83 PF: 186°C pKa: 4,0 SE (mg/l): 5 (pH 2,5), 40 (pH 5), 1500 (pH 7), 10 000 (pH 8)
Nicosulfuron		PM: 410,4 PF: 141-144°C PKa: 4,3 SE (mg/l): 400 (pH 5), 12000 (pH 7), 39200 (pH 9)
Sulfosulfuron		pH : (1% solution) 4.46 PF :181-184°C Densité : 1.55 g/ml Point d'ébullition :334°C

PM: poids moléculaire (g/mol); PF: point de fusion (°C); pKa: constante d'acidité, SE: solubilité dans l'eau (mg/l).

## 6. Mode d'action

Les sulfonylurées sont des herbicides inhibiteurs de la synthèse des acides aminés, l'activité principale est d'inhiber l'action de l'enzyme acétolactate – synthase (ALS). Cette enzyme est une FAD –dépendante de la famille des thiamine-di phosphate (THDP), elle catalyse les premières étapes de la synthèse des acides aminés à chaîne aliphatique : valine, leucine et isoleucine chez les plantes, les bactéries et les champignons. (**Choi et al., 2005 ; Lee et al., 2013**).

L'acétolactate-synthase est absente chez l'homme et les mammifères, ce qui explique la faible toxicité des sulfonilurées sur ces organismes. (**Umberger et Brown, 1958 ; Hang et al., 2012**), elle est présente uniquement chez les végétaux, ce qui explique la forte phytotoxicité du produit (**Brown, 1990**).

Après absorption, l'herbicide migre dans les plantes sensibles et bloque l'activité de l'enzyme (ALS), l'inhibition de l'enzyme entraîne un blocage de la division cellulaire et par conséquent l'arrêt de la croissance de la plante, des symptômes de jaunissements (chlorose) ou des rougissements (anthocyanose) apparaissent après quelques jours du traitement et la disparition totale des herbes indésirables. (**Beyer et al, 1988**).

Il existe des plantes qui peuvent échapper à l'action des sulfonilurées par un métabolisme spécial, qui induit une désactivation rapide de l'effet herbicide qui permet la sélectivité des sulfonilurées (**Mc Court et Duggleby, 2006**). Les réactions de transformation qui expliquent la désactivation de l'herbicide dans les plantes sont : l'hydroxylation aliphatique et arylique suivie de l'hydrolyse de la fonction sulfonilurée, la rupture de la liaison sulfonamide et la O-déméthylation. (**Brown, 1990**).

## 7. Toxicité des sulfonilurées :

Les sulfonilurées présentent une faible toxicité pour le règne animal en général (les mammifères et d'autres espèces) et l'homme en particulier. Citons par exemple, les travaux de Li *et al.* 1999 qui n'ont observé aucune toxicité significative sur les *Daphnia magna* des trois sulfonilurées étudiées (bensulfuron méthyle, metsulfuron méthyle et le chlorsulfuron) même pour des solutions aqueuses saturées en herbicide (**Beyer et al., 1988 ; Sarmah et Sabadie, 2002**).

Pour le règne végétal, une très faible quantité pourrait avoir un effet phytotoxique considérable (**Bossi et al., 1998**). En effet, il a été observé que la croissance des plantes non visées peut être réduite même à des doses de triasulfuron inférieures à 100 pg/g de sol (**Ghildyal et Kariofillis, 1995**).

Les résidus d'herbicides dans le sol endommagent gravement la rotation ultérieure des cultures sensibles aux sulfonilurées, telles que les légumineuses et les oléagineux, ce qui peut entraîner de graves pertes agricoles (**Hang, 1990**).

## 8. Devenir des sulfonilurées dans le sol

Les connaissances sur le devenir et le comportement des herbicides à base de sulfonilurées dans l'environnement sol-eau semblent être d'une importance capitale pour les systèmes agronomiques et la protection de l'environnement (**Sarmakh et Sabadie, 2002**).

Dans le milieu naturel, toute substance chimique se partage entre trois compartiments; le sol, l'eau et l'air, auxquels on peut ajouter un quatrième le milieu biologique (faune et flore) (**Prasad, 1992**).

La biodégradation des sulfonilurées dans le sol est un des processus clés de leur devenir dans ce dernier et les sédiments et joue un rôle majeur dans le système agricole et la protection de l'environnement (**Sarmah et Sabadie, 2002**).

La dégradation des sulfonilurées est plus rapide et plus efficace dans les sols non stériles que dans les sols stériles (**Lu et al., 2011**) montrant l'importance de l'activité microbienne.

Les bactéries du sol ont la capacité de dégrader ces molécules en les utilisant comme source nutritive (**Monard, 2008**). Deux voies sont principalement utilisées :

\*\* Métabolisme: minéralisation complète de l'herbicide, en l'utilisant comme source nutritive.

\*\* Co-métabolisme: cinétique d'ordre 0, ni source de carbone, ni source d'énergie ; accumulation de métabolites (**Devers-Lamrani et al., 2009**).

D'une façon générale, tout polluant organique connaît une série de transformation au cours de sa migration dans le sol .Ces transformations peuvent être de nature et de structure variable (molécules plus petites que les molécules parentes ou de structure différente). Elles peuvent aussi être issues de phénomènes biotiques ou abiotiques tel que l'oxydation, la réduction, l'hydrolyse et la photolyse.

### 8.1. Dégradation des sulfonilurées

Des études en laboratoire et sur le terrain ont montré que dans les sols neutres à alcalins, la biodégradation joue un rôle majeur dans la dissipation des herbicides à base de sulfonilurée. À ce jour, plusieurs microorganismes capables de dégrader les

herbicides à base de sulfonyleurée ont été décrits. Les voies de biodégradation rapportées des herbicides à base de sulfonyleurée comprennent l'oxydation, la déstérification et le clivage du pont sulfonyleurée (**Hang, 1990**).

La dégradation des herbicides à base de sulfonyleurée résulte de la dégradation chimique du pont sulfonyleurée suivie d'une dégradation microbienne.

Les sulfonyleurées, quant à eux, semblent subir deux principaux types de dégradation dans le sol. Il s'agit de la dégradation microbienne (biodégradation) et de l'hydrolyse chimique (**Beyer et al., 1988**).

### 8.1.1. Hydrolyse

la vitesse de la réaction d'hydrolyse dépend du pH et de la température. Plusieurs études ont montrées que le principal effet de l'hydrolyse est le clivage du pont sulfonyleurée conduisant à la formation d'un sulfonamide et d'une amine hétérocyclique (**Chahboune, 2015**).

### 8.1.2. Dégradation microbiologique

La dégradation des sulfonyleurées est plus rapide et plus efficace dans les sols non stériles que dans les sols stériles (**Lu et al., 2011**) montrant l'importance de l'activité microbienne. Il a été ainsi enregistré que le temps de demi-vie de certains sulfonyleurées varie entre 38,5 et 40 jours dans des sols non stérilisés et 495 et 680 jours dans des sols stérilisés.

Johsi, Brown, et Romesser ont été les premiers à démontrer que les micro-organismes jouent un rôle très important dans la dégradation des sulfonyleurées, ils ont montré que le chloresulfuron se dégrade beaucoup plus rapidement dans le sol non stérile que celui stérilisé ceci est assurée par les bactéries présentes dans ce sol (**Chahboune, 2015**).

Autres études ont montré que la souche bactérienne *Kurthia sp.* LAM0713 est une souche capable de dégrader le cinosulfuron afin d'utiliser son azote comme source pour sa croissance. Cette souche est capable de dégrader beaucoup d'herbicides de type sulfonyleurée (**Chahboune, 2015**).

Des espèces de plusieurs genres bactériens ont été décrites comme étant capables de dégrader et d'utiliser différentes molécules de sulfonurées comme seule source de carbone et d'énergie.

Les souches du genre *Pseudomonas* sont décrites dans la littérature pour leur capacité à vivre dans des conditions de stress et à résister à différents polluants (**Madigan et Martinko, 2006**). En effet **Li-feng et al., (2007)** et **Ma et al., (2009)** ont pu isoler des souches de *Pseudomonas* (*Pseudomonas* sp. SW4) et (*Pseudomonas* sp. LW3) respectivement qui dégradent 85 % d'ethametsulfuron-méthyle (100mg/l) en seulement 6 jours et 61,3% de chlorimuron-éthyle en 30 jours dans des conditions de laboratoire.

*Methylopila* sp. S113 est capable de dégrader plus de 97% de metsulfuron-méthyle (50mg/l) après 72h d'incubation (**Huang et al., 2007**).

**Zhu et al., (2005)** ont décrit une souche de *Brevibacterium* capable de dégrader le bensulfuron-méthyle alors que *Bacillus megaterium* dégrade 44% de la même molécule en 42 jours à une concentration de 50mg/l.

La souche *Serratiamarcescens* N80 isolée d'eau polluée, dégrade 93,6% du nicosulfuron (10mg/l) en seulement 96h. Elle est capable de l'utiliser comme seule source d'azote (**Zhang et al., 2012**).

Enfin, d'autres souches appartenant aux genres *Rhodopseudomonas*, *Acinetobacter*, *Ancylobacter* et *Phyllobacterium* peuvent dégrader d'autres molécules de sulfonurées (**Lu et al., 2011; Sondhia et al., 2013; Valle et al., 2006; Xu et al., 2009; Yin et al., 2011; Zanardini et al., 2002**).

D'autres champignons ont été décrits comme capables de la dégradation du nicosulfuron, du chlorimuron-éthyle et du bensulfuron-méthyle (**Peng et al., 2012; Sharma et al., 2012; Song et al., 2013**).

**Song, J., et al., (2013)**. Ont isolé la souche fongique *Thalaromyces flavus* LZM1 qui a permis la dégradation du nicosulfuron, en l'utilisant comme source d'azote pour sa croissance. Cette souche présente aussi un large spectre de dégradation et s'avère être capable de dégrader d'autres herbicides de type sulfonurée. Cependant, on peut avoir une combinaison de l'hydrolyse et la dégradation microbienne (**Chahboune, 2015**).

**Zanardini et al., (2002)** et **Boschinet et al., (2003)** ont rapporté des pourcentages de dégradation de l'ordre de 79 et 61% du chloresulfuron et du metsulfuron-méthyle

respectivement par le champignon *Aspergillus niger* dans les conditions de laboratoire. Des résultats similaires ont été obtenus dans une étude sur la dégradation du pyrazosulfuron-éthyle connu pour sa haute persistance dans le sol. Cet herbicide peut être dégradé par *Aspergillus. Niger* et *Penicillium chrysogenum* (Sondhia *et al.*, 2013).

De nombreuses études antérieures ont montré que les actinobactéries sont également capables de dégrader le pesticide sulfosulfuron (Ridhima *et al.*, 2016).

