

*République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

Université Constantine1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Mémoire

***En vue de l'obtention du diplôme de Master En Microbiologie Générale
Option : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des
Microorganismes***

**Isolement et caractérisation morphologique de souches
d'actinomycètes capables de tolérer et utiliser
l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et
d'énergie**

Présenté par :

AMIRAT AMEL

et

MENIKER SOUMIA

Jury de soutenance:

Président : BOUDEMAGH A. Maître de conférences A Université Constantine1

Rapporteur : ZERMANE F. Maitre-assistante A Université Constantine1

Examineurs : DAFRI A Maitre-assistante A Université Constantine1

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2013- 2014

Remerciements

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de génie microbiologique et applications, Faculté de sciences de la nature et de la vie, département de Biochimie et de Microbiologie, université Constantine 1.

*Nous tenons à exprimer mes remerciements, à **Mme Zermane F.** qui, par ses encouragements et ses fructueux conseils, nous apporté une aide précieuse dans la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier Monsieur **BOUDEMAGH A. Maître de conférences A** à l'Univ. Mentouri-Constantine de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Mes remerciements vont également aux : **Mme Dafri .A Maître-assistante A** à l'Université Constantine1 pour avoir accepté d'être membre de ce jury.*

*Nous ne saurons oublier : **Monsieur Saidi chaabane** pour son aide à l'obtention des échantillons de sols.*

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. La pollution2

 Définition2

2. Pollution du sol2

 2.1. Définition.....2

 2.2. Formes de pollution des sols.....3

 2.3. Micropolluant du sol.....3

 2.3.1. Micropolluants organiques.....3

 2.3.2. Micropolluants inorganiques4

3. les pesticides4

 3.1. Qu'est ce qu'un pesticide?4

 3.2. Les pesticides dans l'environnement5

 3.3. Classification des pesticides.....6

4. Les herbicides6

 4.1. Définition6

 4.2. Composition et formulation7

 4.3. Modes d'action des herbicides.....8

 4.4. Toxicité des herbicides9

 4.4.1. Indicateurs de toxicité.....9

 4.4.2. Impact sur l'homme9

 4.4.3. Impact sur l'environnement10

5. LES HERBICIDES SULFONYLURES11

 5.1. Définition.....11

 5.2. Chimie des herbicides sulfonyles11

5.3. Propriétés physico-chimiques des sulfonylurées.....	11
5.4. Activité herbicide et mode d'action des sulfonylurées	12
5.4.1. Activité herbicide.....	12
5.4.2. Mode d'action	12
6. les sulfosulfuron	13
6.1 Définition	13
6-2 Mode d'action	13
6-3 les propriétés physiques et chimiques	14
7. L'herbicide APYROS	14
UTILISATION	15
8. Devenir des micropolluants organiques dans le sol	15
8.1. Dégradation abiotique.....	16
➤ Hydrolyse.....	16
➤ Les réactions de réduction et d'oxydation.....	16
➤ Les réactions de dégradation photochimique.....	16
8.2. Dégradation biologique ou biodégradation	17
9. Les actinomycètes : agents de biodégradation dans la nature	18
9.1. Généralités	18
9.2. Morphologie	19
9.3. Physiologie et écologie	20
9.4. . Taxonomie	21
9.5. Détermination des genres et des espèces	21
9.5. 1. Caractères morphologiques.....	21
9.5. 2. Caractères chimiotaxonomiques	21
9.5. 3. Les acides nucléiques.....	22
9.6. Rôle des actinomycètes dans la biodégradation	22
Matériel et méthodes	
1. Prélèvement des échantillons.....	24
2. Mesure du Ph du sol.....	24
3. 3. Milieux et réactifs	24
4. Méthode d'isolement.....	24

4.1. Préparation de la suspension de sol	24
4.2. Préparation des dilutions décimales	25
5. Prélèvement des colonies d'actinomycètes	25
6. Coloration de Gram.....	25
7. Conservation des souches	25
7-1- Gélose inclinée	25
7-2- Congélation des cultures sporulées	25
8.Préparation des inoculums	26
8.1. Inoculum général	26
8.2. Inoculum lavé	26
9. Etude de la tolérance des actinomycètes isolées à l'herbicide APYROS (sulfosulfuron)	26
10. Etude de la capacité des souches actinomycètes isolées de croître sur l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie.....	27
11. Identification Présomptive des souches actives	27
11-1-Aspect macroscopique.....	27
11-2-Détermination des pigments mélanoides	28
11-3- Aspect microscopique	28
11-3-1-Technique de culture sur lame	28
11-3-2-Technique de culture sur lamelle	28

Résultats et discussion

1. Caractéristiques des échantillons du sol	29
2. Isolement sélective des actinomycètes.....	29
3. Caractéristiques morphologiques des souches.....	29
4. Tolérance des souches d'actinomycètes à l'herbicide Apyros à forte Concentration.....	29
5. Capacité des souches d'actinomycètes de croître sur l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie	30
6. Identification présomptive des souches actives	30
6.1- Aspect macroscopique	30

6.2. Détermination des pigments mélanoides	30
6.3. Aspect microscopique	30
Discussion	31
Conclusion et perspectives	36
Référence bibliographiques	37
Annexes	

Liste des abréviations

ADNr: acide désoxyribonucléique ribosomal

A.L.S : l'acétolactate synthétase

DAP : L'acide diaminopimélique

DES : La dose sans effet

DJA : La dose journalière acceptable

DL50 : dose létale 50

EC : les concentrés émulsionnables

flow :flowable

G-A: Glucose Asparagine

ISP: international *streptomyces* project

LMR : La limite maximale de résidu

SC : les suspensions concentrées

SCA :Starch Caséine Agar

SG : les granulés solubles

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

US EPA : L'Environmental Protection Agence des États-Unis

UV : ultraviolet.

WG : les poudres mouillables

Liste des figures

Figure 1: Structure générale des sulfonylurées (Beyer et al. 1988).	11
Figure 2: Relation structure-activité.....	12
Figure 3 : L'herbicide APYROS	15
Figure 4: Cycle de développement des Actinomycètes sur milieu solide (Breton et al, 1989)	19
Figure 5: Différents chaînes de spores chez les Actinomycètes ; spores endogènes (A) et spores exogènes (B) (Breton et al, 1989).	21
Figure 7: Tolérance de la souche B11 à l'apyros (1g/l).....	29
Figure 8: Inhibition de la croissance de la souche A214 par l'Apyros (1g/l)	29
Figure 9: Aspect microscopique de la souche B11 (Présence de sporange sur le mycélium aérien).	30
Figure 10 : Aspect microscopique de la souche B24 (spores singulier sur le mycélium de substrat).....	30

Liste des tableaux

Tableau 1 : propriétés physico-chimiques du sulfosulfuron	14
Tableau 2 : Usage et dose appliqué de l'herbicide Apyros	15
Tableau 3 : Nombre de colonies d'actinomycètes isolées pour chaque échantillon... ..	29
Tableau 4 : Tolérance des 16 isolats à l'herbicide Apyros	29
Tableau 5 : capacité des souches tolérantes de croître sur l'herbicide APYROS comme seule source de carbone et d'énergie	30
Tableau 6 : Aspect macroscopique des souches Actinomycétales actives.	30
Tableau 7 : Détermination des pigments mélanoides produits par les souches actives.	30
Tableau 8 : Aspect microscopique des souches actives.....	30

Introduction

Notre environnement aujourd'hui est devenu toxique. L'air que nous respirons, les aliments que nous ingérons, l'eau que nous buvons..., indispensables à la vie, sont devenus vecteurs de substances chimiques qui nous intoxiquent progressivement.

L'un de ces intoxications est causé par l'usage des produits phytosanitaires (insecticides, herbicides, fongicides, etc.). Qui sont d'abord apparus bénéfiques et permis d'améliorer les rendements et la diversité des cultures, afin de satisfaire la demande nutritionnelle, liée à l'accroissement de la population mondiale. Cependant, cette utilisation a également provoqué des effets indirects et néfastes sur l'environnement. Ainsi des études ont montré la présence de résidus de pesticides dans les aliments ainsi que dans les eaux souterraines et superficielles (**Cunnif, 1995, Di Corcia et Marchetti, 1992**).

En effet, une très grande partie des pesticides répandus n'atteint pas leur cible. Une partie importante est dispersée dans l'atmosphère, soit lors de leur application, soit par évaporation ou par envol à partir des plantes ou des sols, sur lesquels ils ont été répandus. Disséminés par le vent et parfois loin de leur lieu d'épandage, ils retombent avec les pluies directement sur les plans d'eau et sur les sols d'où ils sont ensuite drainés jusqu'aux milieux aquatiques par les eaux de pluie, ce qui présente une vraie menace pour tout l'environnement (**Fenske et al, 2002**).

Au cours des dernières années, les chercheurs ont imaginé divers procédés d'élimination de cette pollution, parmi eux, les traitements physico-chimiques requièrent des quantités considérables d'agents oxydants et conduisent parfois à la formation de produits intermédiaires indésirables et même toxiques. De plus certains produits résistent à ce type de traitement. Bien que les traitements biologiques soient massivement employés, par les microorganismes qui jouent un rôle important dans la dégradation des pesticides, par des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse. 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**).

Pour cela, nous avons fixé comme objectif principal, l'isolement sélectif de souches microbiennes (**actinomycètes**) capable de tolérer et de dégrader l'un de la famille des pesticides les plus utilisés au monde (**les sulfonilurées**), qui est l'**Apyros (Sulfosulfuron)**.

Notre second objectif, est l'identification présomptive des souches actives.

1. Pollution

➤ Définition

La pollution et la contamination sont deux expressions couramment employées pour désigner l'accumulation anormale et exogène, généralement due à une activité humaine, d'éléments ou de composés minéraux, organiques ou d'agents pathogènes dans un milieu donné dont la qualité se trouve affectée (**Chassin *et al.*, 1996**).

Une pollution est définie comme une introduction dans l'environnement (air, eau, sol) Des molécules xénobiotiques qui par définition sont des substances possédant des propriétés toxiques même à de très faibles concentrations (**Coleman *et al.*, 1997**).

Une substance toxique désigne une substance naturelle ou de synthèse, minérale ou organique, présentant une nocivité pour les organismes vivants, pouvant être absorbée par voie foliaire ou racinaire chez les plantes, par inhalation, ingestion ou contact chez les animaux, elle provoque une intoxication des organismes affectés en perturbant une fonction vitale pouvant entraîner la mort (**Ramad, 2000**).

2. Pollution du sol

2.1. Définition

Quand on parle de pollutions environnementales, surtout en ce qui concerne les sols, on est confronté tout d'abord à la définition précise de « pollution ». Celle-ci peut se faire en fonction de la présence dans le sol d'une molécule organique xéno biotique ou en fonction de ses effets sur une fonction ou une activité donnée du sol (**Martinelli, 1999**).

Différentes définitions de la pollution environnementale sont données dans la littérature.

D'après **Baize (1997)** et **Delmas (2000)**, la « contamination » doit être employée pour les sols lorsqu'il y a des apports anthropiques importants mais sans effet apparent pour l'environnement. Par conséquent, il souhaite que l'on emploie le terme « pollution » lorsque des apports liés à des activités humaines ont des effets négatifs visibles sur L'environnement.

On retient de cette définition que la pollution est vue comme étant :

- un accroissement des teneurs en polluant suite aux activités humaines, locales ou Générales,
- un accroissement du risque de nuire aux fonctions des sols naturels.

2.2. Formes de pollution des sols

On distingue deux types de pollution des sols (**Jeannot *et al.* 2000**).

- **La pollution localisée** : Elle se distingue par la présence ponctuelle dans les sols de substances dangereuses: déversements, fuites ou dépôt de déchets.
- **La pollution diffuse** : Elle implique des polluants à faible concentration sur de grandes surfaces, ils proviennent généralement d'épandages de produits: engrais ou pesticides, retombées atmosphériques.

Pour chacun de ces types, on distingue deux origines de pollution:

- **La pollution accidentelle** Déversement ponctuel et momentané de substances polluantes.
- **La pollution chronique** survenant sur de longues durées, telles que les fuites sur des Conduites enterrées, les lixiviats issus de dépôts de déchets.

2.3. Micropolluant du sol

2.3.1. Micropolluants organiques

Les polluants organiques sont généralement les substances chimiques qui persistent dans l'environnement, et la pollution par ces substances est perçue au travers de leur présence dans les milieux aqueux (dans l'air ou le sol) ainsi que par leur accumulation dans les tissus des organismes vivants à travers la chaîne alimentaires.

Les polluants organiques sont classiquement les hydrocarbures, les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les pesticides, les colorants, les dioxines, dibenzofurannes, PCBs, les dérivés du phenol (bisphénol-A), certains métabolites (nitrosamines), lesorgano-mercuriques, et des médicaments divers, etc. Chaque famille de polluants a des caractéristiques physico-chimiques différentes qui conditionnent leur devenir dans les sols, dans l'air ou en milieu aqueux, et surtout leur comportement dans l'environnement.

Ils proviennent principalement de trois ensembles d'activités:

- activités industrielles (production d'énergie, métallurgie, industries chimiques)
- activités urbaines (transports, gestion et traitement des déchets),
- activités agricoles (utilisation de produits phytosanitaires) (**Sun et Pignatello, 1993;Brillas *et al.*, 2009**).

2.3.2. Micropolluants inorganiques

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

Généralement ils sont non biodégradables, accumulatifs et toxiques quand ils sont présents en grande quantité (**Boucheseiche et al, 2002**).

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

Les micropolluants minéraux sont présents naturellement à des concentrations généralement basses dans les sols. Ils proviennent en grande partie de l'altération de la roche mère du sous-sol (**Jeannot et al, 2000**).

Les activités anthropiques peuvent conduire à une augmentation de ces concentrations naturelles. L'accumulation des métaux lourds dans l'environnement est liée à leur utilisation comme matières premières pour de nombreux produits industriels ou comme catalyseurs chimiques (**Crosnier, 1999**).

On les trouve également dans des produits tels que les pesticides ou les engrais qui sont distribués sur une large surface. Ils sont aussi apportés sous forme de déchets urbains ou industriels, solides, liquides ou gazeux (**Eshighi, 1995**).

3. les pesticides

3.1. Qu'est ce qu'un pesticide?

Le terme pesticide dérive du mot anglais « *Pest* » qui désigne tout animal, plante ou microorganisme (virus, bactéries, champignons, vers, mollusques, insectes, oiseaux, rongeurs et mammifères) susceptibles d'être nuisibles à l'Homme ou à l'environnement (**Feigenbrugel, 2004; Periquet, 1989 ; El Bakouri, 2002**).

