



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Microbiologie Générale et Biologie moléculaire des Microorganismes*

Intitulé :

**Isolement des actinomycètes à partir d'un sol Saharien et
d'une Sebka de la région d'El-Oued et mise en évidence de
leur capacité à dégrader quelques pesticides**

Présenté et soutenu par : BELFERKH Asma

Le : 30/06/2016

MEGOURA Meriem

Jury d'évaluation :

Président du jury : HAMIDECHI A. (Professeur - UFM Constantine).

Rapporteur : BOUDEMAGH A. (Professeur - UFM Constantine).

Examineurs : KITOUNI M. (Professeur – UFM Constantine).

*Année universitaire
2015 - 2016*

Remerciements

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

Nous remercierons notre encadreur *Mr. BOUDEMAGH A. Professeur à l'UFM Constantine* pour le privilège et la confiance qu'il nous a accordés durant le stage pratique, pour son aide, le temps qu'il nous a consacré et pour ses précieux conseils.

Nous souhaitons exprimer nos remerciements à *Mr. HAMIDECHI M.A. Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine* d'avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions également *Mr. KITOUNI M. Professeur à l'UFM Constantine* qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Nous exprimons nos vifs remerciements à *Mr. ALI KHODJA H. Professeur à l'UFM Constantine* et responsable du laboratoire de la Pollution et Traitement des Eaux -Chaab arassas- de nous avoir accueillis et permis de réaliser notre stage pratique au niveau du laboratoire.

Nous tenons à remercier tous les doctorants du Laboratoire Pollution et Traitement des Eaux notamment : *Mme. Bencharif F.* qui nous a chaleureusement accueillies et aussi pour ses encouragements durant la période de notre stage.

Nous remercions aussi *Yasser*, responsable du Laboratoire de Zoologie qui nous a accueillis et a fournis tout le nécessaire pour la réalisation de notre travail au sein du laboratoire.

Aussi nous remercions nos deux doctorantes *S. Soumeya et L. Karima* qui nous ont accompagnés durant ce dernier mois, pour l'ambiance amicale qu'elles ont su créer, pour leur aide et leurs encouragements.

Sans oublier, *Melle ARABET Dallel Maitre-Assistant B à l'UFM Constantine*, pour son soutien, ses encouragements et ses précieux conseils durant nos deux années de Master «le mot merci n'est pas suffisant pour exprimer notre gratitude envers vous».

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

Dédicace

Nous dédions ce mémoire à :

Nos chers parents, que nulle dédicace ne peut exprimer nos sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragements, leur soutien, en témoignage de notre profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

Nos très chers frères : Oussama, Youcef et Yacine.

Nos petites sœurs : Sara et Amina

Nos tantes et oncles

Nos adorables cousines : Hidya et Ratiba

Notre perle "Dallel" qui est à la fois notre sœur, amie, confidente, et aussi notre professeur, notre guide. Merci d'avoir toujours été là pour nous, merci trésor.

Nos amis : Bouthaina, Mahamadi, Akram, Yahia et Youssouf qui sans leurs encouragements ce travail n'aurais jamais vu le jour.

A toute la famille Belferkeh et la famille cherifi

A toute la famille Megoura et la famille Tebibel

A tous ceux et celles qui nous aiment et que nous aimons.

Asma et Meriem

Résumé

A partir de deux échantillons sol et de sebkha de la région d'El-Oued, 66 souches d'actinomycètes sont isolées sur le milieu amidon-caséine agar additionné d'antifongique. Un prétraitement des échantillons par séchage à l'air libre pendant 21 jours et par addition au milieu de l'NaCl ont été effectués afin de favoriser l'isolement des actinomycètes. Un lot de 20 souches a été sélectionné pour tester l'aptitude de ces bactéries à dégrader six pesticides très employés dans l'agriculture Algérienne. Dont quatre herbicides : le Glyphosate, le Monuron, l'Akopic 240 EC, Lancelot 450WG ; et deux fongicides : le Duoplus et l'Hexonate. Les résultats montrent que le Glyphosate est le pesticides le plus dégradé par ces bactéries, tandis que le Duoplus est le moins biodégradable. Deux isolats d'actinomycètes E1 A10 et E1 A11 sont les seuls qui ont montrés une aptitude à dégrader les 6 pesticides. Ces deux actinomycètes peuvent être utilisés dans la bioremediation des sols pollués par ces pesticides.

Mots clés : Actinomycètes, Pesticides, biodégradation, herbicide, fongicide, bioremediation.

Abstract

From two samples of soil and Sebka of the El-Oued region, 66 actinomycetes strains are isolated on starch-caseine agar medium supplemented with antifungal. A sample pretreatment by drying in the air for 21 days and by addition to the medium of NaCl were performed in order to favor the isolation of actinomycetes. A set of 20 strains was selected to test the ability of these bacteria to degrade the very six pesticides employed in Algerian agriculture. In which four herbicides: Glyphosate, the Monuron, the Akopic 240 EC and the Lancelot 450 WG; and two Fungicides: the DuoPlus and the Hexonate. The results show that glyphosate is the most degradable pesticides by these bacteria, while the least biodegradable is DuoPlus. Two of the isolated actinomycetes E1 A10 and E1 A11 are the only ones who have shown an ability to degrade the 6 pesticides. Both actinomycetes can be used in bioremediation of polluted soils by these pesticides.