## 9. Facteurs influençant la dégradation de sulfonilurées

Les études menées jusqu'à présent indiquent que la biotransformation et l'hydrolyse chimique des sulfonilurées dépendent principalement du pH, de la température et du degré d'humidité du sol (Walker et Brown, 1983 ; Harvey *et al.*, 1985; Anderson *et al.*, 1985 et James *et al.*, 1995).

### 9.1. La température

Cambon *et al.*, 1998 ont montré qu'à 28°C la transformation du thifensulfuron méthyle est biologique et que la cinétique de biodégradation est d'autant plus rapide que la température augmente puis elle diminue rapidement quand la température atteint 40-45°C. A des températures supérieures à 53°C, le processus majeur de transformation est chimique alors qu'à des températures inférieures à 53°C les deux processus de transformation peuvent avoir lieu.

L'augmentation de la température à des valeurs entre 40 et 45°C rend le temps de demi-vie beaucoup plus long (Nègre *et al.*, 2012).

Une étude réalisée par Arrhenius 1989 a montré qu'il est impossible de tirer une conclusion significative sur l'hydrolyse des herbicides, affectée par différentes températures en raison d'autres facteurs de confusion tels que le pH et la teneur en humidité (Sarmah et Sabadie, 2002).

### 9.2. Le pH

Le pH a un effet direct sur l'hydrolyse des sulfonilurées en solution tampon aqueuse. Plusieurs études antérieures ont montré que ces composés s'hydrolysent plus rapidement dans l'eau à pH acide, mais restent relativement stables dans des solutions neutres.

Les sulfonyleurées sont stables en milieux alcalins mais sont assez rapidement hydrolysées en milieux acides (**Hay, 1990 ; Beyer *et al.* 1988; Brown, 1990**).

L'hydrolyse alcaline des sulfonyleurées a également été rapportée dans la littérature, bien que les constantes de vitesse semblent à l'ordre du jour. **Berger *et al.***, ont examiné 12 herbicides à base de sulfonyleurée et n'ont pas observé une augmentation des taux de dégradation lorsque le pH passait de 7 à 10. Toutefois, une augmentation des taux de dégradation des tampons alcalins a été décrite pour certains des mêmes herbicides tels que le rimsulfuron, chlorimuronéthyle, le bensulfuron méthyle, et plus récemment pour le triasulfuron, le metsulfuron méthyle et le chlorsulfuron. Il est concevable qu'un effet tampon puisse expliquer ces résultats opposés rapportés dans ces études. Jusque dans les années 1990, on pensait que la réaction d'hydrolyse prédominante de toutes les sulfonyleurées (conditions très acides) était le clivage de la sulfonyleurée. (**Sarmah et Sabadie, 2002**).

En effet, l'influence du pH sur la dégradation a été confirmée pour le metsulfuron méthyle; les temps de demi-vie sont de 5 jours dans un sol acide (stérile ou non stérile) et de 69 et 139 jours dans un sol alcalin sous des conditions stériles et non stériles, respectivement (**Pons et Barriuso, 1998**)

Dans les sols neutres à alcalins, certains herbicides, tels que le metsulfuron-méthyle, le chlorsulfuron et l'éthametsulfuron-méthyle, se dégradent très lentement et persistent de plusieurs mois à plus d'un an (**Hang, 1990**).

Le chlorsulfuron possède un temps de demi-vie qui varie entre 17 et 25 jours à pH 5 alors qu'il passe à 70 jours dans des conditions de pH plus haut (**Rouchaud *et al.*, 1999; Sharma *et al.*, 2012**).

Ainsi, le temps de demi-vie du cinosulfuron à 30°C varie de 3 à 43 jours pour des pH de 4 et 6 respectivement alors qu'il atteint une année dans un pH qui varie entre 7 et 9 (**Nègre *et al.*, 2005**).

### 9.3. L'humidité relative

Les herbicides de la famille des sulfonyleurées apprécient les conditions de sol « humide » (**Anonyme 2, 2012**).

#### 9.4. La concentration de sulfonilurées

Les conditions physicochimiques ne sont pas les seules à influencer la persistance des sulfonilurées, la dose d'utilisation y joue un rôle très important. L'étude de la persistance du sulfosulfuron a révélé qu'à des doses de 25-50g/ha, l'herbicide n'est plus détecté au niveau des couches superficielles du sol après 150 jours alors qu'il dépasse 200 jours à une dose de 100g/ha (**Sondhia et Singhai, 2008**).

#### 9.5. Conditions météorologiques

Sous certaines conditions (sols alcalins, hors de la période de pluie), les sulfonilurées peuvent persister assez longtemps et par conséquent porter atteinte aux plantes non visées (**Beyer et al., 1988**).

La température et l'humidité ont des actions interdépendantes. Il suffit par conséquent que l'un de ces facteurs soit limitant pour que la dégradation s'arrête. C'est la raison pour laquelle sous nos latitudes, la dégradation se produit essentiellement au printemps et à l'automne (**Guimont, 2005**).

### 10. Résistance aux sulfonilurées

La résistance aux sulfonilurées est affirmée *in vitro* par la réalisation d'une expérience d'où une sélection des cultures de *Chlamydomonas*, *Arabidopsis*, *Datura* et tabac résistantes aux sulfonilurées a été effectuée. En ce qui concerne le tabac, les plantes régénérées à partir de la culture *in vitro* résistante se sont montrées insensibles à des doses 100 fois plus élevées que celles qui sont phytotoxiques pour les plantes normales (**Chaleff et Ray, 1984**). Le caractère de résistance est porté par un allèle nucléaire semi-dominant. Des mesures d'activité enzymatiques ont finalement montré que la résistance est due à la présence d'une ALS modifiée, qui tolère des doses de sulfonilurées plus élevées d'au moins trois ordres de grandeur que l'enzyme sauvage. Un gène de l'enzyme modifiée (il y a deux gènes de l'ALS chez le tabac) a été transféré à d'autres lignées de tabac, dont la tolérance aux sulfonilurées a été notablement accrue (**Falco et al., 1987**).



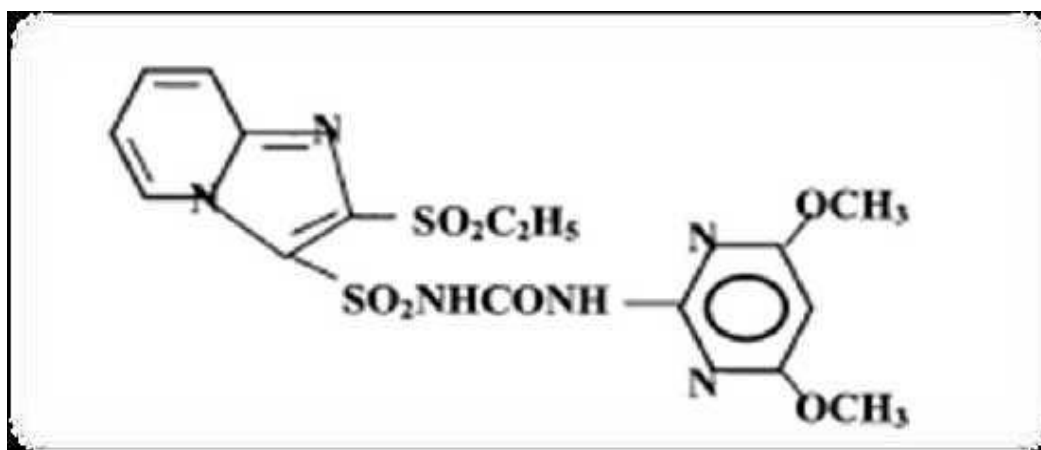
## II. Le Sulfosulfuron

### 1. Définition

Le sulfosulfuron découvert en 1995(**Figure 5**) est un herbicide de la classe des sulfonylurées, inhibiteur de l'acétohydroxyacide synthétase, première enzyme des réactions de la voie de biosynthèse des acides aminés à chaîne ramifiée. Il est couramment utilisé dans le contrôle des graminées spécifiques et les dicotylédones. Il est utilisé en pré et post-émergence.

L'herbicide sulfosulfuron est actif à de très faibles doses. Il provoque une diminution de la quantité des pigments photosynthétiques et particulièrement celle des chlorophylles totales au niveau des feuilles néoformées, les feuilles préexistantes ne sont affectées que par les fortes doses, il provoque également une diminution de la quantité des protéines foliaires et une accumulation des photosynthétats ( sucres solubles), en outre, il réduit la quantité des lipides totaux et augmente le taux des acides gras saturés: acide palmitique et stéarique.

Le sulfosulfuron est actuellement développé par Monsanto, commercialisé sous forme de plusieurs formulations commerciales tel que : Outrider, Attribut et l'Apyros (**Khelifa et al., 2003**)



**Figure 5** : Structure moléculaire du Sulfosulfuron (**Yael et al., 2003**).

## 2. Propriétés physico-chimiques de sulfosulfuron

**Tableau 03:** les propriétés physico-chimiques du sulfosulfuron (**California département of pesticides régulation, 2008**).

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

## 3. Mode d'action

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

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

Selon les régions, l'effet de l'herbicide, même sur un type de mauvaises herbes peut être différent. Par exemple, Sulfosulfuron contrôle la moutarde sauvage à faible dose dans LORESTAN alors de fortes doses sont nécessaires pour le contrôle de cette mauvaise herbe dans le KHOUZISTAN (**Zand et al., 2007**).

#### 4. Persistance du sulfosulfuron dans le sol

Des études sur la biotransformation effectuées au laboratoire sur des sols des Etats-Unis ont rapporté une accumulation maximale de l'herbicide correspondant à 21% de la quantité appliquée. Toutefois, les études sur les sols du Canada indiquent que le sulfosulfuron est légèrement à modérément rémanent dans le sol (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, 1999).

#### 5. Effet du sulfosulfuron sur la germination et la croissance des plantes

C'est un herbicide qui n'affecte pas la germination des graines de soja mais plutôt la croissance des plantules (longueur et poids de la matière végétale sèche) en fonction de la dose administrée. Il exerce une action aussi bien sur la morphologie que sur la physiologie des plantules de soja (Figure 6).

Le sulfosulfuron entraîne des chloroses et des diminutions de la taille aux niveaux des feuilles néoformées : les feuilles préexistantes ne sont affectées que par les fortes doses (réduction de la croissance en fonction de la dose administrée) (Khelifa *et al.*, 2013)

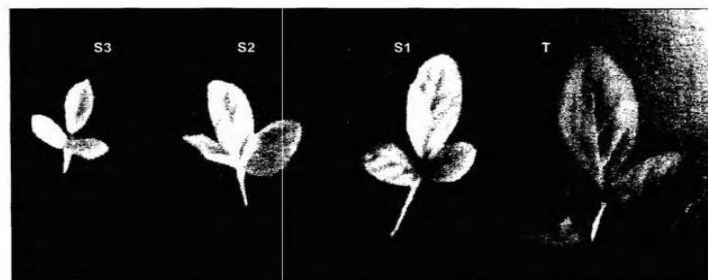


Photo 3 : Effets du sulfosulfuron utilisé en post-émergence sur les feuilles formées après pulvérisation des plantules de soja. T= témoin, S1=  $10^{-6}$ M, S2=  $10^{-5}$ M, S3=  $10^{-4}$ M.