Dans le domaine environnemental, est considéré comme pesticide tout produit commercial ou toute substance chimique ou biologique autre qu'un médicament ou un vaccin, utilisé contre un parasite (insecte, champignon, bactérie, virus, mauvaise herbe, rongeur, ...), c'est-à-dire tout organisme vivant nuisible, nocif ou gênant pour l'être humain et ses ressources, dans le but de

Revue bibliographique

l'éliminer ou d'inhiber son développement C'est certainement cette définition qui a conduit **Fournier, (1988)** à affirmer que les pesticides sont utilisés pour

- lutter contre les ennemis des cultures (mauvaises herbes et insectes)
- lutter contre les insectes parasites de l'Homme ou vecteurs de maladies,
- lutter contre les insectes parasites du bétail,
- lutter contre les insectes et acariens des produits stockés,
- lutter contre les ennemis des forêts et espaces verts,
- le désherbage et le débroussaillage des zones non cultivées.

Les pesticides tuent chaque année 20000 personnes dans le tiers monde tandis que 25 millions d'ouvriers agricoles sont gravement atteints (**El-Bakouri, 2002**).

On retrouve aujourd'hui des pesticides à l'état de traces plus ou moins importantes dans pratiquement tous les écosystèmes de notre planète (**Zhu et al., 2005 ; Zhou et al., 2006; Tahara et al., 2005 ; Mohammad et al., 2005 ; Yeo et al., 2003 ; Zhang et al., 2005 Bakouri, 2002**).

Ils altèrent gravement le fonctionnement des êtres vivants. Ces altérations affectent aussi bien la faune que la flore et leurs effets sont parfois combinés.

Il faut noter que de nos jours, le nombre de molécules mises en jeu est très important. Si les risques de toxicité directe sur la faune et la flore sont un peu étudiés, les risques épidémiologiques par contre ne sont pas quantifiés avec exactitude (**El-Bakouri, 2002**) alors que la contamination se fait à tous les niveaux ; de l'air à l'eau en passant par les aliments.

3.2 .Les pesticides dans l'environnement

L'agriculture intensive a conduit à l'utilisation d'une large palette de pesticides. De nombreuses études font état de la présence de pesticides dans notre environnement. Une fois appliqués, 85 à 90% de la quantité de pesticide n'affectera pas les organismes ciblés. On conçoit facilement que cette quantité de pesticide va se répartir dans l'environnement et polluer les différents compartiments de la biosphère : l'air, l'eau et les sols. On en retrouve par exemple très fréquemment en phase aqueuse : dans les eaux des rivières (**Ciani et al., 2005 Boroumand et al., 1992**) dans les eaux usées (**Kubelka, 1948**) dans les eaux souterraines (**Foley et al., 2004**) et dans les eaux de pluie (**Newton et al., 2006**) Mais ils sont aussi présents dans l'air (**Louit et al., 2005**) sur les particules de l'atmosphère (**Haaget al., 1984**) et dans les aliments (**Halladja et al., 2007 ; Šikovec et al., 1995**).

Revue bibliographique

La dispersion des pesticides dans les différents compartiments de l'écosystème (eau -sol - air) est très rapide. Dans ces milieux, plusieurs processus biogéochimiques sont mis en jeu et déterminent leur devenir dans l'environnement. Ces mécanismes peuvent être d'une part abiotique, de nature physique (volatilisation, adsorption par le sol, lessivage ...) ou de nature chimique (hydrolyse, photodégradation...), et d'autre part biotiques lorsqu'il s'agit de l'absorption et de la métabolisation par les différents microorganismes vivants dans le milieu.

3.3. Classification des pesticides

Les pesticides sont généralement classés en fonction de la cible que l'on veut viser.

On distingue pour cela:

Les insecticides : Le terme « insecticide » pris strictement ne recouvrirait que les substances destinées à tuer les insectes. En fait on lui donne plutôt un sens beaucoup plus large et ceci dans deux directions ; d'une part, il englobe les produits qui tuent les insectes, qui empêchent l'éclosion des œufs, le développement normal des larves ou la maturation sexuelle des adultes. D'autres part, il s'applique non seulement aux insectes mais à des êtres vivants voisins (aphidiens, acariens) (**Fournier, 1988**).

Les herbicides : Ce sont les plus utilisés des pesticides en tonnages et en surfaces traitées (47%). Ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes adventices des cultures. Ils appartiennent à plus de 35 familles chimiques différentes. . Les plus représentées sont les carbamates (chlorprophame, triallate), les urées substituées (diuron, isoproturon, ...), les Triazines (atrazine, simazine), les phytohormones (2,4 – D), les amides (propyzamide, ...).

Les acaricides (contre les acariens),

Les rodenticides (contres les taupes et les rongeurs),

Les corvicides (contre les oiseaux ravageurs),

Les hélicides (contre les limaces qui font des dégâts dans les cultures maraîchères),

Les nématocides (contre les vers),

Les molluscides (contre les mollusques, limaces, escargots) (**Fournier, 1988**).

4 .Les herbicides

4.1. Définition

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

Revue bibliographique

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

Ils permettent de supprimer ou de limiter le développement de plantes non désirées et des mauvaises herbes. Ils agissent sur les « mauvaises herbes » soit par contact en détruisant les parties de plante sur lesquelles ils sont déposés, soit par pénétration et diffusion lorsqu'ils sont absorbés par les feuilles ou les racines et exercent leurs effets toxiques sur l'ensemble du végétal. (**Fdil, 2004**).

4.2. Composition et formulation

Un produit herbicide correspond au nom commercial du produit commercialisé par un distributeur ou un fabricant. Ce produit commercial ou spécialité commerciale se compose de deux types de constituants : **les matières actives** qui lui confèrent son activité herbicide et **les formulants** qui complètent la formulation. Les formulants sont soit des charges ou des solvants qui n'ont qu'un rôle de dilution des matières actives, soit des produits qui améliorent la préparation pour sa qualité : stabilité, présentation et facilité d'emploi, son comportement physique lors de la pulvérisation : mouillage, adhésion, ..., et son activité biochimique : pouvoir surfactant et qualité phytoprotectrice. (**Amatrop, 2000**).

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

- pour les formulations solides : les granulés solubles (abréviations : SG), les poudres mouillables (WG) ;
- pour les formulations liquides : les concentrés solubles (SL), composés de produits solubles dans l'eau ; les concentrés émulsionnables (EC), composés de produits liquides en émulsion dans le produit ; les suspensions concentrées (SC), appelées parfois flow (de l'anglais flowable), composées de particules solides dispersées dans le produit (**Amatrop, 2000**).

Revue bibliographique

La caractérisation d'un produit herbicide signifie la désignation de la matière active, Le nom du produit commercial, le fabricant et éventuellement du distributeur local, la teneur de la matière active dans le produit, le type de formulation, le mode d'emploi, la dose d'emploi et la culture cible (**Amatrop, 2000**).

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

4.3. Modes d'action des herbicides

Les herbicides se distinguent par leur voie de pénétration et leur mode d'action dans Les végétaux (**Amatrop, 2000**).

➤ **Herbicides à pénétration racinaire** : appliqués sur le sol, ils pénètrent par les Organes souterrains des végétaux (racines, graines, plantules). Ce sont les traitements herbicides de prélevée, effectués avant la levée de la plante considérée (culture ou mauvaise herbe).

- actions sur la photosynthèse : triazines, diazines – uraciles, triazinones, urées substituées (**Fdil, 2004**).

- action sur la division cellulaire : toluidines.

- action sur l'élongation cellulaire : alachlore, métazachlore, métolachlor, etc.

- inhibition de la synthèse des caroténoïdes : isoxaflutole, clomazone.

➤ **Herbicides à pénétration foliaire**: appliqués sur le feuillage, ils pénètrent par les organes aériens des végétaux (feuilles, pétioles, tiges). Ce sont les traitements herbicides de post-levée, effectués après la levée de la plante considérée (culture ou mauvaise herbe).

- actions sur la photosynthèse : bipyridyles, diazines.

- actions sur les membranes cellulaires : dinitrophénols, benzonitriles.

- action sur la division cellulaire : carbamates.

- action sur l'élongation cellulaire : aryloacides, dérivés picoliniques.

- action sur la biosynthèse : acides aminés, lipides.

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

➤ **Herbicides systémiques** : herbicides capables d'agir après pénétration et migration d'un organe à un autre de la plante traitée.

4.4. Toxicité des herbicides

4.4.1. Indicateurs de toxicité

La toxicité des herbicides dépend de plusieurs facteurs. Quatre éléments peuvent être pris en considération : le climat, le sol, la plante traitée et les techniques d'application (**Amatrop, 2000**). Les principaux indicateurs de toxicité sont les suivants : Le premier indicateur de référence est la dose létale 50 (DL50). C'est la dose administrée en une fois à un lot d'animaux et qui provoque la mort de 50% du lot. Elle permet d'estimer la toxicité aiguë du produit : plus la DL50 est faible, plus le produit est considéré comme toxique. Elle est exprimée en milligramme de substance toxique par kilogrammes de poids vif (mg. Kg-1) (**Fdil, 2004**).

La dose sans effet (DES), correspondant à la limite de toxicité chronique pour l'animal (toxicité à long terme). Elle est exprimée en mg/kg de poids vif par jour (**Chafik, 2002**).

La dose journalière acceptable (DJA) est la quantité de produit pouvant être quotidiennement absorbée au cours d'une vie humaine sans manifestation d'effets secondaires. Elle est exprimée en mg.kg-.jour-. Cette utilisation provoque des effets indirects néfastes sur l'environnement (**Fdil, 2004**).

La limite maximale de résidu (LMR) est la concentration maximale admissible dans une denrée. Elle est établie pour un produit alimentaire en tenant compte de la quantité d'un aliment donné qu'un homme consomme en moyenne chaque jour (**Chafik, 2002**).

4.4 .2. Impact sur l'homme

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

Ainsi, chez les agriculteurs, malgré une espérance de vie plutôt supérieure à la moyenne du fait d'une sous-mortalité par les maladies cardiovasculaires et par cancers en général, il a été remarqué que l'incidence de certains types de cancers a augmenté. Il s'agit en général de cancers peu fréquents voire rares tels que les cancers des lèvres, de l'ovaire, du cerveau, du mélanome cutané et de la plupart des cancers du système hématopoïétique (leucémies, myélomes, lymphomes). Le cancer de la prostate et de l'estomac, cancers nettement plus fréquents, seraient également concernés. Il s'est également avéré que des produits de dégradation des pesticides peuvent être aussi toxiques, ou même plus toxiques que la molécule d'origine (**Pelletier, 1992**).

Revue bibliographique

L'utilisation des herbicides a aussi engendré une contamination plus directe des consommateurs. En effet, une étude de l'**Académie des Sciences Américaine (1987)** a mentionné la présence de résidus de pesticides dans les différents aliments.

Il a été remarqué que chez des femmes exposées à des pesticides, le risque de mortalité intra-utérin augmentait et que la croissance fœtale diminuait. A noter aussi que des pesticides ont été retrouvés dans le cordon ombilical mais aussi dans le lait maternel, ce qui pourrait expliquer le mauvais développement du fœtus, les malformations congénitales et les anomalies du système nerveux central (**Pelletier, 1992**).

4.4.3. Impact sur l'environnement

Les apports des herbicides dans l'environnement sont, en dehors d'accidents ponctuels, de nature diffuse et chronique. Issus pour l'essentiel des traitements agricoles, les apports résultent d'épandages multiples au cours de l'année. Environ 2.5 millions de tonnes de pesticides sont appliqués chaque année sur les cultures de la planète. La part qui entre en contact avec les organismes cibles, ou qu'ils ingèrent, est minime. Elle est évaluée à 0.3% ce qui veut dire que 99.7 % des substances déversées s'en vont "ailleurs" dans l'environnement, principalement dans les sols et les eaux (**Marc, 2004**).

Comparée à la toxicité humaine, la nocivité pour les espèces environnementales passe souvent au second plan dans les processus d'homologation qui donnent les normes réglementaires pour chaque contaminant. Or, de l'utilisation accumulée de l'herbicide résulte une dégradation lente et progressive de la biodiversité des sols agricoles qui peuvent ainsi être assimilés plus à des systèmes artificialisés dévolus à une culture intensive qu'à des écosystèmes terrestres naturels. Ce processus de dégradation de la vie biologique en milieu terrestre est consécutif à l'intensification du système de production qui a longtemps été la règle en agriculture.

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

Les morts de mammifères imputables aux herbicides sont généralement la conséquence de l'ingestion d'une nourriture contaminée. Des mortalités massives ont été observées lors de

grandes opérations de lutte menées avec des organochlorés. Pour ce qui est des oiseaux, de nombreux cas mortels ont été recensés par ingestion directe de granulés ou d'insectes ayant ingéré des toxiques (Pelletier, 1992).

5. Les herbicides sulfonylurés

5.1. Définition

Les sulfonylurées sont des urées substituées qui sont utilisés en poste émergence. Et prélevée de très faibles doses (5 à 35 g de matière active par hectare de blé contre 600 à 800 g de 2,4-D) (Fournier, 1988). Les propriétés des sulfonylurées ont été rapportées pour la première fois en 1966 par Koog (Junghans *et al*, 2003) avec un composé de la propazine. Le premier herbicide sulfonylurée commercialisé fut le chlorsulfuron en 1981. Actuellement, la famille des sulfonylurées est composée d'une vingtaine d'herbicides développés principalement par Du Pont de Nemours (Fournier, 1988).

Les sulfonylurées sont des urées substituées dont les molécules sont caractérisées par une activité herbicide à doses très réduites (10 à 100 fois moins que les herbicides conventionnels) ce qui a permis leur introduction rapide sur le marché des herbicides (Junghans *et al*, 2003). Avec des demi-vies dans le sol inférieures à deux mois, et des DL50 supérieures à 5000 mg/kg chez le rat, ces produits sont aussi très intéressants du point de vue de l'environnement.

5.2. Chimie des herbicides sulfonylurés

Les sulfonylurées sont des composés dont de structure générale est représentée dans la (Figure1)

Leur synthèse s'effectue en trois étapes:

- synthèse du sulfonamide,
- substitution de l'hétérocycle et
- couplage du groupement sulfonamide avec l'hétérocycle.

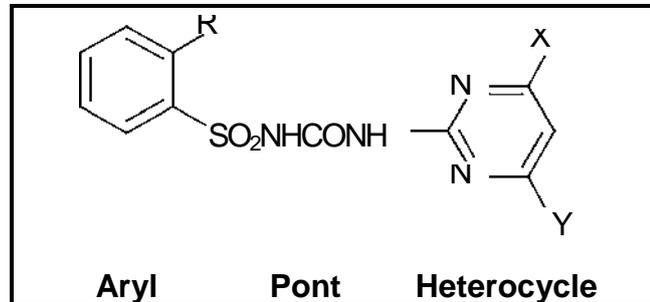
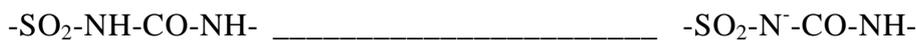


Figure1: Structure générale des sulfonilurées (**Beyeret al., 1988**).