**Figure 6 :** Effets du sulfosulfuron utilisé en post-émergence sur les feuilles formées après pulvérisation des plantules de soja (Khelifa *et al.*, 2003).

## 6. Effets du sulfosulfuron sur l'environnement

Le sulfosulfuron peut se bioaccumuler mais présente une faible toxicité pour les mammifères. Il est modérément toxique pour les poissons, les algues, les vers de terre et les abeilles domestiques mais moins pour les oiseaux et les invertébrés aquatiques (**Pesticide properties DataBase, 2018**).

## 7. Dégradation du sulfosulfuron

La nature persistante du sulfosulfuron en plus de sa toxicité moindre comparée à d'autres pesticides nécessitent la recherche de souches potentielles pour sa dégradation (**Pankaj et al., 2015**).

Le champignon *Trichoderma sp* dégradant le sulfosulfuron via la décarboxylation sur le pont sulfonyle et le clivage hydrolytique de la liaison sulfonamide. Les métabolites formés par *Trichodermas* ont de nature non phytopathogène. C'est donc un candidat prometteur pour la décontamination des sols à partir de résidus de sulfosulfuron (**Yaadav et Choudhury, 2014**).

De nombreuses études antérieures ont montré que les actinobactéries sont également capables de dégrader le pesticide sulfosulfuron (**Ridhima et al., 2016**).

Les herbicides à base de sulfonyle subissent une hydrolyse dans un milieu aqueux en fonction de la température et du pH et le taux d'hydrolyse semble varier en fonction de la structure de la molécule. (**Sarmah et Sabadie, 2002**).

## III. Herbicides commerciales à base de Sulfosulfuron

### 1. Généralités

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

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

L'effet herbicide de l'herbicide Apyros 75 WG contre graminées, les dicotylédones et les mauvaises herbes ont été estimées dans de nombreuses expériences de terrain. Ausside nombreuses enquêtes ont été menées sur le contrôle de diverses espèces de mauvaisesherbes à l'aide du Attribut herbicide 70 WG (**Adamczewski *et al.*, 2000**).

## 2. L'herbicide APYROS

### 2.1. Caractéristiques

**Tableau 04** : Caractéristiques d'herbicide Apyros (**Index des produits phytosanitaire à usage agricole,2017**).

<b>Nom commercial</b>	<b>Apyros</b>
Matière Active	Sulfosulfuron
Concentration	75
Formulation	WG
Déprédateurs	Monocotylédones/dicotylédones/brome/phalaris/ray-grass/chiendent/gaillet/mouron/matricaire/crucifère
Cultures	Céréales
Doses d'utilisation	26,5g/Ha dans 200-400L/Ha
N° d'homologation	R 09 47 008
Firme	MONSANTO
Représentant	ACI

### 2.2. Mode d'action

APYROS est un herbicide systémique qui permet de lutter contre les adventices graminées et dicotylédones du blé dont essentiellement les espèces du brome.

Doté d'une formulation innovante, il permet le traitement à des doses réduites de matière active. Ilest absorbé par les feuilles et les racines (**groupe Saoas, 2018**).

### 2.3. Utilisation

L'usage et la dose appliquée du produit commercial « Apyros » sont présentés dans le (**tableau 05**) Selon la fiche de sécurité élaboré par (**Monsato Europe N.V, 2014**).

**Tableau 05** : Usage et dose appliquée de l'herbicide Apyros (**Monsato Europe N.V, 2014**).

Usages homologues	Doses
Céréales : Herbicide Anti-Brome, lutte contre l'autre adventice graminée (Phalaris, folle avoine, chiendent, repousses d'orge, ...etc.) et certaines dicotylédones (gaillet, matricaire, moutarde des champs, ravenelle.	<b>26,5 g/ ha.</b> A partir du stade (2-3 feuilles du brome) jusqu'au stade (2 nœuds du blé). APYROS s'emploie obligatoirement en mélange avec un agent mouillant non ionique (Genamin T-200 BM) à la dose de 200CC /hl de bouillie.

#### Remarque :

\* Pour garantir son efficacité, APYROS doit être appliqué sur sol humide, avec une humidité relative de l'air et en absence de vent.

## 3. L'herbicide Monitor

### 3.1. Définition

Un herbicide sélectif anti graminée et anti-dicotylédone des blés tendres, blés durs d'hiver et des triticales, son emploi est souple avec un bas dosage en post-émergence (**Philagro, 2015; Leugygax, 2017**).

### 3.2. Caractéristiques

**Tableau 6 :** Quelques caractéristiques d’herbicide Monitor (**Office fédéral de l’agriculture OFAG-Index des produits phytosanitaires, 2019**).

<b>Non commercial</b>	<b>Monitor</b>
Substance active	Sulfosulfuron
Teneur	80 %
<b>Code de formulation:</b>	WG granulés à disperser dans l'eau
Culture	Blé, triticale
Organismes nuisibles/utilisation	Chiendent rampant, dicotylédones annuelles, monocotylédones annuelles
Dosage	12-25 g/ha

### 3.3. Mode d’action

La matière active Sulfosulfuron du groupe des sulfonilurées est principalement absorbée par les parties vertes des plantes ; mais le produit a aussi une activité résiduaire. La matière active inhibe la synthèse des acides aminés dans les mauvaises herbes. La sensibilité à l’herbicide est plus forte sur jeunes petites mauvaises herbes en croissance active (**Leugygax, 2017**).

### 3.4. Utilisation

L’herbicide Monitor a un large spectre d’efficacité contre camomilles, capselle, gaillet, herbe aux écus, mouron des oiseaux, moutarde des champs, pensée des champs (stade plantule), renouées, repousses de colza, repousses de tournesol, repousses d’orge, agrostide jouet du vent, bromes, Chiendent, pâturin commun efficacité insuffisante contre liserons, rumex, véroniques, Lamiers (**Tableau 7**).

Le produit commercial Monitor est employé dans la culture du blé à une concentration de 12-25 gr/ha contre dicotylédones annuelles, monocotylédones annuelles et chiendent et dans Triticale à une concentration de 12-25 gr/ha, contre dicotylédones annuelles, monocotylédones annuelles et le chiendent (**Leugygax, 2017**).

**Tableau 07** : Champ d'activité de Monitor en application de sortie d'hiver (**Leugygax, 2017**).

<b>Sensibilité des adventices à 2x 12,5 g/ha de MONITOR + Mouillant</b>			
<b>Graminéées</b>	<b>Efficacité %</b>	<b>Dicotyledones</b>	<b>Efficacité %</b>
Agrostis jouet du vent* 32		Gaillet 86	
Avoine à Chapelet 12		Géraniums 9	
Brome des champs 5		Helminthie 1	
Brome Mou 27		Jonc des crapauds 4	
Brome stérile 32		Laiteron 6	
Chiendent rampant 13		Lamier pourpre 11	
Folle Avoine 33		Lampsane 8	
Pâturin annuel 34		Matricaire 43	
Pâturin commun 8		Mouron des oiseaux 38	
Ray Grass 36		Mouron rouge 2	
Vulpin des champs 72		Moutarde des champs 7	
<b>Dicotyledones</b>	<b>Efficacité %</b>	Myosotis 3	
Aethuse 1		Pensée 46	
Alchémille 12		Renoncules 9	
Ammi majus 1		Renouée des oiseaux 4	
Capselle 2		Renouée persicaire 1	
Carotte Sauvage 2		Scandix 5	
Colza rep 6		Séneçon 17	
Coquelicot 26		Torilis 1	
Fausse Arabette 2		Tournesol rep. 1	
Fumeterre** 6		Véroniques 72	



**NB :**

\*\* Agrostis jouet du vent: 12,5 g/ha. Il existe des cas de résistance avérée pour cette espèce.

\*\* Bonne efficacité en application de printemps.



*Matériel et*

*Méthodes*

## **1. Purification et réactivation d'une souche d'actinomycète A1 dégradante de l'herbicide sulfosulfuron**

La souche d'actinomycète A1, sur laquelle nous avons effectué ce travail a été aimablement fournie par Madame ZERMANE F. (MAA, UMC1, laboratoire de Génie Microbiologique et Application)

Afin de vérifier la pureté de la souche actinomycétale A1, cette dernière a été repiquée en stries serrées, sur le milieu gélosé *ISP2* (annexe1). Après incubation à 30 °C pendant 7 à 21 jours, la pureté de la souche est contrôlée par examens microscopique directes sous microscope optique au Grossissement (x 10).

Il est recommandé de réaliser le moins de repiquage possible pour conserver la stabilité génétique des souches.

## **2. Milieux et réactifs utilisés :**

L'herbicide utilisé au cours de ce travail est l'Apyros (75% Sulfosulfuron) sous sa forme commerciale, qui est largement utilisé en Algérie.

Il est obtenu à partir des revendeurs des produits phytosanitaires, c'est un herbicide de la famille des sulfonylurées, qui est utilisé pour la lutte contre le brome, les adventices graminée et certaines dicotylédones. La composition chimique de l'Apyros est mentionnée dans la partie bibliographique.

Les milieux *ISP1* et *ISP2* (*International Streptomyces Project*) sont utilisés pour le repiquage ainsi la culture de la souche d'actinomycète A1.

Le milieu *ISP9* est utilisé dans l'étude des différents facteurs qui influencent la biodégradation du pesticide.

## **3. Préparation des inocula de la souche actinomycétale A1**

### **3.1. Préparation de l'inoculum général**

La souche actinomycétale A1 estensemencée en stries serrées, sur *ISP2* (annexe1) et incubée à 28 °C pendant 7 à 21 jours.

L'inoculum général est préparé par inondation du milieu *ISP2* par 20 ml d'eau distillée stérile suivie par le raclage des colonies à l'aide d'un râteau. L'inoculum ainsi récupéré, contenant des fragments du mycélium primaire et secondaire ainsi que des spores (Shirling et Gottlieb, 1966).

Les suspensions d'inoculum sont préparées pour chaque essai. Cet inoculum sert à ensemercer tous les milieux utilisés, à l'exception du milieu *ISP9*, pour lequel, on utilise l'inoculum lavé.

### **3.2 Préparation de l'inoculum lavé**

50 ml du milieu liquide *ISP1*(**annexe1**) sont inoculés par cinq millilitres de l'inoculum général et incubés sous agitation (180 tpm) à 28 °C pendant 48 heures (**Shirling et Gottlieb, 1966**).

Après incubation, la culture bactérienne en milieu liquide *ISP1* est centrifugée à 5000 tpm pendant 30minutes. Une fois terminé, l'inoculum lavé est préparé par récupération et lavage du culot deux fois à l'eau distillée stérile puis repris dans 50 ml d'eau distillée stérile.

## **4. Etude in-vitro des facteurs influençant la biodégradation de l'herbicide Apyros par la souche actinobactérie A1:**

La dégradation de l'herbicide est estimée en premier temps, par mesure de la croissance bactérienne à 600 nm, sous la variation de différents facteurs (température, pH et concentration de l'herbicide).

### **4.1 Etude de l'effet de la température**

La souche d'actinomycète A1, capable de croître en présence de l'Apyros comme seule source de carbone et d'énergie, est testée pour sa capacité de dégrader ce même herbicide à différentes températures.

Un Erlenmeyer de 250 ml contenant 10 ml du milieu *ISP 9* additionné de l'Apyros à une concentration équivalente à la dose recommandée (100 mg/l) est inoculé par 1mL de l'inoculum lavé de la souche A1. L'ensemble est incubé sous agitation (180 tpm) à différentes températures (25°C, 30°C, 35°C) pendant 96h, à l'obscurité.

La croissance bactérienne de la souche A1 en fonction de la température, est mesurée périodiquement, par spectrophotométrie à 600 nm, après 20h, 24h, 43h, 72h et 96h (**Deepti et al., 2015**).

#### 4.2 Etude de l'effet du pH :

Des Erlenmeyer contenant 10 ml du milieu *ISP9* sont inoculés par 1 ml de l'inoculum lavé additionné de l'herbicide Apyros puis incubés à 28°C sous agitation (180 tpm), à l'obscurité. Le milieu *ISP9* est préparé à différents pH : 5,7 et 9.

L'évolution de la croissance bactérienne de la souche A1 en fonction du pH a été étudiée périodiquement par des mesures spectrophotométriques à 600 nm après 20h, 24h, 43h, 72h et 96h (**Deepti et al., 2015**).

#### 4.3 Etude de l'effet de la concentration de l'Apyros :

Des Erlenmeyer de 250ml contenant 10 ml du milieu *ISP9* à différentes concentrations de l'herbicide Apyros : 0.1g/l, 0.05g/l, 0.2g/l sont inoculés par 1ml de l'inoculum lavé puis incubés à 28°C, à l'abri de la lumière.

Le suivie de la croissance bactérienne de la souche A1 en fonction des différentes concentrations de l'Apyros a été effectuée périodiquement par des mesures spectrophotométriques à 600 nm après 20h, 24h, 43h, 72h et 96h (**Deepti et al., 2015**).

Notons que toutes les expériences sont réalisées en duplicates et un contrôle négatif, non inoculé est réalisé pour contrôler la dégradation non biologique de l'herbicide.

### 5. Etude de la cinétique de dégradation de l'herbicide sulfosulfuron :

Dans le but de suivre la cinétique de la dégradation de l'Apyros par la souche A1, les cultures réalisées préalablement sous la variation de différents facteurs (température, pH et concentration de l'herbicide Apyros), sont centrifugées à 5000 tpm pendant 30 min à 4 °C après 20h, 24h, 43h, 72h et 96h.

L'estimation de la biodégradation de l'herbicide Apyros se fait par mesure de la densité optique à 255 nm (longueur d'onde d'absorption maximale pour le sulfosulfuron) des surnageants par spectrophotomètre à balayage (**Anonyme 3, 2002**).

## 6. Etude chimiotauxonomique de la souche d'actinomycète A1

Cette étude est un bon critère de discrimination des différents groupes d'actinomycètes (**Lamari, 2016**), elle consiste d'une part à déterminer l'isomère de l'acide diaminopimélique(DAP)(LLouDL) ainsi que la présence ou l'absence de la glycine au niveau de la paroi cellulaire et d'autre part à identifier la composition cellulaire en sucres (couple de sucres caractéristiques).

### 6.1 Préparation des cellules

50 ml du milieu liquide *ISP1* (**annexe1**) sont inoculés par cinq millilitres de l'inoculum général et incubés sous agitation (180 tpm) à 28 °C pendant 14 jours, puis centrifugé à 10000 tpm pendant 10 min .Le culot est lavé 3 fois avec de l'eau distillée stérile puis traité avec de l'éthanol deux fois, afin de faciliter le séchage par la suite à 40 °C dans l'étuve (**Shirling et Gottlieb, 1966 ; Becker et al., 1964 ; Cui et al., 2001**).

### 6.2 Détermination des acides aminés pariétaux :

#### 6.2.1 Hydrolyse acide des cellules :

\*\* 20 mg du mycélium sec de chaque extrait cellulaire sont hydrolysés par 1ml de d'HCL 6N pendant 18 h à 100 °C dans des tubes à vis hermétiquement fermés.

\*\* Le mélange est centrifugé 5000 tpm pendant 30 min.

\*\* Des lavages répétés avec l'eau distillée (3ml) sont effectués jusqu'à élimination totale de l'Hcl.

\*\* Le résidu sec est finalement repris dans 0,3 ml d'eau distillée puis analysé par chromatographie (**Becker et al., 1964**).

#### 6.2.2 Analyse chromatographique :

\*\* 15 µl de chaque hydrolysate, ainsi que 25 microlitres d'une solution aqueuse à 0,01 M d'acide diaminopimélique (mélange des isomères LL et DL) et d'une solution aqueuse de glycine à 0,2%(utilisés comme témoins) sont déposés sur du papier Wattman N° 1 (60 x 50 cm).

\*\* Les papiers sont développés pendant 18 h par chromatographie descendante à front perdu dans un solvant composé de méthanol, d'eau distillée, d'acide chlorhydrique 10 N et de pyridine (80/17,5/2,5/10 en volumes).

\*\* Après séchage du papier à température ambiante, la révélation des chromatogrammes se fait à l'aide d'une solution de Ninhydrine à 0,2% (p /v) dans de l'acétone suivi d'un chauffage à 100°C pendant 5 min (**Staneck et Roberts, 1974**).

\*\* Les taches de DAP sont de couleur olive virant par la suite au jaune vif. La forme LL migre plus vite que la forme DL (cette dernière ayant un Rf d'environ 0,8 par rapport à la forme LL). La glycine apparaît de couleur violette et migre plus rapidement que les isomères de DAP.

\*\* Les acides aminés pariétaux sont déterminés par une chromatographie sur du papier Wattman N° 1 (60 x 50 cm).

### **6.3 Détermination des sucres cellulaires :**

La caractérisation des sucres est réalisée selon la méthode de **Lechevalier et Lechevalier(1970)** et **Staneck et Roberts (1974)** (chromatographie ascendante). Elle consiste à déterminer les couples de sucre présents dans la paroi cellulaire.

#### **6.3.1 Analyse cellulaire des sucres**

\*\* 50 mg de mycélium sec sont hydrolysés par 1 ml d'acide sulfurique 1 N dans des tubes scellés à 100°C pendant 2 heures.

\*\* Les hydrolysats sont neutralisés avec une solution saturée d'hydroxyde de baryum jusqu'à l'obtention d'un pH neutre. Le précipité blanc qui se forme est éliminé par centrifugation (4000 g pendant 20 min) et le surnageant est recueilli.

\*\* Le surnageant est évaporé à sec à 40°C, puis repris dans 0,3 ml d'eau distillée.

#### **6.3.2 Analyse chromatographique :**

\*\* 5 µl sont spotés en bandes fines (environ 1 cm de largeur) sur le papier Wattman N° 1 (60 x 50 cm) mis par la suite dans une cuve à chromatographie (chromatographie ascendante) contenant un système de solvants composé d'acétate d'éthyle, de pyridine et d'eau (50; 17,5; 12,5 v/v/v). Une solution aqueuse à 0,01 M, contenant le xylose, l'arabinose, le glucose et le galactose, est utilisée comme standard.

\*\* Les chromatogrammes sont révélés à l'aide d'une solution aqueuse de 3 % vanilline, 1,5 % acide sulfurique, éthanol à 95 % en chauffant 3 à 5 min à 110°C. Les taches sont de couleur brune pour les hexoses. Les sucres apparaissent dans l'ordre de migration suivant (de haut en bas) : xylose et arabinose (rose), glucose puis galactose (brun). Cet ordre a pu être déterminé en spotant les sucres séparément.

*Résultats et*

*Discussions*



## 1. Purification et réactivation de la souche d'actinomycète A1 dégradante de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron)

Au bout de 7 jours d'incubation à 28 °C, la souche actinomycétale A1 cultivée sur le milieu gélosé *ISP2* apparaît et se développe lentement. Elle est repérée d'après son aspect macroscopique et purifiée afin d'obtenir des cultures pures pour la suite de notre travail.

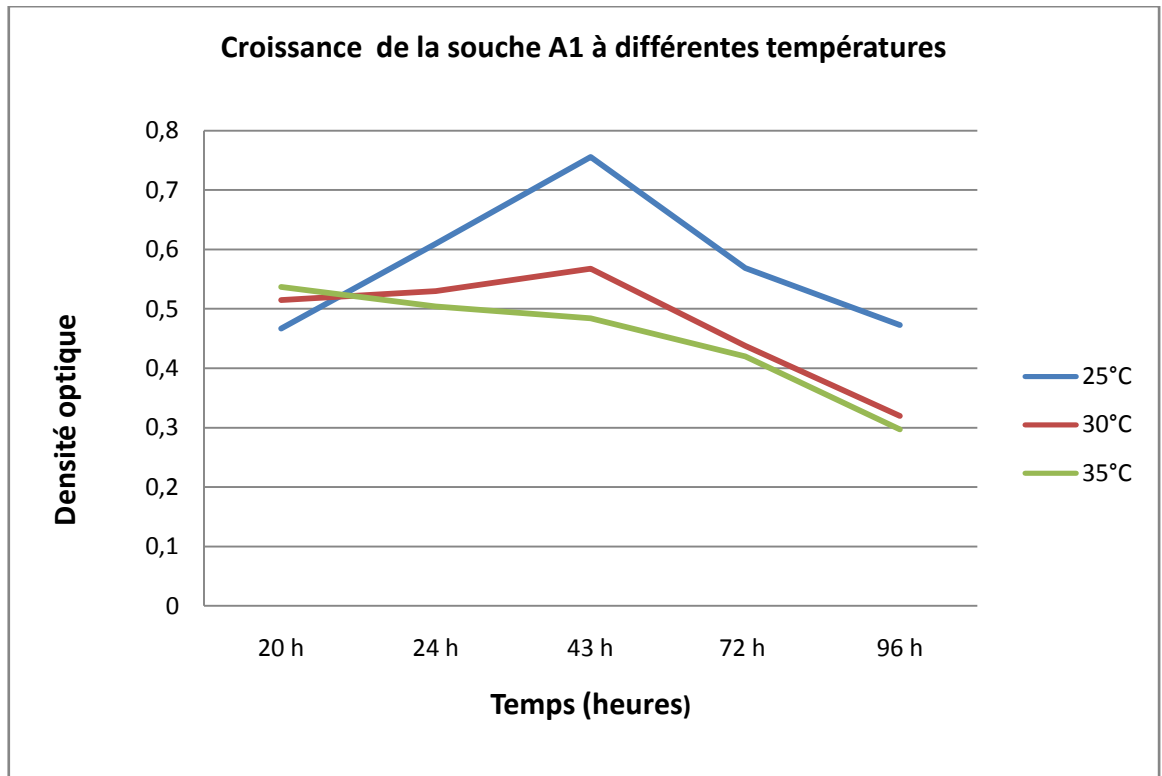
## 2. Etude, *in vitro*, des facteurs influençant la dégradation de l'herbicide Apyros par la souche d'actinomycète A1

### ➤ Effet de la température

La mesure de la croissance de la souche A1 à différentes températures (25°C, 30°C et 35°C) est réalisée par spectrophotométrie à 600nm (**tableau 08 figure 07**).