Groupements R activateurs: CO_2CH_3 ; NO_2 ; F; Cl; Br; SO_2CH_3 ; SCH_3 ; $\text{SO}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$; CF_3 ; CH_3 ; CH_2OCH_3 ; OCF_3 ; Groupements non activateurs: COOH ; OH ; $\text{X}=\text{CH}_3$; $\text{Y}=\text{OCH}_3$

5.3. Propriétés physico-chimiques des sulfonilurées

Les sulfonilurées sont des composés non volatils avec des pressions de vapeur inférieures à 10^{-10} mmHg. Ils ont tous un proton acide adjacent au groupement sulfonyle et se comportent ainsi comme des acides faibles avec des valeurs de pK a allant de 3 à 5 (**Blair et Martin 1988**).



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

5.4. Activité herbicide et mode d'action des sulfonilurées

5.4.1. Activité herbicide

La structure chimique des sulfonilurées est composée de trois parties distinctes: Groupement aryle, pont et hétérocycle. Chaque partie joue un rôle très important quant à l'action herbicide de la molécule. Une action herbicide considérable est observée quand le cycle aromatique est *ortho* substitué (**Brown, 1990**).

Les sulfonilurées portant en position *ortho* un groupement avec un proton acide, par exemple, groupement carboxylique ou phénolique ont en générale une faible action (**Brown, 1990**).

Revue bibliographique

Les sulfonylurées qui contiennent un groupement aryle au lieu d'un phényle sont aussi des herbicides actives (**Brown 1990**). Concernant l'hétérocycle, les niveaux d'action les plus importants sont observés quand les sulfonylurées contiennent un groupement pyrimidin-2-yl ou 1,3,5-triazine-2-yl. Dans tous les cas, le maximum d'activité herbicide est obtenu quand le groupement hétérocyclique est substitué par des groupements alkyl ou alkoxy (**Brown, 1990**). (**Figure 2**) Les sulfonylurées avec un pont non substitué sont généralement les plus actives. La **Figure 2** décrit la structure des sulfonylurées dont l'action herbicide est la plus importante.

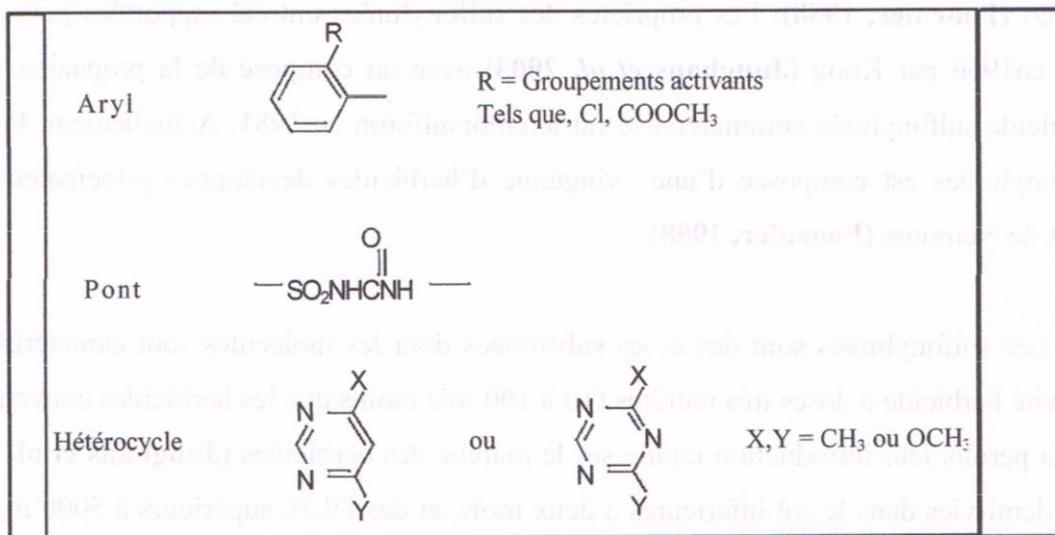


Figure 2: Relation structure-activité

5.4.2. Mode d'action

Après absorption, l'herbicide migre dans les plantes sensibles, où il inhibe l'acétolactate synthétase (A.L.S), enzyme responsable de la biosynthèse d'acides aminés essentiels. L'A.L.S est présente uniquement chez les végétaux, ce qui explique, la forte Phytotoxicité du produit et sa faible toxicité pour le règne animal en général, et l'homme En particulier. L'inhibition de l'enzyme A.L.S. entraîne, très rapidement après application, un blocage de la croissance des plantes sensibles et supprime donc toute compétition vis-à-vis de la culture. Des études ont montré que la transpiration et le métabolisme, chez les adventices, devenaient quasi nuls quelques heures après application de l'herbicide. On observe en effet, dans les jours qui suivent

Revue bibliographique

des symptômes de jaunissement (chlorose) ou de rougissement (anthocyanose); ces symptômes précèdent la disparition des adventices.

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

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

6. Le sulfosulfuron

6.1 Définition

Le Sulfosulfuron découvert en 1995, est un membre de la classe de produits chimiques appelés sulfonyles, il est couramment utilisé dans le contrôle des graminées spécifiques et les dicotylédones de blé. Il est appliqué en poste émergence. L'herbicide sulfosulfuron est actif à de très faibles doses dans l'inhibition de l'une des premières étapes de la biosynthèse des acides aminés dans les plantes.

Le Sulfosulfuron est actuellement développé par Monsanto pour carex et de contrôle du pâturin annuel dans certains gazons chauds et saison froide.

6-2 Mode d'action :

Le mode d'action de cet herbicide systémique peut être décrit comme étant celui dans lequel le système racinaire et /ou la surface de la feuille d'abord absorber la substance chimique où il est ensuite diffusé dans toute la plante. Une fois dans 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 feuilles larges annuelles, les utilisateurs doivent être conscients que cela peut prendre plusieurs semaines pour tuer les mauvaises herbes cible après l'application.

Exemple des herbicides qui contiennent l'ingrédient actif sulfosulfuron :

Revue bibliographique

➤ Herbicide CERTITUDE pour le gazon est destiné pour le contrôle de pâturin dans l'agrostis stolonifère gazon.

➤ herbicide OTRIDER est destinée à lutter contre les graminées annuelles et les mauvaises herbes à feuilles larges dans les zones non cultivées.

Les deux produits peuvent être utilisés en pré-levée et post-levée sur les sites alimentaires et non - alimentaires.

6-3. Propriétés physiques et chimiques

Titulaire : Monsanto Company

Nom commun : Sulfosulfuron

Nom chimique : 1 - (4,6- diméthoxypyrimidin -2-yl) -3 - (2- ethylsulfonylimidazo [1,2-a] pyridine-3- ylsulfonyl)-urée(**tableau1**)

Nom de marque : Herbicide CERTITUDE pour le gazon et Herbicide OTRIDER.

Utilisations: l'herbicide ne peut pas être utilisé sur les cultures vivrières ou fourragères

Parasites contrôlés : contrôle d'un large éventail de mauvaises herbes annuelles.

Type d'inscription :

- Herbicide CERTITUDE pour le gazon - Inscription complète

-Herbicide OTRIDER - homologation conditionnelle

- Herbicide CERTITUDE pour le gazon et herbicide OTRIDER sont des composés blancs, inodore, granulés solubles dans l'eau contenant 75 % sulfosulfuron.

-Moutarde sauvage est une des mauvaises herbes les plus importantes des champs de blé qui ne sont pas contrôlés par tout ce herbicide utilise par la plupart des agriculteurs dans une large gamme (**Zand et al., 2007**). Selon les régions, l'effet de l'herbicide, même sur un type de mauvaises herbes peuvent être différents. Par exemple, Sulfosulfuron contrôle moutarde sauvage à faible dose dans LORESTAN alors forte dose nécessaire pour le contrôle de cette mauvaise herbe dans le KHOUZISTAN (**Zand et al , 2007**) .

Revue bibliographique

Tableau 1 : propriétés physico-chimiques du sulfosulfuron

Nom commun (ISO)	Sulfosulfuron
Nom chimique (IUPAC)	1-(4,6-diméthoxypyrimidin-2-yl)-3-[(2-ethanesulfonyl-imidazo[1,2-a]pyridine) sulfonyl]urea
Point de fusion	201.1-201.7°C
Solubilité dans l'eau (pH 7)	1628.8 mg/l
Pression de vapeur	3,05.10-8 Pa à 20°C
Flamabilité et propriétés d'explosion	Non inflammable, non explosif
pureté minimale	980 g/kg
formule moléculaire	C ₁₆ H ₁₈ N ₆ O ₇ S ₂
masse moléculaire	470.49

7. L'herbicide APYROS (figure 3)

Depuis vingt années les herbicides appartenant au groupe sulfonylurés ont été recommandées pour contrôle des mauvaises herbes dans les céréales d'hiver (**Palm et Allison, 1980; Adamczewskiet al. 1988**) . A la fin du siècle dernier deux nouveaux herbicides de sulfonyluré² : sulfosulfuron(Apyros 75 WG) et Propoxycarbazone– sodium (Attribut 70 WG) ont été introduites dans le marché polonais . Ces herbicides sont caractérisés par une grande efficacité dans le contrôle des mauvaises herbes graminées, comprenant 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 et les mauvaises herbes dicotylédones a été estimée dans de nombreuses expériences de terrain. Aussi de nombreuses enquêtes ont été réalisées sur le contrôle de diverses espèces de mauvaises herbes à l'aide de l'herbicide Attribut 70 WG (**Adamczewskiet al., 2000**) .

Cependant, certain herbicides sulfonylurés se dégradent dans le sol pendant un temps assez long, et peuvent menacer suivant des plantes cultivées.

Selon **Amman et al, (2000)** Attribut 70 WG dégradation rapide dans le sol ne crée pas toute menace à la suite des plantes cultivées.

7.1. UTILISATION

Tableau 2 : Usage et dose appliqué de l'herbicide APYROS

usages homologués	Doses
- Céréales : Herbicide Anti-Brome, lutte contre les autres adventices graminées (Phalaris, folle avoine, chiendent, repousses d'orge, etc...) Et certaines dicotylédones (gaillet, matricaire, moutarde des champs, ravenelle, etc...)	26,5 g/ ha. 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 200 CC /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.



Figure 3 : L'herbicide APYROS

750 gr / kg Sulfosulfuron

CHPPUA N° 99.877.855

Emballage Flacon de 53 Gr

APYROS est un produit : MONSANTO

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

8. Devenir des polluants organiques dans le sol

La contamination du sol par les substances xéno biotiques est devenue un problème sérieux dans le monde, non seulement par la détérioration de la qualité du sol mais aussi par la contamination des ressources en eau par ruissellement ou par lixiviation (**Fdil., 2004**). La manifestation du caractère polluant de composés organiques sont étroitement liée à leur devenir dans les sols (**Barriuso et al, 1996**).

Quand une substance est apportée au sol, elle est répartie entre les trois phases, solide, liquide et gazeuse. Cette répartition détermine la mobilité de la substance et, en conséquence, son transport dans l'air et les eaux, ainsi que sa biodisponibilité (**Calvet, 2000**).

Outre la toxicité propre du polluant, qui dépend de sa concentration et de la nature de La cible considérée, sa rétention par le sol et sa persistance sont les deux facteurs fondamentaux conditionnant le caractère polluant et/ou sa manifestation.

La rétention englobe les processus d'adsorption d'une molécule organique sur le sol lui-même, sur les microorganismes du sol, ainsi que sur les plantes (**Gendrault, 2004**).

La persistance est définie par le temps de résidence d'un composé dans un Compartiment défini. Elle est la résultante d'un ensemble de processus de dissipation, physico-chimique et biologique qui font diminuer la concentration du polluant en fonction de cinétiques caractéristiques du polluant et du milieu (**Fournier et al, 1996**).

La dégradation est un processus essentiel dans la dissipation d'un produit par sa transformation, elle influe sur la persistance et les possibilités de contamination. Ce processus peut entraîner une dégradation totale du produit ou simplement former des produits intermédiaires de dégradation (**Gendrault, 2004**).

8.1. Dégradation abiotique

➤ Hydrolyse

L'hydrolyse d'un composé organique est un processus de transformation dans lequel une molécule d'eau ou un ion hydroxyle réagit pour former une nouvelle liaison carbone-oxygène (**IUCLID, 2002**).

➤ Les réactions de réduction et d'oxydation

Elles sont le plus souvent catalysées par des constituants inorganiques divers, tels que: un sol argileux, les semi-conducteurs ou les cations (**Djebbar, 2002**).

➤ Les réactions de dégradation photochimique

La photolyse ou photodégradation est basée sur l'élimination de microorganismes et/ou la dégradation de molécules organiques par une radiation lumineuse qui peut être un rayonnement solaire et/ou ultraviolet (UV). Pour les polluants organiques, la destruction reste fonction de la molécule, de la radiation et de la durée d'exposition (**Kankou, 2004**).

8.2. Dégradation biologique ou biodégradation

La dégradation biologique est la conséquence de la présence de certains microorganismes (bactéries et champignons essentiellement) dans les sols (**Migrain et al., 1993**). La biodégradation peut donc avoir lieu en présence (aérobiose) ou en absence d'oxygène (anaérobiose). En présence d'oxygène, deux types de biodégradation de composés organiques peuvent avoir lieu : minéralisation ou biotransformation.

La biotransformation est une biodégradation incomplète qui peut transformer un composé en métabolites organiques stables. Ces derniers peuvent être inoffensifs ou parfois plus toxiques que le polluant initial (**Kaufmann, 2004**).

La minéralisation est une biodégradation oxydative complète des molécules organiques en composés inorganiques (eau, dioxyde de carbone, ions minéraux) (**Alexander, 1994**).

La biodégradation est basée sur deux processus: Croissance et Co-métabolisme microbiens. Dans le cas de la croissance, les polluants organiques sont utilisés comme sources de carbone et d'énergie. Ce processus conduit à une dégradation complète (Minéralisation). Le Co-métabolisme est défini comme un métabolisme d'un composé organique en présence d'un substrat de croissance qui est utilisé comme source primaire de carbone et d'énergie.

Les réactions enzymatiques principales de la biodégradation aérobie sont des oxydations catalysées par des oxygénases et des peroxydases. Cependant, en présence d'une molécule d'oxygène, certains composés (benzoates, phénols, hydrocarbonés aromatiques) sont initialement oxydés par une mono ou une dioxygénase et convertis en catéchols ou protocatechuates, par la suite minéralisés (**Laperto, 2006**).

Revue bibliographique

La biodégradation dépend de l'activité microbienne et de la biodisponibilité des polluants. La biodisponibilité se définit comme la propriété d'un élément ou d'une substance d'atteindre les membranes cellulaires des organismes vivants (**Boucheseiche et al, 2002**). Ce paramètre joue un rôle très important dans la nocivité réelle d'un élément. Un changement de la biodisponibilité équivaut à un changement de la toxicité. C'est le statut physique (adsorbé, solubilisé) ou chimique (complexe, ionisé) dans lequel se trouve un polluant et qui conditionne son écotoxicité (**Ramade, 2000**).

Les composés organiques d'origine biologique peuvent être dégradés par les microorganismes lorsque les conditions environnementales le permettent. La situation est différente dans le cas des molécules organiques synthétisées par l'homme et qui sont étrangères à la nature.