**Tableau 08** : croissance de la souche A1 à différentes températures.

Densité optique (DO) Temps		Température		
		25°C	30°C	35°C
20h	0.467	0.515	0.537	
24h	0.610	0.530	0.504	
43h	0.756	0.568	0.484	
72 h	0.569	0.438	0.420	
96 h	0.473	0.320	0.297	



**Figure 07** : Variation de l'absorbance la souche A1 à différentes températures.

L'absorbance est un paramètre physique qui traduit une réponse biologique, dans notre cas c'est la croissance. L'augmentation de l'absorbance signifie une augmentation de la croissance microbienne dans le milieu, ce qui se traduit par l'utilisation de l'Apyros (Sulfosulfuron) comme seule source de carbone et d'énergie par la souche A1, Les résultats figurés dans le tableau N° 8 et la figure N° 7 montrent que :

\*\*A 25°C, l'absorbance de la souche A1, durant les premiers 43h, augmente de 0.467 pour atteindre une valeur maximale (0.756), ceci signifie que la souche utilise l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie à un potentiel élevé à ce degré de température, puis elle diminue progressivement jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour pour atteindre 0.473, ce qui peut être traduit par l'épuisement du milieu suite à l'utilisation de l'Apyros qui constitue la SSCE dans le milieu.

\*\* A 30°C, l'absorbance augmente de 0.515 à 0.568, durant les premiers 43h, qui n'est pas un changement significatif, puis elle diminue progressivement au bout de 96 h, ce qui indique que la souche A1 utilise l'Apyros (sulfosulfuron) comme seule source de carbone et d'énergie pour sa croissance, mais à un potentiel inférieur à celui à 25°C.

\*\*A 35°C, l'absorbance de A1 diminue progressivement et de façon significative de 0,537 à 0,297 au bout de 96h, ceci est due à l'incapacité de la souche A1 d'utiliser l'Apyros comme seule source de carbone et d'énergie à ce degré de température.

Les résultats cités précédemment nous permettent de conclure que le taux optimal de croissance de la souche A1 est observé à 25 °C, ce qui explique une meilleure dégradation de l'herbicide Apyros à cette température.

**Cambon *et al.*, 1998**, ont montré qu'à 28°C la transformation du thifensulfuron méthyle (un herbicide sulfonylurée) est biologique et que la cinétique de biodégradation est d'autant plus rapide que la température augmente puis elle diminue rapidement quand la température atteint 40-45°C. A des températures supérieures à 53°C, le processus majeur de transformation est chimique alors qu'à des températures inférieures à 53°C les deux processus de transformation peuvent avoir lieu.

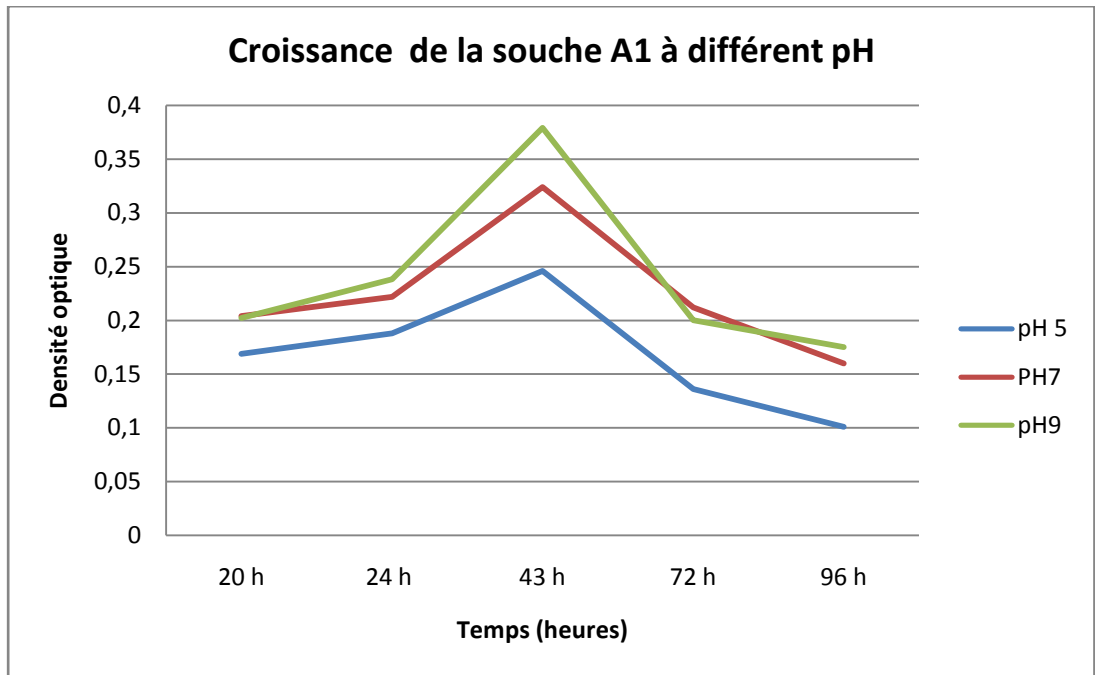
L'augmentation de la température à des valeurs entre 40 et 45°C rend le temps de demi-vie beaucoup plus long (**Nègre *et al.*, 2012**).

➤ **Effet du PH :**

La mesure de la croissance de la souche A1 à différents pH (5, 7 et 9) est réalisée par spectrophotométrie à 600 nm (**tableau 09, figure 08**).

**Tableau 9 :** Effet du pH sur la croissance de la souche A1.

Densité optique (DO) Temps	pH		
	5	7	9
20h	0.169	0.204	0.202
24h	0.188	0.222	0.238
43h	0.246	0.324	0.379
72h	0.136	0.212	0.200
96h	0.101	0.160	0.175



**Figure 8** :Variation de l'absorbance de la souche A1 à différents pH.

Les résultats figurés dans le tableau N° 9 et la figure N° 8 montrent que :

\*\* A pH = 5 l'absorbance augmente d'une façon significative, de 0.169 à 0.246 au bout de 43 h, ce qui indique que la souche utilise l'Apyros comme SSCE, puis elle diminue progressivement jusqu'au 96h pour atteindre 0,101.

\*\*A pH =7 l'absorbance augmente de 0.204 à 0.324 durant 43h, ce qui indique que la souche utilise l'Apyros (sulfosulfuron) comme seule source de carbone et d'énergie pour leur croissance, puis elle diminue progressivement pour atteindre 0,160 au bout de 96h, qui est dû à l'épuisement du milieu.

\*\* A pH = 9, l'absorbance varie de 0.202 à 0.379 durant 43 h, ce qui indique que la souche utilise l'Apyros comme SSCE à un potentiel élevé à cette valeur de pH (basique), puis elle diminue progressivement au bout de 96h.

\*\* L'augmentation de l'absorbance est due à une augmentation de la croissance microbienne de la souche A1 dans le milieu de culture, ce qui indique qu'elle utilise l'Apyros (Sulfosulfuron) comme seule source de carbone et d'énergie pour sa croissance.

Les résultats précédemment cités nous permettent de conclure que le taux optimal de croissance de la souche A1 est enregistré à pH 9 et par conséquent une meilleure dégradation de l'herbicide Apyros.

La variation du pH dans un champ peut grandement affecter la capacité d'un herbicide à persister dans le sol (**Merril et Thomas, 1999**). Cette étude fait état de l'isolement et de la caractérisation de souches bactériennes du sol (*Bacillus sp*) Provenant d'échantillons de sol prélevés dans un champ de blé à BaidauliMahuaDih, village situé à environ 6 km du district de Kushinagar, dans l'UttarPradesh, en Inde, utiliser le sulfosulfuron.

**Merrill A. Ross et Thomas N. Jordan** de l'Université Purdue en 1999 montrèrent que les sulfonilurées sont principalement décomposées par hydrolyse et par voie microbienne. Les herbicides à base de sulfonilurée sont plus étroitement adsorbés sur les particules et les matières organiques du sol à un pH faible.

Les herbicides à base de sulfonilurée se propagent d'avantage dans les sols à pH élevé, car l'hydrolyse acide cesse à des niveaux de pH élevés. Le taux d'hydrolyse est maximal lorsque le pH est inférieur à 6,8 et que la température augmente.

**Berger et al.**, montrèrent que l'hydrolyse alcaline des sulfonilurées a également été rapportée dans la littérature, bien que les constantes de vitesse semblent à l'ordre du jour, et ont examiné 12 herbicides à base de sulfonilurée et n'ont pas observé une augmentation des taux de dégradation lorsque le pH passait de 7 à 10.

Selon **Pons et Barriuso, (1998)**, l'influence du pH sur la dégradation a été confirmée pour le metsulfuron méthyle; les temps de demi-vie sont de 5 jours dans un sol acide (stérile ou non stérile) et de 69 et 139 jours dans un sol alcalin sous des conditions stériles et non stériles, respectivement

D'après **Hang, (1990)**, dans les sols neutres à alcalins, certains herbicides, tels que le metsulfuron-méthyle, le chlorsulfuron et l'éthametsulfuron-méthyle, se dégradent très lentement et persistent de plusieurs mois à plus d'un an.

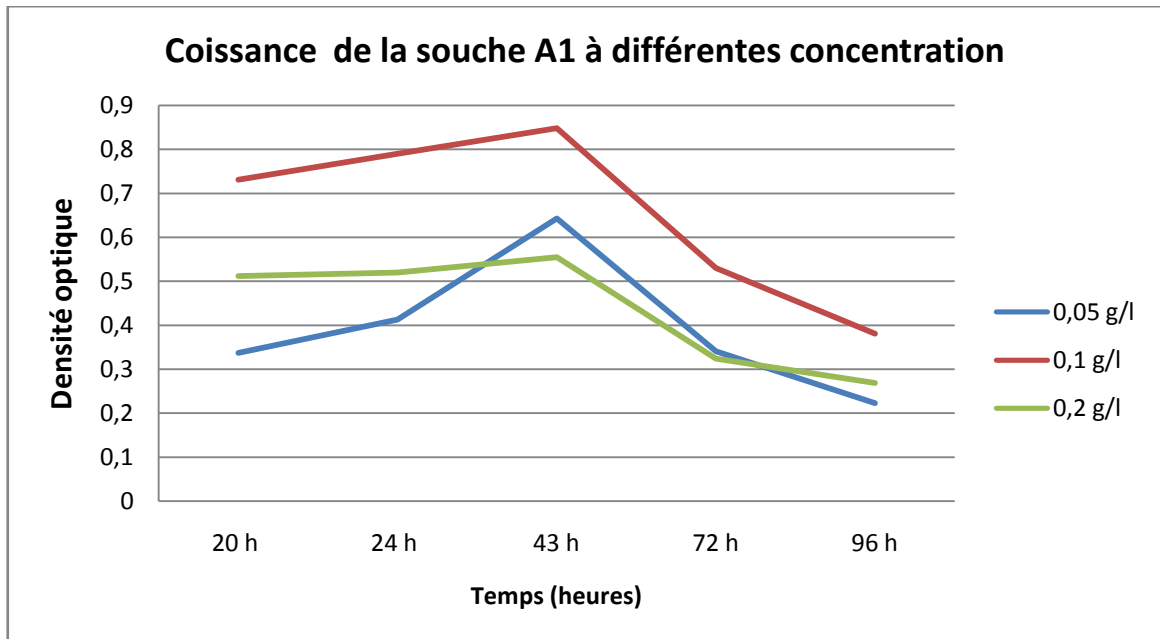
**Rouchaud et al., (1999) ; Sharma et al., (2012)** montrèrent que le chlorsulfuron possède un temps de demi-vie qui varie entre 17 et 25 jours à pH 5 alors qu'il passe à 70 jours dans des conditions de pH plus haut.

➤ **Effet de la concentration**

Les résultats sont présentés dans le tableau N° 10 et la figure N° 9

**Tableau 10** : Effet de la concentration de l'Apyros sur la croissance de la souche A1.

Densité optique (DO) Temps	Concentrations (g/l)		
	0.05	0.1	0.2
20h	0.337	0.731	0.512
24h	0.413	0.790	0.520
43h	0.643	0.848	0.555
72 h	0.341	0.530	0.324
96 h	0.223	0.381	0.269



**Figure 9**: Variation de l'absorbance de la souche A1 à différentes concentrations de l'herbicide Apyros.

D'après ces résultats on peut déduire que :

\*\* A une concentration de l'Apyros égale à 0,05 g/l (moitié de la dose recommandée), l'absorbance augmente de 0.337 à 0.643 durant 43 h, ce qui indique que la souche utilise l'Apyros comme seule source de carbone et d'énergie, puis elle diminue progressivement jusqu'au 96h.

\*\* Les mêmes résultats sont notés pour une concentration de l'Apyros égale à 0,1 g/l (dose recommandée) dont l'absorbance augmentent de 0.731 à 0.848 au bout de 43h, ce qui indique que la souche utilise l'Apyros (sulfosulfuron) comme seule source de carbone et d'énergie pour leur croissance, puis elle diminue progressivement jusqu'au 96h pour atteindre 0.381.

\*\* La même allure observée pour une concentration de l'Apyros égale à 0.2g/l (double de la dose recommandée) dont l'absorbance varie de 0.512 à 0.555 jusqu'à 43 h, ce qui indique que la souche utilise l'Apyros comme seule source de carbone et d'énergie, puis elle diminue progressivement jusqu'au 96 heures.

L'augmentation de l'absorbance est due à une augmentation de la croissance microbienne dans le milieu, ce qui indique que la souche A1 utilise l'Apyros (sulfosulfuron) comme seule source de carbone et d'énergie pour sa croissance,

Les résultats précédemment cités nous permettent de conclure que le taux optimal de croissance de la souche A1 est enregistré à une concentration de l'Apyros égale à 0,1 g/l (dose recommandée) et par conséquent une meilleure dégradation de l'herbicide Apyros.

Deepti et Abhinav, (2015) ont rapporté que deux isolats (*Bacillus sp*) présentent une meilleure croissance sur milieu minimal enrichie par 0.5% Sulfosulfuron par rapport aux autres concentrations (0.6%-3%).

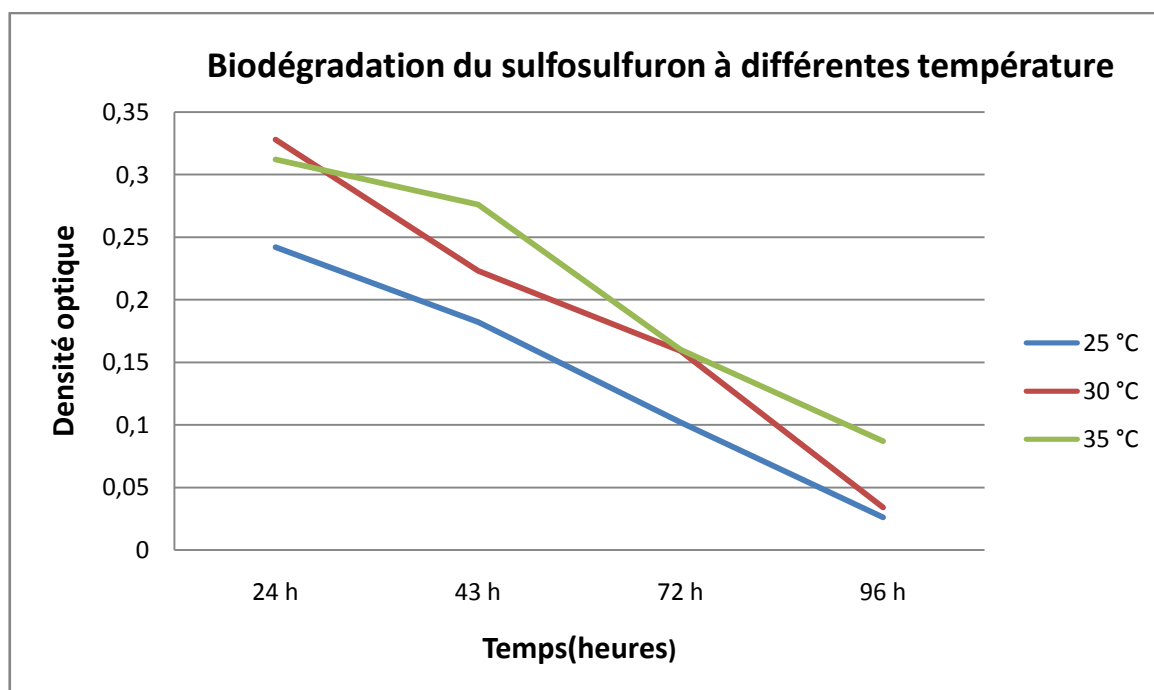
### 3. Etude in- vitro de la cinétique de dégradation de l'herbicide Apyros (sulfosulfuron)

Les valeurs de la densité optique des surnageants nous donnent un aperçu sur la variation de la concentration du sulfosulfuron.

➤ **Effet de la température**

**Tableau 11 :** densité optique du surnageant en fonction du temps à différentes température.

Densité optique (DO) Temps	Température		
	25°C	30°C	35°C
24h	0.242	0.328	0.312
43h	0.182	0.223	0.276
72 h	0.102	0.159	0.160
96 h	0.026	0.034	0.087



**Figure 10 :** cinétique de biodégradation du sulfosulfuron à différentes températures



\*A 25°C, l'absorbance diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 0.242 à 0.026 dans le dernier jour d'incubation.

\*A 30°C, l'absorbance diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 0.328 à 0.034 dernier jour d'incubation.

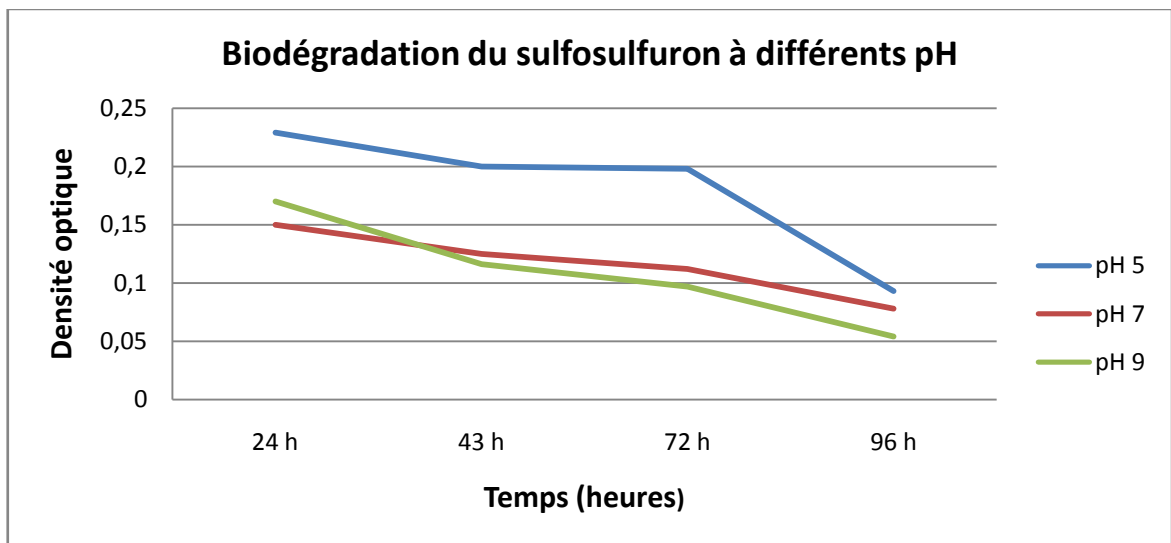
\*A 35°C, l'absorbance diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 0.312 à 0.087 1 dernier jour d'incubation

La diminution de l'absorbance du surnageants'accompagne avec une augmentation de l'absorbance microbienne de la souche A1 .Ceci est dut à une dégradation de l'herbicide par la souche A1, et donc diminution de la concentration du sulfosulfuron.

➤ **Effet du pH**

**Tableau 12** : densité optique du surnageant à différents pH.

Densité optique (DO) Temps	pH		
	5	7	9
24h	0.229	0.150	0.170
43h	0.200	0.125	0.116
72h	0.198	0.112	0.097
96h	0.093	0.078	0.054



**Figure 11** : cinétique de biodégradation du sulfosulfuron à différents pH en fonction du temps.

\*A pH 5, l'absorbance diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 0.229 à 0.093 dernier jour d'incubation.

\*A pH 7, l'absorbance diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 0.150 à 0.078 dernier jour d'incubation.