Le caractère récalcitrant (non biodégradable) des molécules xénobiotiques est à mettre en relation avec l'existence ou non du ou des microorganismes possédant les enzymes capables d'attaquer cette molécule.

Divers bactéries et champignons sont capables de dégrader à différents degrés, Des xénobiotiques dont certains sont totalement oxydés en CO₂, alors que d'autres ne peuvent être que partiellement dégradés.

Parmi les champignons qui jouent le rôle dans la décomposition de la matière organique et dégradent la cellulose et la lignine des végétaux sont les Mucorales (*Mucor*, *Mortierella*, *Rhizous*) et les deutéromycètes (*Penicillium*, *Aspergillus*, *cladosporium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Botrytis*) (**Maieret al, 2000**).

Parmi les bactéries à Gram négatif hétérotrophes, de très nombreuses espèces peuvent utiliser une grande variété de composés organiques comme source de carbone et d'énergie. Ce groupe d'une grande importance agronomique comprend les genres fixateurs d'azote *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, etc... (**Davet, 1996**).

Parmi les bactéries à Gram positif, les actinomycètes jouent un rôle très important dans la biodégradation des matières organiques (**Tsiko, 2007**).

9. Les actinomycètes : agents de biodégradation dans la nature

9.1. Généralités

Les actinomycètes ont été à l'origine de la découverte de l'actinomycine par Waksman en 1940 à partir d'une culture de *Streptomycesantibioticus* (Waksman&Woodruff, 1940).et de la streptomycine chez *Streptomycesgriseus*(Shartz *et al*,1944).

De point de vue taxonomique, les actinomycètes appartiennent au règne des procaryotes, division des firmicutes (bactéries Gram positif), classe des thallobacteria(bactéries filamenteuses) et à l'ordre des actinomycétales(Murray *et al*,1989).

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes, c'est à dire des filaments qui irradient, par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance. Cela explique leur dénomination le mot «Actinomycètes» provient de deux grecs « Actino » et « Mycete » et signifie «champignons à rayon» ou«champignons rayonnants», expression utilisée pour désigner en anglais (Ray fungi) et aussi en allemand et en russe. Ils présentent un cycle biologique semblable à celui de certains champignons, mais leur structure procaryotique, sans noyau distinct, les a classés parmi les Bactéries.

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux écologiques, ainsi, ils peuvent être dans les sols, les eaux douces ou salines et dans l'air. Toutefois, ils se trouvent abondamment dans le sol que les autres milieux, spécialement dans les sols alcalins et les sols riches en matière organique où ils constituent une part importante de la population microbienne.

Les actinomycètes se trouvent aussi bien à la surface du sol qu'à plus deux mètres de profondeur (Breton *et al*, 1989).a décrit qu'à un mètre de profondeur d'un sol cultivé et à deux mètres de profondeur d'un sol sableux, leur nombre dépasse celui des autres microorganismes.

9.2. Morphologie

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier : se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium). Le second : comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (Lechevalier, 1985).

Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

Revue bibliographique

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

Les différents genres d'actinomycètes peuvent sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores (*Thermoactinomyces*) hautement résistantes à la chaleur et autres adversités. Ces endospores sont semblables à celles des *Bacillus*. D'autres genres d'actinomycètes sporulent en produisant des sporanges qui peuvent contenir des spores mobiles à l'aide de flagelles (*Actinoplanes*) ou des spores immobiles tel que le genre *Streptosporangium* (Kalakoutskii et Agre, 1976).

Les spores peuvent, selon les genres, être produites isolément (*Micromonospora*), deux à deux longitudinalement (*Microbispora*), en courtes chaînes (*Actinomadura*), en longues chaînettes (*Streptomyces*). Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales. De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores. Il existe d'autres structures morphologiques: les sclérotés et les synnema.

9.3. Physiologie et écologie

Physiologiquement et écologiquement, il existe deux groupes d'actinomycètes. En premier lieu, les formes fermentatives, anaérobies strictes ou facultatives, illustrées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligés des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs et ils ne sont jamais retrouvés dans le sol (Mariat et Sebald, 1990).

En second lieu, les formes oxydatives, aérobies, tels que les *Streptomyces* où le sol est leur réservoir principal et à partir duquel elles sont disséminées, en particulier dans l'air. Dans ce dernier, les spores sont considérées comme des contaminants (Reponen *et al.*, 1998). Les *Streptomyces* disséminés dans les eaux douces et salées, s'adaptent en formant des spores résistantes caractérisées soit par une psychophilie, soit par une halophilie ou par une barotolérance (Minceret *et al.*, 2002 ; Zaitlinet *et al.*, 2003).

Certains genres d'actinomycètes ont été isolés à partir des composts, tel que *Thermoactinomyces* (lacey, 1997 ; Song *et al.* 2001).

Revue bibliographique

En général, les actinomycètes sont des chimoorganotrophes utilisant une grande variété de sources d'énergie y compris les polymères complexes. Mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimioautotrophique utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (Mariat et Sebald, 1990). Certains actinomycètes sont capables de se développer à des températures élevées et de produire des enzymes actives dans des conditions acides (Ensignet al, 1993).

Quelques espèces d'actinomycètes sont des symbiotes de plantes (Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985).

Le genre *Frankia* s'intègre aux racines, fixe l'azote et joue un rôle dans la protection des plantes contre les pathogènes (Sardiet al.,1992 ; Thiruplet al.,2001).

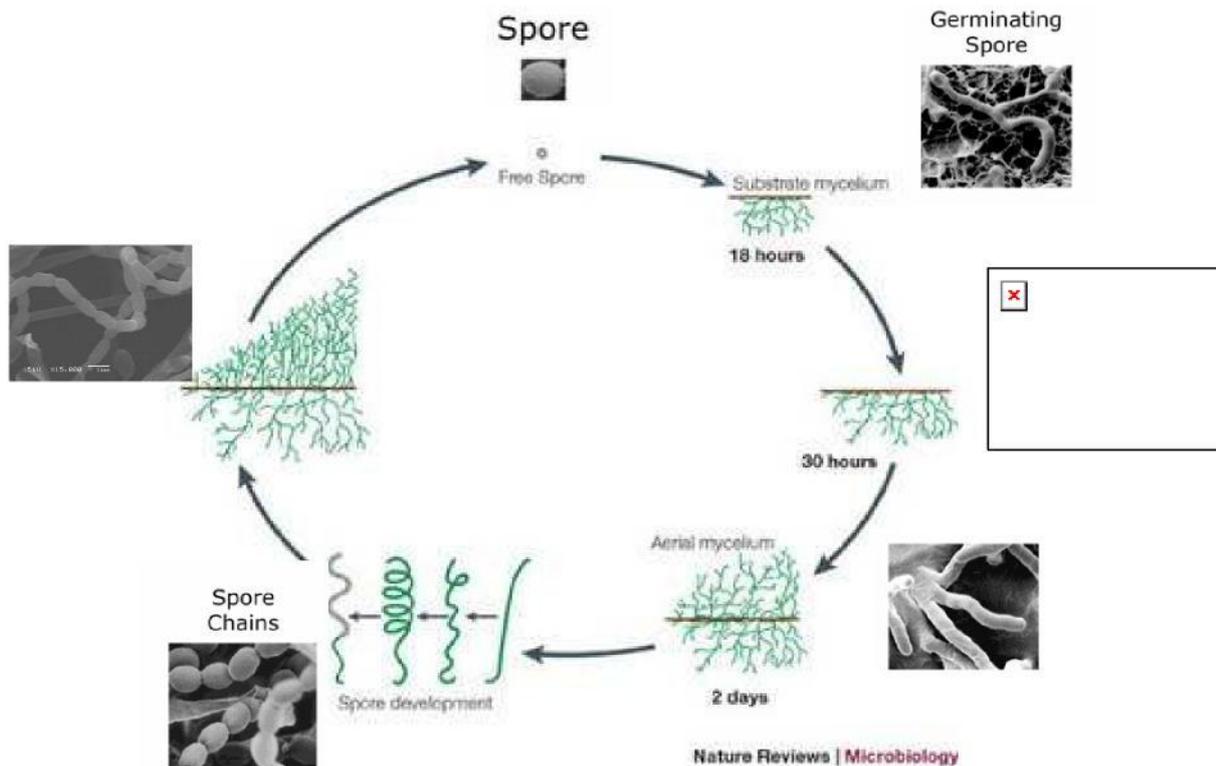


Figure 4 : Cycle de développement des Actinomycètes sur milieu solide (Breton et al, 1989)

9.4. Taxonomie

Selon la classification du "Taxonomic Outline of The Procaryotes, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", seconde édition 2004 (**Garrity et al., 2004**), Le Phylum *Actinobacteria* (bactéries à Gram positif et G +C % élevé) est constitué d'une seule classe dénommée "*Actinobacteria*". Celle-ci est divisé en 5 sous-classes : *Actinomicrobidae*, *Rubrobacteridae*, *Coriobacteridae*, *Sphaerobacteridae* et *Actinobacteridae*.

Chacune de ces sous classes est constituée d'un ou de plusieurs ordres eux-mêmes constitués d'une ou de plusieurs familles. Dans la sous-classe des *Actinobacteridae*, l'ordre des *Actinomycetales* est subdivisé en 10 sous-ordres : *Actinomicinae*, *Micrococcineae*, *Corynebacterineae*, *Micromonosporineae*, *Propionibacterineae*, *Pseudonocardineae*, *Streptomycineae*, *Streptosporangineae*, *Frankineae* et *Glycomycineae*.

9.5. Détermination des genres et des espèces

La définition des genres et des espèces se fonde sur un ensemble de caractères morphologiques et chimiotaxonomiques.

9.5.1. Caractères morphologiques

Les principaux critères morphologiques correspondent à la présence, l'abondance et la disposition des hyphes du mycélium du substrat ou du mycélium aérien. Ainsi que la présence des spores, leur nombre, leur mobilité, leur forme, leur position sur les hyphes, la présence de sclérotés, de sporanges ou de synnémata. (**Figure 5**)

Revue bibliographique

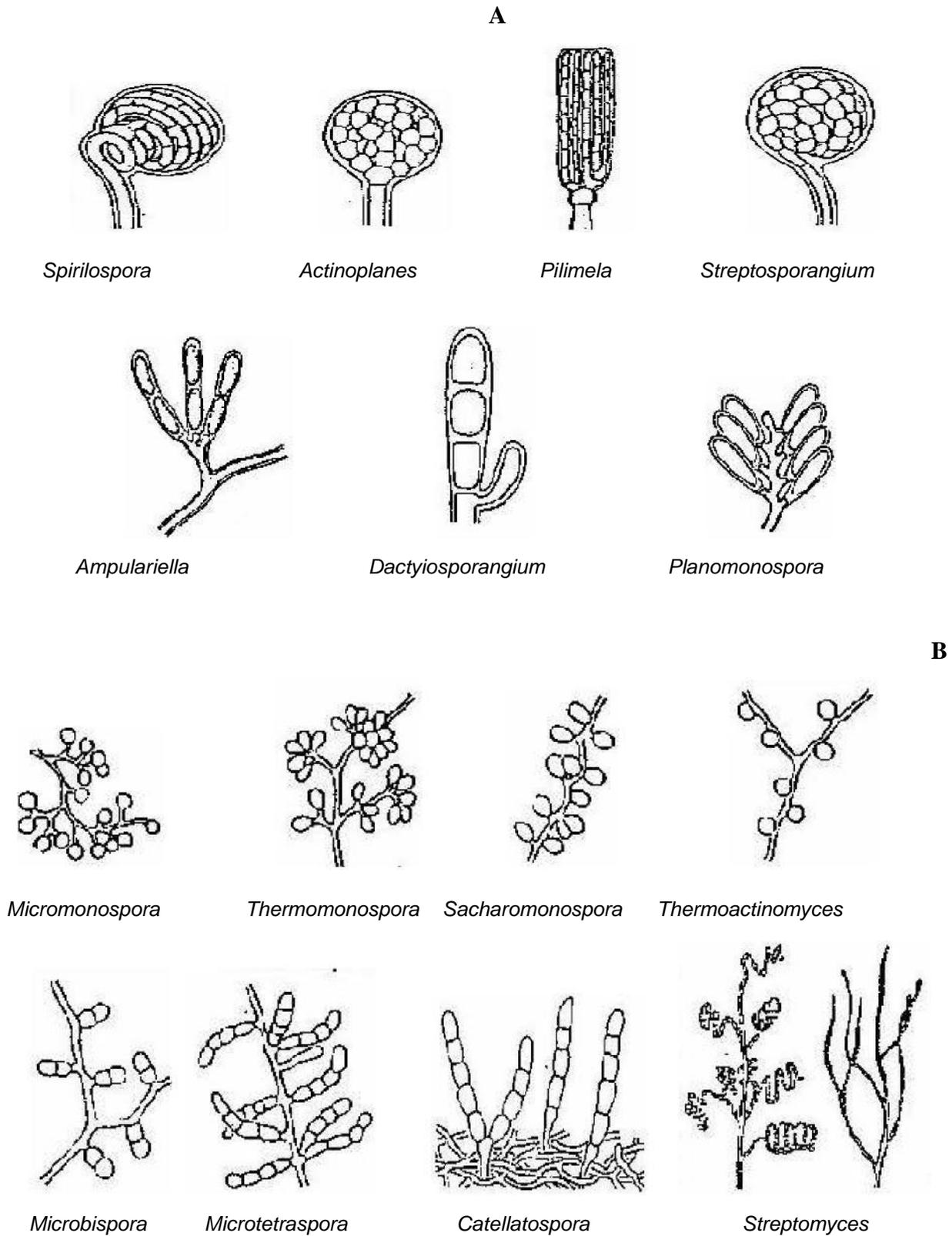


Figure 5: Différents chaînes de spores chez les Actinomycètes ; spores endogènes (A) et spores exogènes (B) (Breton *et al*, 1989).

9.5.2. Caractères chimiotaxonomiques

La composition de la paroi cellulaire en acides aminés, glucides et lipides constituent le principal caractère utilisé en chimiotaxonomie.

➤ Acides aminés de la paroi

Les *Streptomyces* et genre apparentés contiennent la forme LL-DAP (acide 2,6-diaminopimélique) contrairement à l'ensemble des autres *Actinomycétales*. (**Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985 b**).

➤ Glucides

Les glucides de la paroi cellulaire permettent une séparation en quatre groupes majeurs. Le spectre de sucres A (arabinose + galactose) est caractéristique des genres *Nocardia* et *Saccharopolyspora*. Le spectre glucidique B (madurose) est présent chez les genres *Actinomadura* et *Streptosporangium*. Les *Streptomyces* et genre apparentés ne synthétisent aucun glucide en quantité caractéristique (spectre C). Il en est de même pour les genres *Thermomonospora* et les *Thermoactinomyces*. La présence de xylose et d'arabinose (spectre D) est caractéristique des *Actinoplanes* et du genre *Micromonospora*. (**Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985 b**).