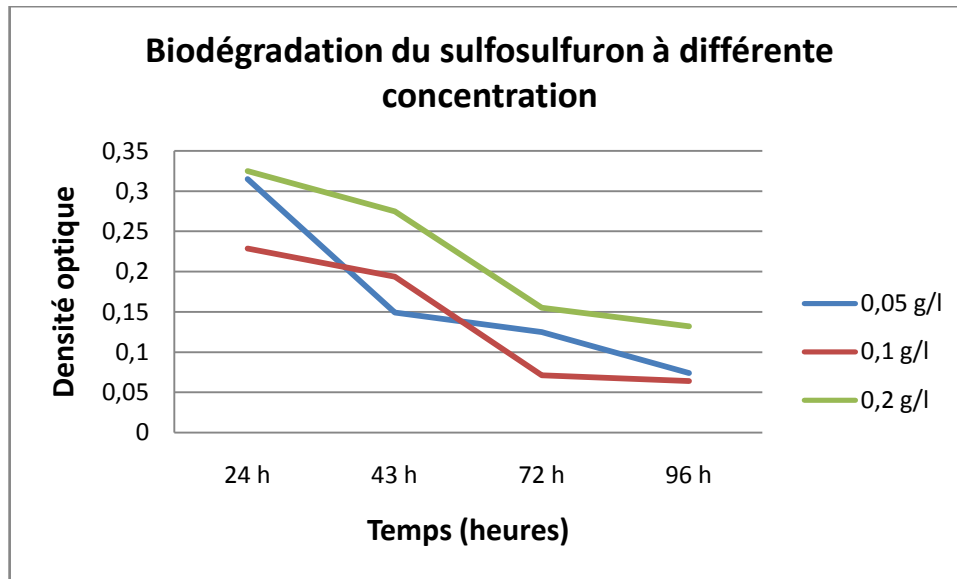
\*A pH 9, l'absorbance diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 0.170 à 0.054 dernier jour d'incubation.

La diminution de l'absorbance du surnageants'accompagne avec une augmentation de l'absorbance microbienne de la souche A1 .Ceci est due à une dégradation de l'herbicide par la souche et donc diminution de la concentration du sulfosulfuron.

➤ **Effet de la concentration**

**Tableau 13 :** La densité optique du surnageant à différentes concentrations du sulfosulfuron

Temps	Densité optique(DO)	Concentrations (g/l)		
		0.05	0.1	0.2
24h		<b>0.315</b>	<b>0.229</b>	<b>0.325</b>
43h		<b>0.149</b>	<b>0.194</b>	<b>0.275</b>
72h		<b>0.125</b>	<b>0.071</b>	<b>0.155</b>
96 h		<b>0.074</b>	<b>0.064</b>	<b>0.132</b>



**Figure 12 :** cinétique de biodégradation du sulfosulfuron à différentes concentrations en fonction du temps.

\* A 0,05g/l, l'absorbance diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 0,315 à 0,074 dernier jour d'incubation.

\* A 0,1 g/l, l'absorbance diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 0,229 à 0,064 dernier jour d'incubation.

\* A 0,2g/l, l'absorbance diminue progressivement au cours du temps d'incubation, elle varie de 0,325 à 0,132 derniers jours d'incubation.

La diminution de l'absorbance du sulfosulfuron s'accompagne avec une augmentation de l'absorbance microbienne de la souche A1. Ceci est due à une dégradation de l'herbicide par la souche et donc diminution de la concentration du sulfosulfuron.

#### 4. Etude des caractères cultureux et identification chimiotaxonomique de la souche A1 dégradante de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron)

##### 4.1. Caractères cultureux de la souche A1

Les colonies caractéristiques de la souche actinomycétale A1 apparaissent poudreuses, sèches, de couleur blanchâtre à grise.

Les milieux *ISP* (*International Streptomyces Project*) sont parmi les milieux les plus utilisés pour l'isolement, la purification, la caractérisation morphologique et même la conservation des actinomycètes (**El-Meleigy, M.A, 2012**).

Le milieu *ISP2* est un milieu riche en sources carbonées représentées par l'extrait de malt et le glucose et en source azotée représentée par l'extrait de levure, ce qui explique au mieux la croissance de la souche actinomycétale A1 sur ce milieu de culture.

Les actinobactéries se développent très lentement, avec un temps de génération relativement long, par rapport à la plupart des bactéries et des champignons, leur croissance sera donc masquée sur des milieux de culture ordinaires (**Ottow et Glathe, 1968**). Pour cela, les milieux d'isolement et de purification doivent être destinés à favoriser leur développement et inhiber les autres microorganismes (**Hayakawa, 2008**). En effet la présence dans le milieu de culture de la chitine, de l'amidon, du glycérol, de l'arginine, de l'asparagine, de la caséine conduit à un isolement sélectif des actinomycètes alors que les bactéries et les champignons poussent faiblement (**Williams et Davies, 1965**).

La Figure 13 représente l'aspect macroscopique de la souche A1 cultivée sur le milieu de culture *ISP2*



**Figure 13:** Aspect macroscopique de la souche A1 sur le milieu *ISP2*

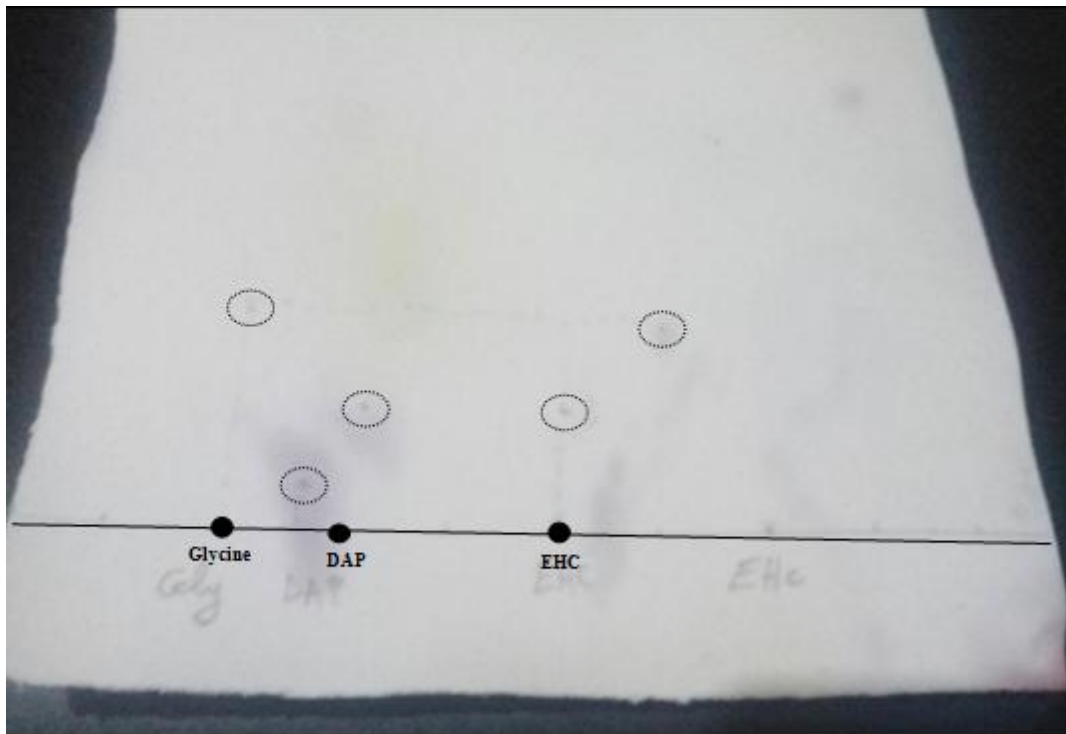
#### 4.2. Etude chimiotaxonomique de la souche d'actinomycète A1 purifiée

La détermination des acides aminés pariétaux a permis de constater la présence de la forme LL de l'acide diaminopimélique et de la glycine pour la souche A1. Pour les sucres pariétaux aucun sucre n'est apparu sur le papier de chromatographie

D'après les données du tableau N° 14 et les résultats de la chromatographie sur papier, on peut conclure que notre souche A1 peut être rapprochée au genre *Streptomyces*.

**Tableau N° 14: critères chimiques d'identification des actinomycètes (Larrent, 2000)**

Type	Genres
Type I: LL-DAP, Glycine	<i>Streptomyces, Streptoverticillium, Nocardioides, Intrasporangium, Kineosporia,</i>
Type II: mésoDAP, Glycine, arabinose	<i>Micromonospora, Glycomyces, Actinoplanètes, Dactylosporangium, Pilimelia</i>
Type III: méso DAP, Galactose	<i>Thermomonospora, Spirillospora, Thermoactinomyces, Nocardioopsis, Streptosporangium, Geodermatophilus, Microtetraspora, Brevibacterium, Dermatophilus, Frankia, Maduromycètes</i>
Type IV: méso DAP, Arabinose, Galactose	<i>Kibdelosporangium, Actinopolyspora, Amycolata, Amycolatopsis, Saccharopolyspora, Kibdelosporangium, Pseudonocardia, Saccharomonospora</i>
Type V: Lysine, Ornithine	<i>Actinomycesisraelii</i>
Type VI: Lysine, Acide aspartique	<i>Actinomycesbovis, Microbacterium, Oerskovia, Promicromonospora, Arcanobacterium</i>
Type VII: DAB Glycine, Lysine (+/-)	<i>Agromyces, Clavibacter</i>
Type VIII: Ornithine	<i>Aureobacterium, Curtobacterium, Cellulomonas</i>



**Figure14** : caractérisation des acides aminés pariétaux parchromatographiesur papier, de la souche A1.

# *Conclusion*

La pollution des sols ou spécifiquement les surfaces agricoles par les pesticides présente un grand problème d'actualité. L'utilisation des herbicides est largement répandue dans le monde. La dégradation biologique de ces derniers représente un thème très sollicité pour les chercheurs à cause des avantages économiques remarquables par rapport aux autres procédés physicochimiques classiques.

Dans ce but, une souche actinomycétale A1 aimablement fournie par Mme.Zermane.F (MAA, UMC1), connue par sa capacité à dégrader l'herbicide Apyros (75% Sulfosulfuron) a été purifiée sur milieu gélosé *ISP2*

La dégradation de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron) par la souche A1 est étudiée sous l'effet de la variation de certains facteurs : température (:25 °C, 30 °C et 35 °C), pH (5,7 et 9), Concentration de l'Apyros, à différents intervalles de temps (20h, 24h, 43h, 72h et 96h).

Cette dégradation est estimée d'une part par mesure de la croissance bactérienne par spectrophotomètre UV-visible à 600 nm, et d'autre part par mesure de la densité optique du surnageant de la culture bactérienne à 255nm.

D'après les résultats obtenus, les facteurs étudiés (température, pH et concentration de l'Apyros) ont un effet significatif sur la croissance de la souche et ainsi sur la biodégradation de l'herbicide étudié. L'optimum de la croissance bactérienne et ainsi la dégradation de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron) ont été constatés à 25°C, pH =9 et à une concentration de 0.1g/l de l'Apyros.

Les caractères culturels et l'étude chimiotaxonomique de la paroi cellulaire de la souche A1, ont permis de la rapprocher au genre *Streptomyces*.

De multiples perspectives se présentent pour affiner cette étude à savoir :

- Optimisation des conditions de culture.
- Tester un plus grand nombre de facteurs physicochimiques et nutritionnels.
- Etude du processus de biodégradation au bioréacteur.
- Une identification phylogénétique de la souche A1 au niveau de l'espèce.
- Utilisation de la souche A1 pour décontaminer les environnements pollués par l'herbicide Apyros.



*Références  
bibliographiques*

**Adamczewski,Praczyk,T., Paradowski,A.(1988).** Ocenanowych herbicydow grupy sulfonyl omocznikowej.Materialy 28 SesjiNauk.Inst.Ochr Roslin, czn,2 :299-304.

**Agence de régulation de lute antiparasitaire, (1999).**L’herbicide sulfosulfuron, document des décisions réglementaires. Coordination des pupublications.Ontario, Canada. P10.

**Anonyme 2 : ARVALIS-institu du végétal, 2012**

**Benalilache,H.,Ikhlef,F.(2016).**Cinétique de biodégradation de l’herbicide (Sulfosulfuron) par des souches d’actinomycètes isolées d’un sol agricole contaminé par le même herbicide. Thèse de Master :Biologie Moléculaire des Microorganismes.Constantine : Université des Frère Mentouri Constantine ,1.

**Beyer, E.C.,Goodenough, D.A.,Paul, D.L.,1988.**The connexins: afamily of relatedgap junction proteins.In;Gap junction ,ed.,E.L.Hertzberg and R.G.Johson,New York;Alan R.Liss,167-175.

**Blair, M.,Martin ,T D., A (1988).**Review of the activity,Fate and Mode of Action of Sulfonylurea Herbicides.Pestic.Sci.22,195-219.

**Brown, H.M., Cotterman (1994).**Recent advances in sulfonylurea herbicides In: Chemistry of Plant Protection, Herbicides inhibiting Branched-Chain Amino Acid Biosynthesis Recent Developments.J.Stetter(ed),Spring-verlag Berlin Hidelberg,Vol 10,48.

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

**California department of pesticides regulation,(2008).**Active Ingredient Sulfosulfuron. Public report .California.P8.

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

**Chahboune (2015).**Transformation photochimique des sulfonylurées et des organophosphorées sous excitation de complexes aqueux de fer (III) : Rôle du fer(II) et du peroxyde d’hydrogène .Thèse de doctorat : Chimie physique :UNIVERSITE D’HSSAN 1ER (SETTAT, MARROC ET DE BLAISE PASCAL CLERMONT FERRAND ,FRANCE). P42.

**Crawford,Don L(1993).**Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen.Appl.Environ.Microbiol.(en ligne),59(11) <http://scholar.google.com>.

**Edelahi,D.M.C.(2004).** Contribution à l’étude de dégradation in situ des pesticides par procédés d’oxydation avancés faisant intervenir le fer .Application aux

herbicides phénylurées .Thèse (Docteur de l'Université de Marne la Vallée).Chapitre1.P,22-25.

**Anonyme3: European commission** , Directorate-General Health & Consumer protection,animal and plant health,unit legislation relating to cropproducts and animal nutrition, **2002**

**Fournier, J.(1988).**Chimie des pesticides. Culture et technique. Agence de coopération et Techniques. Université d'Angers, P350.

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

**Hang,B.J.,Hong,Q.,Xie,X.T.,Huang,X.,Wang,C.H.,He,J.,andLi,S-P.(2012).** Sulfonylurea herbicide esterification esterase from *Hansschleglia Zihuaiae* S113.Appl.Envirron.Microbial, **78, 1962-1968.**

**Hay, B. (1990).**Sulfonylurea herbicide esterification esterase from *Hansschleglia Zihuaiae* S113.Appl.Envirron.Microbial, **78, 1962-1968.**  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/23707911/>

**Index de produits phytosanitaires à usage agricole, 2017.**

**Anonyme1 : Inspection phytosanitaire Constantine, 2019.**

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

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

**Lamari, N L. (2006).**Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrolidines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*.Thèse de doctorat en Biologie ; option Microbiologie. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p156.

**Lechevalier, M Pet Lechevalier, M HA. (1970).**Chemical composition as a criestion in the classification of aerobic actinomycetes.Int.J.sys.bacteriol.**20, 435-443.**

**Lee, Y.-T., Cui, C.-J., Chow, E.W.L., Pue, N., Lonhienne, T., Wang, J.-G., Fraser, J.A., and Guddat, L.W. (2013).** Sulfonylureas have antifungal activity and are potent inhibitors of *Candida albicans* acetohydroxyacid synthase. *J. Med. Chem.* **56**, 210–219.

**Levers-Lamrani. (2009).**Isolationand characterization of an isoproturon mineralizing *Sphingomonas* sp ,Strain SH a French agricultural soil .**22(3).637-50.**

**McCourt, JA and Duggleby,R.G.(2006).**Acetohydroxyacid synthase and its role in the biosynthetic pathway for branched-chain. Amino Acids, **31,173-210.**

**Min Peng,Xiu-Li Chen,Wei-MingJiang,Chun-Ling Yang,Yong-Mei Li (2012).**The population genetic diversity of different geographical *Pteris* penguin revealed by faflp

analysis .Acta Hydrobiology Sonica (en ligne),36 (1).  
[http://Scholar.google.com/Scholar-lookup?title=The population genetic diversity of different geographical Pteria penguin revealed by faflp analysis&author=Peng&publication-year=2012#gs-qabs&u=%23%DjkmxMV7K7HMJ](http://Scholar.google.com/Scholar-lookup?title=The+population+genetic+diversity+of+different+geographical+Pteria+penguin+revealed+by+faflp+analysis&author=Peng&publication-year=2012#gs-qabs&u=%23%DjkmxMV7K7HMJ)

**Monsanto Europe N.V.(2014).**Produit commercial Apyros. Fiche de sécurité. Anvers, Belgique. **P10.**

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

**Ouhdouch, Y., Barakate ,Met Finance,C.(2001).**Actinomycetes of maroccan habitats .isolation and screening for antifungal activities.Eur.J.Biol.**37:69-74.**

**Palm.H.L.,Allison,D.A.(1980).**Worldwide review of new cereal herbicide- DPX 4189.The BCPCCConference-Weeds **1 :1-6.**

**Philagro, (2015).**Produit commercial. Monitor. Fiche de sécurité. Paris P1.

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

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

**Sondhia,S.,Waseem,U.,andVarma,R.K.(2013).**Fungaldegradation ofan acetolactatesynthetase(ALS) inhibitor pyrazosulfuron-ethyl in soil.Chemosphere.In print.

**Song,J.,Gu,J.,Zhai,Y.,Wu,W.,Wang,H.,Ruan,Z. ,Shi,Y.,Yan,Y.(2013).**Biodegradatio n of nicosulfuron by a Talaromyces flavus LZM1.Bioressour Technology(en ligne).

**Staneck, J L et Roberts G D. (1974).**Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin layer chromatography.Appl Environ Microbial, **28/2, 226-231.**

**Voos,G.,Groffman,P M(1997).**Dissipation of 2,4-D and dicamba in a heterogeneous landscap.Applied Soil Ecology.[enligne],5.,2.<http://wwwdirect.com/article/pii/S092913939600001357>.

**Yael G,Mishael,Tomas Undabeytia,Onn Rabinovitz,Baruch Rubin,et Shlomo Nir,(2003).**Sulfosulfuron Incorporated in Micelles Adsorbed on Montmorillonite for Slow Release Formulations.J.Agric.Food Chem.**51,2256-2259.**

#### Sites Web :

**Bedrane, M. A(2017)** Les herbicides(en ligne).2017 (Accédé le 15 mai 2019).

[www.Leugygax.2017](http://www.Leugygax.2017) (Accédé le 02 juin 2019).



# *Annexes*

## **Annexe 1**

### **Les milieux de cultures**

#### **Milieu ISP 1**

Tryptone **5 g**

Extrait de levure **3 g**

Eau distillé **1000 ml**

pH =7-7.1

#### **Milieu ISP 2**

Extrait de levure **4 g**

Extrait de malt **10 g**

Glucose **4 g**

Agar **20 g**

Eau distillée **1000 ml**

pH 7.2

#### **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**

## Annexe 2

### Solutions

#### **Solution saline**

**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**

#### **Les révélateurs chimiques utilisés en chromatographie ascendante :**

Ninhydrine : révélateur des amines, des acides aminés et des osesamines.

- Solution de vaporisation : dissoudre 0,2 g de Ninhydrine dans 100 ml d'acétone.
- Traitement complémentaire: chauffer à 105 °C jusqu'au développement optimal des taches (couleur violette, rose).

Révélateur des sucres : solution aqueuse de 3 % vanilline, 1,5 % acide sulfurique, éthanol à 95 % en chauffant 3 à 5 min à 110°C. Les taches sont de couleur brune pour les hexoses



**Année universitaire : 2018-2019 Présenté par : REDOUANE Amina Yasmine  
ADREF Amina**

**Essai d'Optimisation de la biodégradation de l'herbicide Apyros par une souche d'Actinomycète.**

Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme de Master en **Biologie Moléculaire des Microorganismes.**

**Résumé :**

Une souche actinomycétale A1 connue par sa capacité à dégrader l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron 75%) a été purifiée sur milieu gélosé *ISP2*. La dégradation de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron) par la souche A1 est étudiée sous l'effet de la variation de certains facteurs : température (:25 °C, 30 °C et 35 °C), pH (5,7 et 9), concentration de l'Apyros (0.05 g/l, 0.1 g/l et 0.2 g/l), à différents intervalles de temps (20h, 24h, 43h, 72h et 96h). Cette dégradation est estimée d'une part par mesure de la croissance bactérienne par spectrophotomètre UV-visible à 600 nm, et d'autre part par mesure de la densité optique du surnageant de la culture bactérienne à 255 nm. D'après les résultats obtenus, L'optimum de la croissance bactérienne et ainsi la dégradation de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron) ont été constaté à 25°C, pH =9 et à une concentration de 0.1 g/l de l'Apyros. Les caractères cultureux et l'étude chimiotaxonomique de la paroi cellulaire de la souche A1, ont permis de la rapprocher au genre *Streptomyces*.

**Mots clés :** actinomycète, *Streptomyces*, Herbicide, Apyros, Sulfosulfuron, dégradation, optimisation.

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** ABDELAZIZ Wided : (MCB UFM Constantine1)

**Rapporteur :** ZERMANE Férial : (MAA UFM Constantine1)

**Examinatrice :** MEZIANI Meriem : (MAA UFM Constantine1)

**Date de soutenance : 21/07/2019**