➤ Acides gras

Les acides gras les plus communs, chez les actinomycètes appartiennent soit au groupe de molécules comportant de 12 à 20 atomes de carbone, soit au groupe des acides mycoliques à 20-90 atomes de carbone. La présence d'acides mycoliques est caractéristique des genres tels que *Nocardia*, *Mycobacterium* et *Rhodococcus*. (**Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985 b**).

9.5.3. Les acides nucléiques

Les déterminations portent sur le pourcentage de guanine et cytosine, sur le spectre obtenu par électrophorèse des fragments de l'ADN (obtenus par la digestion par les enzymes de restriction), sur le taux d'hybridation ADN - ADN ou ADN - ARN et sur la séquence de l'ARNr 16S. Une différence de plus de 10 % indique que deux souches sont sans relation. Au-delà de 70 % de similitude (l'hybridation ADN-ADN), deux souches sont considérées comme appartenant à la même espèce. Le séquençage de l'ARNr 16S, constitue un outil précieux pour déterminer le degré de relation entre souches, espèces et genres (**Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985 b**).

9.6. Rôle des actinomycètes dans la biodégradation

Revue bibliographique

Les actinomycètes sont des microorganismes saprophytes, qui jouent un rôle important dans la dégradation de la matière organique naturelle et donc un rôle dans le recyclage des biopolymères complexes, comme la cellulose, la lignocellulose, la pectine et le xylane, par la production d'enzymes extra cellulaires, qui sont d'une importance majeure dans l'industrie.

Les capacités de biodégradation des actinomycètes, ne se limitent pas seulement aux composés organiques naturels, mais concerne également des substrats organiques plus difficiles à dégrader, car peu solubles dans l'eau. Il s'agit des pesticides, des hydrocarbures, des phénols et d'autres composés récalcitrants (**Lin et al., 2005**).

Parmi les actinomycètes, le sous-ordre *Corynebacterineae* héberge la majorité de microorganismes dégradant les xénobiotiques.

Les espèces des genres *Gordonia*, *Rhodococcus* et *Mycobacterium* sont les mieux connues pour leur versatilité métabolique et leur capacité de dégrader les xénobiotiques rencontrés au hasard dans l'environnement tel que les hydrocarbures monoaromatique et polyaromatique (**Tsitko I, 2007**).

1. Prélèvement des échantillons

Les échantillons de sol utilisés dans cette étude ont été prélevés de trois sites différents d'un sol agricole situé à la région (d'EL MRIDJE) wilaya de CONSTANTINE. A savoir que le sol a déjà subi un traitement à base de l'herbicide Apyros (sulfosulfuron).

Après avoir écarté les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol, 100-150 g de sol sont recueillis dans un flacon stérile à partir de la couche sous-jacente (rhizoplan : 20 cm de profondeur) et transporté le plus rapidement possible au laboratoire à 4 °C (Pochon et Tardieux, 1962).

2. Mesure de pH du sol

Cette mesure est réalisée dès l'arrivée des prélèvements au laboratoire. La technique consiste à déterminer la valeur du pH d'une suspension de sol en eau distillée (5g de sol pour 12,5 ml d'eau distillée) (Pochon et Tradieux, 1962).

3. Milieux et réactifs

L'herbicide Apyros (sulfosulfuron) a été obtenu à partir des revendeurs des produits phytosanitaires d'El khroub Constantine.

Le milieu amidon caséine (Ravel *et al*, 1998) (annexe) additionné de fungizone (antifongique) à une concentration de 3mg/l et de polymyxine (antibactérien inhibant les bactéries à Gram négatif) à une concentration de 1mg/l, est utilisé pour l'isolement des Actinomycètes résistantes à l'herbicide Apyros (sulfosulfuron) ajouté également au milieu à une concentration correspondante à la dose recommandée (100 mg/l) (Lara *et al*, 2005).

Les solutions d'antibiotiques, ainsi que celle de l'herbicide sont préparées puis stérilisés par filtration sur membrane type millipores (de 0.22 um de porosité) et ajoutés stérilement au milieu amidon caséine en surfusion à 45 °C

4. Méthode d'isolement

4.1. Préparation de la suspension de sol

Pour chaque échantillon, 10g de sol est dilué dans 90ml d'eau physiologique stérile, puis agité pendant 1heure de temps, cette suspension constitue la dilution 10-1.

4.2. Préparation des dilutions décimales

Une série de dilutions décimales (jusqu'à 10^{-5}) est effectuée pour chaque échantillon. Le milieu amidon caséine est ensemencé en masse à raison de 1ml par dilution par boîte de Pétri (**Lara *et al.*, 2005**). Les boîtes sont incubées à 28°C et observées quotidiennement pendant une durée de 4 semaines.

5. Prélèvement des colonies d'actinomycètes

Dans un premier temps, les colonies d'actinomycètes sont repérées d'après leur aspect acroscopique caractéristique (colonies dures incrustées dans la gélose), puis par leur aspect microscopique (colonies circulaires constituées d'hyphes) par observation directe sous microscope optique, grossissement x 10.

Toutes les colonies répondant aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques des actinomycètes sont repiquées sur milieu amidon caséine et incubées à 28 °C pendant 7 à 21 jours.

La pureté des souches est contrôlée par observation microscopique directe (grossissement x10) (**ouhdouch *et al.*, 2001**).

6. Coloration de Gram

Elle est réalisée selon la méthode classique. Des frottis de colonies répondant aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques des actinomycètes sont préparés, colorés puis observés sous microscope optique (grossissement x100). Les colonies Gram positif sont toutes repiquées sur le milieu amidon caséine.

7. Conservation des souches

7.1. Gélose inclinée

Les souches sont ensemencées sur milieu ISP 2 en gélose inclinée, après incubation à 28°C pendant 21 jours, les cultures sont conservées à 4°C, un repiquage est réalisé tous les deux mois.

7.2. Congélation des cultures sporulées

Les souches sont ensemencées sur milieu gélosé, puis incubées jusqu'à sporulation, une suspension de spores est préparée par raclage de la surface de la culture puis conservée par congélation à - 20°C en présence du glycérol (cryoprotecteur) à 20% (**Isiket *al.*, 1999**).

8. Préparation des inoculums

8.1. Inoculum général

L'inoculum général est préparé selon le protocole de **Shirling et Gottlieb, (1966)**. Pour les souches qui n'ont pas encore produit de spores, des fragments de mycélium de substrat sont transférés dans un tube contenant d'eau distillée stérile ; ensuite, ces fragments sont écrasés stérilement à l'aide d'une tige en verre. Si les spores sont formées, une suspension sporale très trouble est préparée en raclant la surface de la colonie. Les suspensions d'inoculum sont préparées à chaque essai.

Cet inoculum sert à ensemercer, tous les milieux utilisés, à l'exception du milieu ISP9, Pour lequel, on utilise l'inoculum lavé.

8.2. Inoculum lavé

Un Erlenmeyer de 250 ml contenant 50 ml de milieu ISP1 (**Annexe**) est inoculé par 1 ml d'inoculum général, puis incubé pendant 72 heures à 30 °C avec agitation (180 tours/min). La culture est centrifugée stérilement pendant 10 minutes à 10 000 g. Le surnageant est écarté et le culot est lavé deux fois à l'eau distillée stérile puis retenu dans 50 ml d'eau distillée stérile. Cette suspension constitue l'inoculum lavé (**Shirling et Gottlieb, 1966**).

9. Etude de la tolérance des actinomycètes isolés à l'herbicide APYROS (sulfosulfuron)

Tous les isolats d'actinomycètes purifiés sont testés pour leur capacité à croître en présence de l'herbicides APYROS (sulfosulfuron) à forte concentration par deux méthodes :

- **1ère Méthode**

Dans cette méthode, les souches isolées sont ensemençées sur milieu Amidon caséine gélosé supplémenté par l'herbicide APYROS à une concentration dix fois plus grande que la dose recommandée (1g/l), les boites sont incubées à 30 ° C pendant 7 jours.

La croissance des souches actinomycètes est estimée, par comparaison avec celle obtenue sur milieu amidon caséine sans herbicide, et enregistrée en tant que nulle (-), faible (+), modérée (++) et abondante (+++) (**Zaki et al, 2012**).

- **2^{ème} méthode (technique des puits)**

Les souches d'actinomycètes sont préalablement ensemencées en surface sur le milieu Amidon Caséine, Pour chaque boîte, quatre puits de 5 mm de diamètre sont réalisés, puis remplis par 300 ul de l'herbicide Apyros en solution, à raison de 1g/l, après 5-7 jours d'incubation à 30°C, la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition au tour du puit est noté(**Benimeli et al.,2003**).

10. Etude de la capacité des souches actinomycètes isolées de croître sur l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie

Les souches d'actinomycètes qui tolèrent l'herbicide APYROS, sont testées pour leurs capacités à utiliser ce dernier comme seule source de carbone et d'énergie. Cette étude est réalisée sur le milieu ISP9 (**Annexe**), contenant l'Apyros (100mg/l) comme seule source de carbone et d'énergie, la lecture est effectuée après 7 jours d'incubation à 30°C. L'utilisation de l'APYROS est appréciée en comparant les cultures avec la croissance obtenu sur le milieu ISP9 additionné de glucose servant de contrôle positif et avec le milieu ISP9 sans source de carbone servant de contrôle négatif (**Pridham et Gottlieb., 1948**).

11. Identification Présomptive des souches actives

11-1-Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique des différentes souches actives est déterminé sur les milieux de L'International *Streptomyces Project*: ISP2, ISP4 et ISP5 recommandés par **Shirling et Gottlieb, (1966) (Annexe)**.

Les milieux sont stérilisés et répartis en boîtes de Pétri 24 heures avant leur utilisation, afin de contrôler leur stérilité, ils sont ensuite ensemencés en stries à partir d'une à deux gouttes de l'inoculum.

L'aspect macroscopique (couleur, forme, etc.) des colonies est observé après 21 jours d'incubation à 30°C (**Shirling et Gottlieb, 1966 ; Mochevaet al., 2002 ; Oskayet al., 2004**).

11-2-Détermination des pigments mélanoides

La mise en évidence des pigments mélanoides produits par les souches actives est réalisée sur le milieu ISP7 (Annexe1) en gélose inclinée. Un tube non ensemencé sert de témoin. L'observation de la couleur brune noir caractéristique des pigments mélanoides se fait au 2ème et au 4ème jusqu'au 7ème jour, en comparant les tubes ensemencés avec le témoin (**Shirling et Gottlieb, 1966 ; Mocheva et al.,2002**).

11-3- Aspect microscopique

L'observation de la morphologie des chaînes de spores, du mycélium aérien et du mycélium du substrat est effectué selon deux techniques :

11-3-1-Technique de culture sur lame

Les souches actives sont ensemencées, à raison d'une goutte de l'inoculum sur une portion rectangulaire d'Agar de 1cm x 1cm x 2mm d'un milieu solide ISP4, Ce rectangle est déposé sur une lame puis recouvert avec une lamelle. La culture sous forme de sandwich est incubée à 30°C pendant 21 jours. L'observation se fait au microscope optique (G x 100) (**Zaitlin et al, 2003**).

11-3-2-Technique de culture sur lamelle

Cette technique a été décrite par **Williams et Cross, (1971)** et **Liu et al.,(2005)**. Une partie d'une colonie isolée est broyée stérilement avec une tige en verre, puis introduite dans 3 à 4 gouttes d'eau distillée et déposée sur une lamelle fermement fixée au milieu ISP2 (**annexe**) et faisant un angle de 45°. Les boîtes sont ensuite incubées à 30°C. Après 7, 14 et 21 jours d'incubation les lamelles sont retirées puis déposées sur une lame et observées sous microscope (x100).

1. Caractéristiques des échantillons du sol

On constate pour les 3 échantillons du sol prélevés, une couleur marron foncé présence de petits arbustes, avec un pH neutre (7.35).

2. Isolement sélective des actinomycètes

L'isolement des souches d'actinomycètes réalisé à partir de trois échantillons du même sol, sur le milieu sélectif Amidon-Caséine, additionnés d'antibiotiques a conduit à la purification de **16** colonies bactériennes différentes par leurs forme et aspect et se rapprochant de ceux des actinomycètes.(**Tableau 3**)

L'observation microscopique a révélé que les 16 colonies, sont à Gram positif. Les 16 souches d'actinomycètes cultivées séparément présentent différents aspects macroscopiques sur le milieu Amidon caséine, mais sont toutes denses et incrustées dans la gélose.

Tableau 3 : Nombre de colonies d'actinomycètes isolées pour chaque échantillon.

Echantillon	Nombre de colonie
Echantillons1	6
Echantillons2	6
Echantillons3	4

3. Caractéristiques morphologiques des souches

Les souches d'actinomycètes isolées ont un aspect morphologique très caractéristique, les colonies apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, avec un mycélium aérien et végétatif, certains d'entre eux présentent seulement un mycélium de substrat. Les souches se développent à 30°C sur milieu amidon caséine agar. Les colonies de taille moyenne, poudreuses, régulières ou non, aplaties ou bombées, avec une odeur terreuse caractéristique des actinomycètes à croissance lente.

4. Tolérance des souches d'actinomycètes à l'herbicide Apyros à forte Concentration

- **Première méthode**

Parmi les 16 isolats, 6 souches (B11, B18, B24, A137, A139, A214) (**Figure 6**) présentent une croissance bonne ou modérée sur le milieu Amidon caséine plus l'Apyros à

RESULTATS ET DISCUSSION

une concentration de 1g /l,tandis que les autres souches(B17,B58, A58, A92, A110, A91, A115, A114, A208 et A104) présentent un développement faible ou nul (B17, A58 B58, A92) (**Tableau 4**)

- **Deuxième méthode (technique des puits)**

Parmi les 16 isolats, la croissance de 13 souches (B11, B17, B18, B58, A58, A92, A110, A91, A115, A114, A214, A208 et A104) est inhibée, l'inhibition est faible pour les souches B11, B18 et A214 et forte pour les autres souches. Les souches B24, A139 et A137 ne sont pas inhiber (**Tableau 4**)



A

B

Figure 6 : Tolérance de la souche B11 à l'apyros (1g/l)

A : Croissance sur Apyros, B : témoin sans Apyros



Figure 7 : Inhibition de la croissance de la souche A214 par l'Apyros (1g/l)

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 4 : Tolérance des 16 isolats à l'herbicide Apyros

Souches d'actinomycètes	Croissance en présence de 1g/l Apyros	Zone d'inhibition
B11	++	P
B17	-	P*
B18	++	P
B24	+++	A
B58	-	P*
A139	+++	A
A58	-	P*
A214	+++	P
A92	-	P*
A110	+-	P*
A91	+-	P*
A115	+-	P*
A114	+-	P*
A208	+-	P*
A137	++	A
A104	+-	P*

+++ :Bonne croissance, ++:croissance modérée,+_- : croissance faible , - : pas de croissance

5. Capacité des souches d'actinomycètes de croître sur l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie

Parmi les souches tolérantes, deux souches seulement (B11 et B24) présentent une bonne croissance sur le milieu ISP9 contenant l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie alors que les autres souches (B18, A137 et A139) présentent une faible croissance (Tableau 5)

Tableau 5 : capacité des souches tolérantes de croître sur l'herbicide APYROS comme seule source de carbone et d'énergie

	B11	B18	B24	A137	A139
Croissance sur milieu ISP9 + Apyros (SCE)	++	+	+++	+	+

+++ : Bonne croissance, ++ : croissance modérée, + : croissance faible, SCE : source de carbone et d'énergie

6. Identification présumptive des souches actives

6.1- Aspect macroscopique

Les souches actives (B11 et B24) capables d'utiliser l'Apyros comme seule source de carbone et d'énergie, développent des colonies après cinq jours d'incubation.

La croissance des deux souches débute par la formation d'un mycélium très ramifié et pâteux, c'est le mycélium de substrat et conservent cet aspect même après maturation. (Tableau 6)

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 6 : Aspect macroscopique des souches Actinomycétales actives.

Souches	Milieu de culture	Aspect de la colonie	Couleur du mycélium aérien	Couleur du mycélium du substrat
B11	ISP2	Granuleux	Crème	Beige
	ISP4	Granuleux	Beige	Beige
	ISP5	Pateux	Blanc	Beige
	G-A	Poudreux	Blanc	Beige
B24	ISP2	Pateux	-	Crème
	ISP4	Pateux	-	Brun
	ISP5	Pateux	-	Brun
	G-A	Pateux	-	Brun

6.2. Détermination des pigments mélanoides

Les pigments mélanoides sont produits par la souche B11 (**Tableau 7**)

Tableau 7 : Détermination des pigments mélanoides produits par les souches actives.

Souche d'actinomycète	B11	B24
Pigment mélanoides	+	-

6.3. Aspect microscopique (Tableau 8)

D'après l'aspect microscopique, les souches B11 et B24 forment un mycélium de substrat non fragmenté, qui porte des spores disposé singulièrement pour la souche B24. Le mycélium aérien est absent pour la souche B24 et porte des sacs de spores (sporange) chez la souche B11.

Tableau 8 : Aspect microscopique des souches actives

Souches	Mycélium de substrat	Mycélium aérien
B11	Non fragmenté	Sac de spores
B24	Sporulé, non fragmenté	Pas de mycélium aérien



Figure 8: Aspect microscopique de la souche B11 (Présence de sporange sur le mycélium aérien)

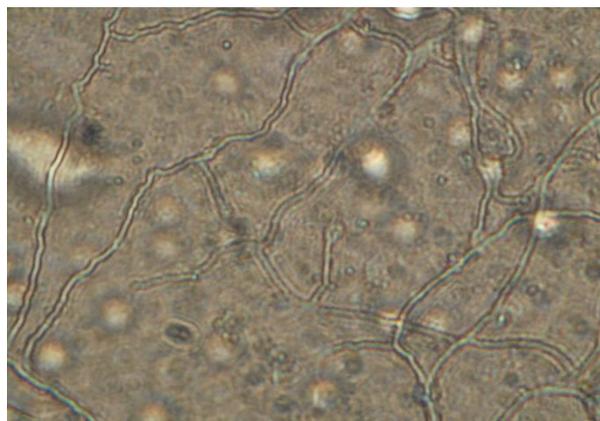


Figure 9 : Aspect microscopique de la souche B24 (spores singulier sur la mycélium de substrat)

Discussion

L'isolement sélectif des actinomycètes à partir de leur habitat, pose problème. En effet trop de substrats favorisent les champignons et les bactéries à croissance rapide et empêchent de ce fait un isolement facile des actinomycètes, qui ont un temps de génération relativement long (**William et al, 1982 ; Crawford et al ; 1993**). La présence dans le milieu d'isolement, de la chitine, de l'amidon, du glycérol, de l'arginine de l'asparagine, de la caséine et des nitrates conduit à un isolement sélectif des actinomycètes, alors que les bactéries et les champignons poussent faiblement (**William et Davies, 1965**).

Pour cela, le milieu Amidon caséine a été utilisé dans cette étude, il contient des substrats sélectifs pour la croissance des actinomycètes (l'amidon et la caséine) et il est utilisé dans de nombreux travaux d'isolement d'actinomycètes à partir des écosystèmes variés

Suzuki, (2001) a utilisé ce milieu pour l'isolement des actinomycètes appartenant aux genres rares comme *Actinomonospora*.

Benimeli et al, (2003) Ont utilisé ce milieu pour l'isolement des actinomycètes à partir des eaux usées, contaminées par les pesticides organochlorés. Ce milieu a été également utilisé par **Lara et al, (2005)** pour l'isolement des actinomycètes résistantes à l'herbicide Alachlor additionné au milieu Amidon caséine à des concentrations ascendantes.

Pour empêcher l'envahissement des champignons et des bactéries Gram négatif, deux antibiotiques sont ajoutés au milieu amidon-caséine le fungizone (antifongique) et la polymyxine (antibactérien inhibant la croissance des bactéries à Gram négatif).

Les avis concernant l'utilisation des antibiotiques sont cependant controversés. Selon **Porter et al. (1960)** la plupart des antibactériens utilisés inhibent beaucoup d'actinomycètes. En revanche, **Dulaney et al.,(1955), Williams et Davies, (1965)**, recommandent l'utilisation d'un mélange d'antifongiques et d'antibactériens pour l'isolement des actinomycètes.

Une mixture de fungizone (3mg/l) et de polymyxine (1mg/l), ajoutés au milieu sélective à permis d'éliminer en grande quantité les contaminants et de sélectionner les actinomycètes, malgré la croissance de petite colonies de champignons. Le problème le plus délicat concerne

Résultats et discussion

les bactéries Gram positif, que nous ne pouvons pas éliminer et qui gênent la croissance des actinomycètes par envahissement des géloses, c'est le cas des plages de Bacillus.

Sur le milieu sélectif, amidon caséine, **16** souches répondant aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques des actinomycètes ont été isolées. Ce nombre est relativement réduit par rapport au nombre d'essais pratiqués au laboratoire (**3** isolement pour chaque échantillon de sol). Cela peut être dû, d'un côté à l'envahissement de petites colonies de champignons et de plages de Bacillus, qui rend l'isolement difficile et d'un autre côté à la période pluvieuse du prélèvement des échantillons de sol. En effet **Jiang et Xu, (1996)** ont démontré que les actinomycètes sont généralement plus abondants durant les saisons sèches que les saisons pluvieuses. D'autre part l'ajout de l'herbicide Apyros (100mg/l) au milieu d'isolement, empêche la croissance de tous les actinomycètes et ne permet que la croissance des actinomycètes résistants à l'égard de cet herbicide.

En premier temps, les **16** isolats sont testés pour leur capacité de tolérer l'herbicide Apyros à une dose **10** fois plus grande que la dose recommandée (1g/l). Ceci est réalisé par deux méthodes.

La première méthode, repose sur l'appréciation de la croissance développée ou non, sur le milieu amidon caséine, en présence de l'herbicide Apyros à forte concentration (10 fois la dose recommandée), en la comparant avec celle obtenue sur le même milieu sans Apyros.

Ainsi, si les souches présentent une croissance bonne ou modérée, sont considérées comme tolérantes vis-à-vis à l'herbicide Apyros, qui est le cas des souches (B11, B18, B24, A139, A214 et A137). Dans le cas contraire, les souches présentent une croissance faible (B17, B58, A58, A92, A110, A91, A115, A114, A208 et A104), qui est un indice de toxicité de cet herbicide vis-à-vis de ces souches.

Cette méthode a été utilisée par **Zaki et al.,(2012)**, pour l'étude de la tolérance de 100 souches d'actinomycètes isolés de différents Rhizosphères contaminés par deux herbicides (Basta (glufosinate) et Sencor (metribuzine)), ils ont trouvé que 70 parmi les 100 isolats peuvent pousser sur la dose recommandée de Sencor (0.75/l), alors que 24 seulement présentent une bonne croissance sur le même herbicide 10 fois plus concentré que la dose

Résultats et discussion

recommandée. Pour l'herbicide Basta, 38 parmi les 100 isolats poussent sur la dose recommandée et 18 seulement présentent une croissance modérée sur 20g/l de cet herbicide.

La même méthode a été utilisée par **Lara *et al.*, (2005)** pour tester la tolérance de 53 actinomycètes isolées d'un sol contaminé par l'herbicide Alachlor, ils ont trouvé que 16 sur 53 souches, croissent sur l'Alachlor à des fortes concentrations (720mg/l), ces dernières souches sont sélectionnées pour des tests de dégradation du même herbicide.

La deuxième méthode, repose sur le même principe que celui utilisé pour tester l'activité inhibitrice d'un antibiotique vis-à-vis des bactéries (technique de diffusion sur gélose ou technique des puits), ainsi la présence d'une zone d'inhibition au tour du puits indique sa sensibilité vis-à-vis à l'Apyros, qui est le cas des souches (B11, B17, B18, B58, A58, A92, A110, A91, A115, A114, A214, A208 et A104), l'inhibition est faible pour les souches B11, B18 et A214 et forte pour les autres souches.

Dans le cas de l'absence de cette zone, qui est le cas des souches (B24, A139 et A137), les souches sont considérées comme tolérantes.

Cette méthode a été utilisée par **Benimeli *et al.*, (2003)** pour tester la tolérance de 53 souches d'actinomycètes isolées des eaux usées vis-à-vis des organochlorés, les diamètres des zones d'inhibitions sont considérés comme un indicateur du degré de sensibilité de ces souches envers les herbicides testés.

Une méthode similaire (technique des disques) a été utilisée par **Ravel *et al.*, (1998)** pour tester la tolérance de deux souches d'actinomycètes isolées des sédiments contaminés par les métaux lourds vis-à-vis de mercure chloridrique.

En comparant les deux méthodes, on trouve que la deuxième méthode est plus précise, c'est une méthode semi-quantitative : les diamètres des zones d'inhibitions sont considérés comme un indicateur du degré de sensibilité des souches envers les herbicides testés (plus que le diamètre est petit la tolérance est forte et vis-versa).

Résultats et discussion

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

Pour cela, les souches d'actinomycètes tolérantes sont sous-mises à un deuxième test, elles sont ensemencées sur le milieu ISP9 contenant l'herbicide Apyros comme seule source de carbone et d'énergie, la dégradation ou non de l'Apyros est appréciée en comparant la croissance avec celle obtenue sur le milieu ISP9 additionné de glucose servant de contrôle positif et celle obtenue sur le même milieu sans source de carbone servant de contrôle négatif.

Ainsi et d'après les résultats obtenus, seules les souches (B11 et B24) ayant une bonne croissance sont capables d'utiliser l'Apyros (sulfosulfuron) comme seule source de carbone et d'énergie.

Cette méthode a été utilisée par **Zaki et al., (2012)** pour tester in vitro la capacité des souches tolérantes à l'herbicide Sencor, à l'utiliser comme seule source de carbone et d'énergie (la source de carbone dans le milieu de culture est remplacée par cet herbicide), ils ont rapporté que sur 70 souches tolérantes de fortes concentrations de cet herbicide, aucune ne l'utilise comme source de carbone et d'énergie, qui n'est pas le cas dans notre recherche.

L'étude des caractéristiques morphologiques, macroscopiques et microscopiques des souches d'actinomycètes est largement utilisée pour caractériser les genres des actinomycètes.

Par exemple, la présence ou l'absence des spores sur le mycélium de substrat ou la formation de sporanges, permettent de différencier plusieurs genres. Ainsi, la morphologie, la coloration des colonies, la présence ou l'absence d'hyphes aériens fournissent une indication sur le genre (**Saubolle et Sussland, 2003**).

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

Résultats et discussion

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

Les souches actives B11 et B24 capables d'utiliser l'Apyros comme seule source de carbone et d'énergie, développent des colonies après cinq jours d'incubation.

La croissance des deux souches débute par la formation d'un mycélium très ramifié et pâteux, c'est le mycélium de substrat et conservent cet aspect même après maturation. D'après l'aspect microscopique, les souches B11 et B24 forment un mycélium de substrat non fragmenté,

La masse du mycélium aérien diffère d'un milieu à un autre pour la souche B11. Il semble que la composition du milieu est impliquée dans le développement d'hyphes aériens.

La souche B24 est dépourvue du mycélium aérien et porte sur le mycélium de substrat des spores arrondies séparés singulièrement (sous forme de spore unique), ce caractère permet de rapprocher cette souche au genre *Micromonospora*.

La souche B11 possède un mycélium aérien qui porte des sacs de spores, ce qui permet de la rapprocher au genre *Streptosporangium*, en plus cette souche produit un pigment, dont la couleur diffère d'un milieu à un autre. En effet, les pigments sont élaborés pendant la maturation du mycélium aérien. **Thompson et al. (2002)** ont rapporté que les actinomycètes sont dotés d'un programme de morphogénèse de la colonie, coordonné avec l'excrétion des molécules bioactives. Ces dernières sont le plus souvent des antibiotiques pigmentés. Leur élaboration est une réponse à un déséquilibre du métabolisme ou à l'arrêt de la croissance. Les pigments rouges et/ou rouges brun produits par les souches d'actinomycètes isolées, peuvent être des substances bioactives, et ceci d'après **Margalith, (1992)** qui rapporte que les actinomycètes produisent des métabolites bioactifs pigmentés. Ils peuvent être des phénazines (rouge brun), les phénazines sont des pigments rouges bruns secrétés par *Nocardia*, *Micromonospora*, *Streptomyces*, *Streptoverticillium* et *Streptosporangium*.

Le genre *Micromonospora* est reconnu par sa capacité de dégradation d'un large spectre de polluants organiques tel que benzène, le toluène et le naphthalène (**Evgenia and Victoria., 2004**).

Pour le genre *Streptosporangium*, aucune information n'a été trouvée concernant son rôle dans la dégradation des polluants organiques, ce qui prouve l'originalité de notre travail.

Conclusion

Notre travail est basé sur deux objectifs principaux, **le premier** est l'isolement de souches d'actinomycètes à partir du sol agricole traité par l'herbicide Apyros (sulfosulfuron) et tester leur capacité de le tolérer et le dégrader. **Le second objectif** est la caractérisation des souches actives.

De ce fait, 3 échantillons de sol agricole (de région d'el mridje- constantine) traités par l'herbicides (apyros) ont été prélevées. Le milieu d'isolement utilisé dans cette recherche est l'Amidon-Caséine additionné d'Apyros à la dose recommandée, ainsi 16 souches d'actinomycète sont été isolées et purifiées. La tolérance des souches vis à vis à l'apyros à forte concentration (1g /l) a été déterminé, seule 6 souches présentent une bonne tolérance à cet herbicide.

La mise en évidence de la biodégradation d'apyros par les souches tolérantes est effectuée sur le milieu de base ISP9 contenant l'apyros comme seule source de carbone et d'énergie, Ainsi, deux souches seulement présentent une bonne croissance sur ce milieu ,et sont donc capables de dégrader l'Apyros.

L'étude des caractéristiques morphologique(macroscopique et microscopique) a permis de rapprocher les deux souches actives aux genres *Micromonospora* et *Streptosporangium*.

Perspectives

- Confirmer l'indentification des genres notamment par la chimiotaxonomie et la biologie moléculaire et pousser l'indentification des souches étudiés jusqu'au niveau d'espèce.
- Etude de la cinétique et des voies de biodégradation de l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron).
- Identification de résidus et métabolites de biodégradation de cet herbicide.
- L'utilisation des souches actives en biotechnologie (dépollution biologique des sols contaminés par l'Apyros).

Références bibliographiques

Aghighi, S., Shahidi, G.H., Rawashdeh, R., Batayneh, S. and Saadoun, I., (2004). First report of antifungal spectra of activity of Iranian Actinomycetes strains against *Alternariasolani*, *Alternaria alternate*, *Fusariumsolani*, *Phytophthoramegasperma*, *Verticilliumdahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*. Asian Journal of Plant Sciences, **3**: 463–71.

Alexander, M.,(1994). Biodegradation and Bioremediation. Academic Press, New York (USA).

Amatrop C. G.,(2000). Les herbicides. agroecologie.cirad.fr /2007/docs/1015714804.pp1

Baize D.,(1997). Guide pour la description des sols. Techniques et pratiques. Paris. INRA ,p. 375.

Baize D., Jabiol B.,(1996). Guide pour la description des sols. Techniques et pratiques. Paris. INRA.p. 375.

Balagurunathan R., Xu L. and Jiang C., (1996). Diversity of Actinomycetes from south India and south China. Actinomycetes. **4(3), 89-94.**

Barriuso E., Calvet R., Schiavon M & Soulas G., (1996). Les pesticides et les polluants organiques des sols. Transformation et dissipation. Forum le sol, un patrimoine menacé. Paris (France), **279-292.**

Benimeli C.S. Amoroso M., Chaile A.P., Catro G.R.,(2003). Isolation of four aquatic streptomycetes strains capable of growth on organochlorine pesticides. Biores Technol, **89 :133-138.**

Benson, D.R. and Silvester, W.B., (1993). Biology of Frankia strains, actinomycetes symbionts of actinorhizal plants. Microbiology Review. **57: 293–319**

Beyer E. C., Goodenough D. A., Paul D. L.,(1988). The connexins: a family of related gap junction proteins. In: Gap junctions, ed. E.L. Hertzberg and R.G. Johnson, New York : Alan R. Liss, **167 – 175.**

Boiron P., Provost P. and Dupont B., (1993). Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de l'anocardiose. Institut Pasteur, Paris. **107-126.**

Références bibliographiques

Boroumand.F., Moser J.E., Van der Bergh H.,(1992).Quantitative Diffuse Reflectance and Transmittance Infrared Spectroscopy of Nondiluted Powders*Applied Spectroscopy*, **46(12):1874–1886.**

Boucheseiche C., Cremille E., Pelte T. &Pojer K., (2002). Pollution toxique et écotoxicologique notions de base. Guide technique N°7. Agence de l'Eau Rhône Méditerranée et Corse, Montpellier(France).

Breton A., Theilleux J., Sanglier J.J., Viobis G.Larpent J.P. et Sanglier J.J., Masson., (1989) Organismes producteurs: biologie, taxonomie et écologie. In “Biotechnologie des Antibiotiques”. Paris, **33-70.**

Brillas, E., Sirès, I., Oturan, M.A., 2009. Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. *Chem. Rev.*, **109**, 6570-6631.

Brown A.E., Hamilton J.T.G. (1990) Indole-3-ethanol produced by *Zygorrhynchusmoelleri*, and indole-3-acetic acid analogue with antifungal activity. *Mycol. Res.* **96: 71–74.**

Calvet R., (2000). Le sol propriétés et fonctions, constitution et structure, phénomènes aux interfaces. Tome 1. Edition France Agricole. Paris (France), **83-90.**

Cambier Ph. &Sterckeman T.,(1996). Les éléments traces métalliques et la qualité des sols : impact à moyen et à long terme. Forum « le sol un patrimoine menacé ?». Paris France), **297-303.**

Cunnif P., (1995).Official methods of analysis of AOAC International. 16th Edition. Arlington, VA: AOAC international.

Carriere C., Marchandin H., Andrieu J.M., Vandome A. and Perez C., (1999).*Nocardia thyroiditis*: Unusual location of infection. *J. Clin. Microbiol.* **37 (7), 2323-2325.**

Carelotti A., Boiron P., Provost P. et Villard J., (1994).*Nocardia*et bactéries apparentées. In :Manuel de Bactériologie clinique. Eds: J. Freney F. Renauld W. Hansen et C. Bollet. 2ème éd.2 :**811-831.**

Références bibliographiques

Chafik .N.,(2002). Contribution à l'étude du comportement de l'herbicide triflusal dans le sol et dans les milieux aquatiques : étude de la photodégradation en milieux aqueux. Préparation et étude de nouvelles formulations à libération contrôlée. Thèse (docteur de l'université HASSAN II Maroc). Chapitre 2, pp.10-31.

terme. Forum « le sol un patrimoine menacé ? ». Paris France), 297-303.

Chassin P., Baize D., Cambier Ph. & Sterckeman T., 1996. Les éléments traces métalliques et la qualité des sols : impact à moyen et à long

Cho S., Devries J.W. and Prosky L. (1997). Dietary Fiber Analysis and Applications. Gaithersburg, MD: AOAC International.

Ciani A., Goss K.-U., Schwarzenbach R. P. Light.,(2005).penetration in soil and particulate minerals *European Journal of Soil Science*, **56(5): 561 – 574.**

Coleman, J., M. Blake-Kalff and E. Davies., (1997).Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vacuolar compartmentation. *Trends in Plant Science*.**2: 144-151.**

Collins, C. H., P. M. Lyne et J. M. Granje.,(1995). Morphological Methods. 7thEdn., Butterworth and Heinemann Publishers, London, pp. **129-131.**

Coulibaly. H.,(2005). Le SCV (Semis direct sous Couverture Végétale), un élément stratégique de gestion durable des terres agricoles : une expérience française comme base de réflexion pour le Mali. Mémoire (DEPA. France). Chapitre 2, pp.**13-20.**

Crawford, D. L. J. M. Lynch, J. M. Whipps, M. A. Ousley.,(1993). Isolation of actinomycetes antagonists of a fungal root pathogen. *App. Environ. Microbiol.* **59: 3899-3905.**

Crosnier J.,(1999). Devenir de la pollution métallique drainée par les eaux pluviales, influence du compartiment microbien et des alternances de dessiccation/réhumectation sur le transfert du zinc dans la zone non saturée du sol. Thèse de Doctorat. Université de Claude Bernard–Lyon I(France).

Davet, P.,(1996). Vie microbienne du sol et production végétal. INRA. (ed.), Paris.

Références bibliographiques

Delmas G. C., (2000). Influence des conditions physico-chimiques sur la mobilité du plomb et du zinc dans un sol et un sédiment en domaine routier. *Thèse de doctorat à l'Université de Pau et des pays de l'Adour U.F.R Sciences*, p.192.

Di Corcia A, Marchetti M., (1992). Method Development for Monitoring Pesticides in Environmental Waters: Liquid-Solid Extraction Followed by Liquid chromatography. *Environ*, pp. 66-74.

Djebbar K. E.,(2002). Transformation directe et indirecte de deux herbicides le 2,4-D et le Diuron en solution aqueuse. Doctorat d'état en chimie. Université Mentouri, Constantine (Algérie).

Dulaney E.L., Larsen H.A. and Stapley E.O., (1955).A note on the isolation of microorganisms from natural sources. *Mycol*, pp.47-420.

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

El-Bakouri H.,(2002). Etude de l'adsorption de l'endosulfan sur certaines matrices végétales. *Rapport de stage de recherche à l'université Abdelmalek Essaâdi de Tanger, Réf : UFR/02-01.*

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

Fenske R.A, Kedan G, Lu C, Fisker-Andersen J.A, Curl C.L.,(2002). Assessment of organophosphorus pesticide exposures in the diets of preschool children in Washington State. *J. Exposure Analysis Environ. Epidemiol*, pp.21-28.

Eshighi Malayri B.,(1995).Décontamination des sols contenant des métaux lourds à l'aide de plantes et de microorganismes. Thèse de Doctorat. Université de Nancy1 (France).

Fdil F.,(2004)Etude de la biodégradation des herbicides chlorophenoxyalcanoïques par des procédés photochimiques et électrochimiques, applications environnementales. Thèse de Doctorat Université de Marne-La-Vallée (France). Chapitre 1, pp.8-25.

Références bibliographiques

Feigenbrugel V., Le Calvé S., Mirabel P.,(2004).Temperature dependence of Henry's law constants of metolachlor and diazinon.*Chemosphere*,**57** : 319–327.

Fiss E. and Brooks G. F., (1991).Use of a siderophore detection Medium, ethylene glycol degradation, and B-Galactosidase activity in the early presumptive differentiation of *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, and rapidly growing *Mycobacterium* species.*J. Clin. Microbiol.***29** (7): 1533 -1535.

Foley S., Rotureau P., Pin S., Baldacchino G., Renault J.P., Mialocq J.C.,(2004).Radiolysis of confined water: Production and reactivity of hydroxyl radicals*Angewandte Chemie International Edition*,**44**(1): 110-112.

Fournier J., (1988). Chimie des pesticides. Cultures et Techniques. Agence de Coopération Culturelle et Technique ; *Université d'Angers*,p.350 .

Fournier J. C., Soula G. & Parekh N.,(1996). Main microbial mechanisms of pesticides degradation in soil.In : soil Ecotoxicology, Chapitre 4, CRC Press, Lewis Publishers (USA).

Garrity G.M., Bell J.A. and Lilburn T.G., (2004).Taxonomic Outline of the Procaryotes, Bergey's Manual of Systemetic Bacteriology, Second Edition .Release 5.0, Springer-Verlag, New York. <http://dx.doi.org/10.1007/bergeysoutline200310>.

Gendrault S.,(2004). Etude d'un traitement combiné bio-physico-chimique pour la décontamination des eaux polluées en atrazine. Thèse de Doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon (France).

Gordon R. E and Smith M.M., (1954).Proposed group of characters for the separation of *Streptomyces* and *Nocardia*. *J. Bacteriol.* **69**: 147-15

Haag W.R., Hoigne J., Gassman E., Braun A.M.,(1984).Singlet oxygen in surface waters- Part I: Furfuryl alcohol as a trapping agent *Chemosphere*,**13**(5-6): 631-640.

Halladja S., Ter Halle A., Aguer J.P., Boulkamh. A., Richard C.,(2007). Inhibition of humic substances mediated photooxygenation of furfuryl alcohol by 2,4,6-trimethylphenol. Evidence for reactivity of the phenol with humic triplet excited states *Environmental Science and Technology*,**41**(17): 6066-6073.

Références bibliographiques

Hamid L. E., Maldonado L., Eldin G.S.S., Mohamed M.F., Saeed, N.G. and Goodfellow M. (2001). *Nocardia africana* sp. Nov. a new pathogen isolated from patient with pulmonary infections. *J. Clin. Microbiol.* **39** :625-630.

International Uniform Chemical Information Database (IUCLID), (2002). 2,4-Dichlorophenol sodium salt, data set. The Dow Chemical Company.

Isik K., Chun J., Hah Y.C. and Goodfellow M., (1999). *Nocardia Salmocida*: a fish pathogen. *Inter. J. Syst. Bacteriol.* **49** : 833-837.

Jeannot, R., Lemièrre B., Chiron S. Augustin F. & Darmendrail D., (2000). Guide méthodologique pour l'analyse des sols pollués. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. France.

Jiang, C. et L. Xu., (1996). Diversity of Aquatic Actinomycetes in Lakes of the Middle Plateau, Yunnan, China. *Appl. Environ. Microbiol.* **62(1)**: 249-253.

Junghans M., Backhaus T., Faust M., Scholze M., Grimme L. H., (2003). Toxicity of Sulfonylurea Herbicides to the Green Alga *Scenedesmus vacuolatus*: Predictability of Combination Effects. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **71**:585–593.

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

Kankou Mohamed Ould Sid Ahmed., (2004). Vulnérabilité des eaux et des sols de la rive droite du fleuve Sénégal en Mautitanie-Etude en laboratoire du comportement de deux pesticides. Thèse Doctorat. Université de Limoges (France).

Kaufmann k., (2004). Assessment of microbial community changes and limiting factors during bioremediation of hydrocarbon-polluted soil with new miniaturized physiological methods. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne (France).

Kubelka P., (1948). New contributions to the optics of intensity light-scattering materials. Part I *Journal of the Optical Society America*, **48** : 448–487+errata on page 1067.

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

Références bibliographiques

Lara D.S, Valéria M and Gilson P.(2005).Isolation and characterization ofalachlor-degrading actinomycetes from soil,**87: 81-89.**

Laperto M. (2006). A strategy for xenobiotic removal using photocatalytic treatment, microbial degradation or integrated photocatalytic-biological process.Ecole polytechnique fédérale de Lausanne (France).

Larpent J.-P. et Larpent-Gourgaud M., (1985a). Eléments de Microbiologie. Hermann.Paris, p.**264.**

Larpent J.-P. et Larpent-Gourgaud M., (1985 b). Manuel pratique de microbiologie. Hermann. Paris, pp.**157-162.**

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

Lechevalier H.A., Lechevalier M.P.,(1965) Classification des actinomycètes aérobies basée sur leur morphologie et leur composition chimique. Ann. Inst. Pasteur, **108: 662-673.**

Liu Z., Shi Y., Zhang Y., Zhou Z., Lu Z., Li W., HuangY., Rodríguez C. and Goodfellow M., (2005).Classification of *Streptomyces griseus*(Krainsky 1914) Waksman and Henrici 1948 and related species and the transfer of ‘*Microstreptosporacinerea*’ to the genus *Streptomyces* as *Streptomyces yaniisp. nov.* Int. J. Syst. Evol. Microbiol,**55: 1605-1610.**

Lin T.C., Young C.C and Ho M.J., (2005).Characterisation of floating activity of indigenous diesel-assimilating bacterial isolates.*J.Biosci.Bioengin*,**99: 466-472**

Lo, C.W., Lai, N.S., Cheah, H.Y, Wong, N.K.I. and Ho, C.C., (2002).Actinomycetes isolated from soil samples from Crcker Range, Sabah. *ASEAN Review on Biodiversity and Environmental Conservation* July–September.

Louit G., Foley S., Cabillic J., Coffigny H., Taran F., Valleix A., Renault J. P., Pin S.(2005).The reaction of coumarin with the OH radical revisited: hydroxylation product

Références bibliographiques

analysis determined by fluorescence and chromatography .*Radiation Physics and Chemistry*, **72(2-3): 119-124.**

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

Maier, R. M., I. L. Pepper et C. P. Gerba.,(2000). Environmental microbiology. Microorganisms in surface soils. In. Academic press. A Harcourt science and technology company. Canada, pp.79-82.

Margalith P. Z., (1992). Pigment microbiology. Shapman & Hall. London, pp.5-114.

Mariat F. et Sebald M., (1990). Actinomycètes In: Bactériologie Médicale. Le Minor L. et Véron M. (Eds), 2ème édition, Flammarion. Paris, pp.935-949.

Martinelli I., (1999). Infiltration des eaux de ruissellement pluvial et transfert de polluants associés dans le sol urbain – vers une approche globale et pluridisciplinaire. Thèse de l'Institut national des Sciences appliquées de Lyon, version 1 - 12 Sep 2012

Mason, M., Ball, A., Reeder, B.J., Silkstone, G., Nichollis, P. and Wilson, M.T., (2001). Extracellular Heme Peroxidases in Actinomycetes: A case of mistaken identity. *Applied and Environmental Microbiology*, **67: 4512–9.**

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

Mishra S.K., Gordon R.E. and Barnett D.A., (1980). Identification of *Nocardia* and *Streptomyces* of medical importance. *J. Clin. Microbiol.*, **11 (6): 728-736.**

Migrain I., Green G. A. & Monteil H.,(1993). Degradation of atrazine in laboratory microcosms: isolation and identification of the biodegrading bacteria. *Environmental Toxicological and Chemistry*, **12: 1627-1637.**

Mincer T.J., Jensen P.R., Kauffman C.A. and Fenical W. ,(2002). Widespread and persistent population of a major new marine actinomycetes taxon in ocean sediments. *Appl. Env. Microbiol.* **68 (10) : 5005-5011.**

Références bibliographiques

Mohammad M., Kishimoto T., Itoh K., Suyama K., Yamamoto H.,(2005). Comparative Sensitivity of *Pseudokirchneriella subcapitata* vs. *Lemna* sp. to Eight Sulfonylurea Herbicides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **75**: 866–872.

Moncheva, P., Toshkov, S., Dimitrova, N., Chipeva, V., Antonova-Nikolova, S. and Bogatzevska, N., (2002). Characteristics of soil Actinomycetes from Antarctica. *Journal of Culture Collections*, **3**: 3–14.

Murray R.G.E., Brenner D.J., Holt J.G., Krieg N.R., Mulder J.W., Pfenning N., Sneath P.H., Stoley J.T., Williams S.T., (1989) In ‘Bergey's Manual of Systematic Bacteriology’. Williams et Wilkins Eds. **4**: 2333-2648.

Newton G.L., Milligan J.R.,(2006). Fluorescence detection of hydroxyl radicals *Radiation Physics and Chemistry*, **75(4)**: 473-478.

Nodwell J.R. and Losick R. (1998). Purification of an extracellular signaling molecule involved in production of aerial mycelium by *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol*, **180 (5)**: 1334-1337.

Oskay M., Tamer A. U. and Azeri C., (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes.

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

Pelletier .F.,(1992). Impact de différentes pratiques culturales sur la persistance de l'herbicide atrazine et sur la biomasse microbienne du sol. Mémoire INRS-Eau (Québec). Chapitre 1(**6-18**) et chapitre 2, pp. **30-36**.

Periquet A., (1989). Toxicologie des résidus de pesticides Toxicologie et sécurité des aliments. *Technique et documentation, Paris*, pp. **251-299**.

Perry J.J., Staley J.T. and Lory S., (2004). Microbiologie. Dunod, Paris, pp. **497-498**.

Pochon, J. et Tardieux, P.,(1962). Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Saint Mandé: Edition de la tour tourelle.

Références bibliographiques

Porter J.N., Wilhem J.J., Tresner H.D., (1960). Méthod for the preferential isolation of actinomycètes from soil. *Appl. Microbiol.* **8** : 107-114.

Pridham T.G., Gottlieb D., (1948). The utilization of carbon compounds by some actinomycetales as an aid for species determination. *J. Bacteriol.* **56** : 107-114.

Ramade R., (2000). Dictionnaire encyclopédique des pollutions. Ediscience international. Paris France), pp.58-365.

Ravel J., Amoroso M.J., Colwell R.R. and Hill R.T., (1998). Mercury –resistant actinomycetes from Chesapeake Bay. *FEMS. Microbiol. Lett.* **162**: 177-184.

Reponen T. A., Gazonko S. V., Grinshpun S. A., Willeke K. And Cole E. C. ,(1998). Characteristics of Airborne Actinomycete Spores. *Appl. Environ. Microbiol.* **64** (10), 3807-3812.

Sardi P., Saracchi M., Petrolini B., Borgonovi G.E. and Merli S., (1992). Isolation of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized roots. *Appl. Env. Microbiol.* **58** (8): 2691-2693.

Saubolle M. A. and Sussland D., (2003). Nocardiosis: Review of Clinical and Laboratory Experience. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 4497–4501.

Shartz A., Bugie E., Waksman S.A., (1944) Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **55**, 66-69.

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

Šikovec M., Novič M., Hudnik V., Franko M., (1995). On-line thermal lens spectrometric detection of Cr(III) and Cr(VI) after separation by ion chromatography *Journal of Chromatography A*, **706**(1-2):121-126.

Silva E., Sa-Correia I. and Fialho A.M., (2009). Biological cleaning of environments contaminated with the herbicide atrazine. *Boletim de Biotecnologia*, **82**:13-27.

Références bibliographiques

Singh B.K., Kuhad R.C., (1999). Biodegradation of lindane (hexachlorocyclohexane) by the white-rot fungus *Trametes hirsutus*. *Lett. Appl. Microbiol.*, **28** : 238-241.

Song J. Weon H. Y., Yoon S. H., Parrk D. S., Go S. G. and Suh J. W., (2001). Phylogenetic diversity of thermophilic actinomycetes and *Thermoactinomyces* isolated from mushroom composts in Korea based on 16S rRNA gene sequence analysis. *FEMS Microbiol. Lett.* **202**:97-102.

Sonya H. Mohamed¹, A. Rahal¹; Zaki M.M.²; E.A.Saleh² and A.S. Sadik², (2012). BIODEGRADATION OF SENCOR HERBICIDE BY SOME TREPOTOMYCETES IN LIQUID CULTURE , **9 (2)**.

Stackebrandt E. Rainey F.A. and Ward-Rainey N.L., (1997). Proposal for a new hierarchical classification system, *Actinobacteria* classis nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **47**: 479-491.

Sun, Y, Pignatello, J.J., (1993). Photochemical reactions involved in the total mineralization of 2,4-D by Fe³⁺/H₂O₂ / UV. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 304-310
Brillas, E., Sirès, I., Oturan, M.A., 2009. Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. *Chem. Rev.*, **109**: 6570-6631.

Suzuki S.I, Okuda T. and Komatsubara S., (1999). Selective isolation and distribution of *Sporichthya* strains in soil. *Appl. Env. Microbiol.* **65 (5)**: 1930-1935.

Suzuki S, (2001). Establishment and use of gellan gum media for selective isolation and survey of specific rare Actinomycetes. *Actinomy.* **15(2)**: 55-60.

Tahara M., Kubota R., Nakazawa H., Tokunaga H., Nishimura T., (2005). Use of cholinesterase activity as an indicator for the effects of combinations of organophosphorus pesticides in water from environmental sources. *Water Research*, **39**: 5112–5118.

Tanaka, Y. and Omura, S., (1993). Agroactive compounds of microbial origin. *Annuals Review of Microbiology*, **47**: 57–87.

Thirup L., Johsen K. and Winding A. (2001). Succession of indigenous *Pseudomonas* spp. and *Actinomycetes* on barley roots affected by the antagonistic strain *Pseudomonas fluorescens* DR54 and the fungicide imazalil. *Appl. Env. Microbiol.* **67 (3)**: 1147-1153.

Références bibliographiques

Thompson C. J., Fink D., and Nguyen L. D., (2002). Principles of microbiolalchemy:insights from the *Streptomyces coelicolor* genome sequence. *Gen. Biol.* **3 (7): 10201-10204.**

TomlinC.D.S., (1994). The Pesticide Manual, incorporating TheAgrochemicals Handbook, 10* édition. BritishCrop Protection Council, Farnham, Royaume-Uni.

Tsiko I., (2007). Characterisation of actinobacteria degradrading and tolerating organic polluants. Division of microbioloie department of applied chemistry and microbiologie. Faculty of agriculture and forestry. University of Helsinki.

Uz I., Duan Y.P. and Ogram A., (2000).Characterization of the naphthalene- degrading bacterium, *Rhodococcusopacus*M213. *FEMS.Microbiol.Lett.***185:231-115**

Wacksman S.A., Woodruff H.B., (1940). The soil as a source of microorganisms antagonistics to disease producing bacteria. In “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology”. Williams & Wilkins Eds,**4: 2333-2648.**

Weller, D.M., (1988). Biological control of soilborne pathogens in the rhizosphere with bacteria.*Annuals Review of Phytopathology.* **26: 379–407.**

Williams S.T. and Cross T., (1971). Methods in microbiology.Academic press, Londre.**4: 295-334.**

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

Williams S.T. and Wellington E.M.H.,(1982).Principales and problems of selective isolation ofmicrobes. In: Bioactive microbial products: Search and discovery. Academic Press, London, pp.**9-26.**

Yeo H.-G.,*, Choi M., Chun M.-Y., Sunwoo Y.,(2003).Concentration distribution of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides and their relationship with temperature in rural air of Korea.*Atmospheric Environment*,**37 : 3831–3839.**

Références bibliographiques

Zaki M.M., Saleh E.A., Rahal A. and Mohamed Sonya H., (2012). Streptomyces species able to utilize some herbicides as nitrogen and carbon sources. *Pakistan Journal of Biotechnology*, **9(2):57-70**.

Zaitlin B., Watson S.B., Ridal J., Satchwill T. and Parkinson D., (2003). Actinomycetes in lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. Peer-reviewed, *J. AWWA*, **95(2): 113-118**.

Zhang H. B., Luo Y. M., Zhao Q. G., Wong M. H., Zhang G. L., (2006). Residues of organochlorine pesticides in Hong Kong soils. *Chemosphere*, **63 : 633–641**.

Zhou R., Zhu L., Yang K., Chen Y., (2006). Distribution of organochlorine pesticides in surface water and sediments from Qiantang River, East China. *Journal of Hazardous Materials*, **137 : 68–75**.

Zhu Y., Liu H., Xi Z., Cheng H., Xu X., (2005). Organochlorine pesticides (DDTs and HCHs) in soils from the outskirts of Beijing, China. *Chemosphere*, **60: 770–778**.

Annexes

Annexe1

Milieux de culture

Amidon-Caséine

Amidon soluble 10 g

Caséine 1 g

K₂HPO₄ 0,5 g

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

PH = 7-7,5

ISP1

Tryptone 5g

Extrait de levure 3g

Eau distillé 1000ml

PH=7-7,1

ISP 2

Extrait de levure 4 g

Extrait de malt 10 g

Glucose 4 g

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

PH = 7,3

ISP 4

Amidon soluble 10 g

K₂HPO₄ 1 g

MgSO₄ 7H₂O 1 g

NaCl 1 g

(NH₄)₂SO₄ 2 g

CaCO₃ 2 g

Solution d'oligo-éléments 1 ml (**Annexe2**)

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

pH = 7,0-7,4

ISP 5

Glycérol 10 g

L-Asparagine 1 g

Solution d'oligo-éléments 1 ml (**Annexe2**)

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

pH = 7,0-7,4

ISP 7

Glycérol 15 g

L-Tyrosine 0,5 g

L-Asparagine 1 g

K₂HPO₄ 0,5 g

MgSO₄ 7H₂O 0,8 g

NaCl 0,5 g

FeSO₄ 7H₂O 0,01 g

Solution d'oligo-éléments 1 ml (**Annexe2**)

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

pH = 7,2-7,4

ISP9

(NH₄)₂SO₄ 2,64 g

KH ₂ PO ₄	2,38 g
K ₂ HPO ₄	3H ₂ O 5,65 g
MgSO ₄	2H ₂ O 1 g
Solution saline	1 ml
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g
pH = 6,8	

Glucose-Asparagine

Glucose	10g
L-Asparagine	0,5g
K ₂ HPO ₄	0,5g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml
pH = 6,8	

Annexe2

SOLUTIONS ET COLORANTS

Violet de Gentiane

Violet de Gentiane	1g
Ethanol	10ml
Phenol	2g
Eau distillée	100ml

Solution d'oligo-éléments

FeSO ₄ 7H ₂ O	0,1 g
MnCl ₂ 4H ₂ O	0,1 g
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,1 g

Eau distillée 100 ml

Solution saline

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,64 g

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,11 g

$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,79 g

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,15 g

Eau distillée 100 ml

Résumé

Résumé :

Notre travail consiste à isoler des souches d'actinomycètes capables de dégrader l'herbicide Apyros (Sulfosulfuron). Ainsi, 16 souches d'actinomycètes ont été isolées à partir de sol agricole traité par cet herbicide.

Après purification sur le milieu Amidon -Caséine, la tolérance des 16 isolats à forte concentration d'Apyros (10 fois la dose recommandée) et la capacité à dégrader et utiliser ce dernier comme seule source de carbone et énergie ont été déterminés, les résultats ont montré que sur l'ensemble des 16 isolats, 6 tolèrent de forte concentration de l'herbicide Apyros. Parmi les souches tolérantes, 2 sont capables d'utiliser cet herbicide comme unique source de carbone et énergie.

L'étude des caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) a permis de rapprocher les deux souches actives aux genres *Micromonospora* et *Streptosporangium*.

Mots clés : actinomycètes, herbicide, Apyros, Sulfosulfuron, tolérance, biodégradation,

Abstrat

Abstrat

Our job is to isolate strains of actinomycetes capable of degrading the herbicide Apyros (Sulfosulfuron). Thus, 16 strains of actinomycetes were isolated from agricultural soil treated with the herbicide.

After purification on starch-casein medium, the tolerance of 16 isolates with high concentrations of Apyros (10 times the recommended dose) and the ability to degrade and use it as a sole source of carbon and energy have been determined, the results as shown on all 16 isolates, six tolerate high concentrations of herbicide Apyros. Among tolerant strains, capable of 2sont utilisercet herbicide as a sole source of carbon and energy.

The study of morphological (macroscopic and microscopic) helped bring the two active strains of the genera *Micromonospora* and *Streptosporangium*.

Keywords: actinomycetes, herbicide, Apyros, Sulfosulfuron, tolerance, biodegradation

لغرض عزل سلالات من الاكتينوسات قادرة على تحليل الابيروس مبيد الأعشاب عزلت 16 سلالة من هذه البكتيريا من تربة زراعية معالجة بهذا السماد. بعد التنقية لهذه السلالات على وسط نشاء الكازيين ودراسة قدرة نموها على تركيز عالي من الابيروس عشر مرات من التركيز المطلوب وكذلك قدرتها على استعمال هذا السماد كمصدر وحيد للطاقة والكاربون .
أجريت الدراسات المرفولوجية لهذه السلالات الأكثر نشاطا والتي سمحت بتصنيفها

Micromonospora, Streptosporangium

الكلمات الدالة: سماد، ابيروس، سولفوسلفور، المقاومة، تحليل.