Keys words: Actinomycetes, Pesticides, Degradation, Herbicides, Fungicides, Bioremediation.

انطلاقا من عينتين من التربة وسبخة من منطقة الواد، 66 سلالة من Actinomycète عزلت على الوسط-amidon caséine agar أضفنا له مضادا فطريا. تمت معالجة العينتين بالتجفيف لمدة 21 يوم، ومع زيادة NaCl الى الوسط لتعزيز نمو Actinomycète 20 سلالة ثم انتقاوها لاختبار قدرتها على هدم ستة من المبيدات الحشرية المستعملة في الزراعة الجزائرية. حيث أربعة منها مبيدات أعشاب: Lancelot 450WG Glyphosate, Monuron -L'Akopic 240 EC و اثنين منها مضادات فطرية: Duoplus –Hexonate. النتائج المحصل عليها أوضحت أن مضاد الأعشاب Glyphosate هو الأكثر هدمًا من طرف هاته البكتيريا بينما Duoplus هو الأقل هدمًا. اثنين من Actinomycète المعزولة E1 A10 و E1 A11 هما الوحيدتين اللتان أظهرتا قدرة على هدم الستة مبيدات المستعملة. كل من هاتين السلالتين يمكن استخدامهما في المعالجة البيولوجية للتربة الملوثة بهذه المبيدات.

الكلمات المفتاحية: Actinomycète، المبيدات الحشرية، مضادات فطرية، مبيدات أعشاب، هدم، المعالجة البيولوجية.

Table des matières

Introduction	1
Revue bibliographique	
1. La pollution.....	3
1.1. Définition.....	3
1.2. Types de pollution.....	3
1.2.1. Pollution atmosphérique (pollution de l'air).....	3
1.2.2. Pollution de l'eau.....	3
1.2.3. Pollution du sol.....	3
1.3. Origines de la pollution.....	4
1.3.1. Pollution domestique.....	4
1.3.2. Pollution industrielle.....	4
1.3.3. Pollution naturelle.....	4
1.3.4. Pollution agricole.....	4
1.4. Principaux polluants agricoles.....	5
1.4.1. Les fertilisants.....	5
1.4.2. Les pesticides.....	5
2. Les pesticides.....	5
2.1. Définition.....	5
2.2. Composition et Formulation des pesticides.....	5
2.2.1. Composition des pesticides.....	5
2.2.2. Formulation des pesticides.....	6
2.3 . Classification des pesticides.....	7
2.4. Marché des pesticides.....	7
2.5. Comportement des pesticides dans l'environnement.....	9
2.6. Impacts des pesticides.....	9
2.6.1. Impacts des pesticides sur l'environnement.....	9
2.6.2. Impacts des pesticides sur la santé humaine.....	10
2.6.3. Impacts des pesticides sur la faune sauvage.....	10
2.6.4. Impacts des pesticides sur la faune aquatique.....	10
2.7. Dégradation des pesticides.....	10
2.7.1. Dégradation abiotique.....	10
2.7.2. Dégradation biotique.....	11

2.8. Les microorganismes impliqués dans la biodégradation.....	11
3. Les actinomycètes en tant qu'agents de biodégradation.....	12
3.1.Historique.....	12
3.2.Généralités sur les actinomycètes.....	13
3.3.Morphologie des actinomycètes.....	13
3.4.Physiologie des actinomycètes.....	14
3.4.1. Conditions de croissance des actinomycètes.....	14
3.4.2. Milieux de culture des actinomycètes.....	15
3.5.Ecologie des actinomycètes.....	15
3.6.Cycle de développement.....	16
3.7.Classification des actinomycètes.....	17
3.8.Identification des actinomycètes.....	19
3.8.1. Identification morphologique des actinomycètes.....	19
3.8.2. Identification chimio-taxonomiques des actinomycètes.....	20
3.8.3. Identification génomique des actinomycètes.....	20
3.9.Les applications des actinomycètes.....	20
3.9.1. Les applications écologiques.....	20
3.9.2. Les applications biotechnologiques.....	21

Matériel et méthodes

1. Isolement et purification des actinomycètes.....	23
1.1. Description des échantillons explorés	23
1.2.Prétraitement des échantillons.....	23
1.3.Méthodes d'isolement.....	23
2. Observation des colonies au microscope optique.....	24
3. Conservation des souches d'actinomycètes.....	24
4. Caractérisation morphologique des isolats.....	25
4.1.Coloration de Gram.....	25
5. Mise en évidence de la capacité des actinomycètes à utiliser quelques pesticides comme seule source de carbone et d'énergie.....	25
5.1.Caractéristiques des pesticides utilisés.....	25

5.1.1. Caractéristiques des herbicides utilisés.....	25
5.1.2. Caractéristique des fongicides utilisés.....	26
5.2.Mise en culture.....	27

Résultats et discussion

1. Isolement et dénombrement des souches actinomycétales isolées à partir d'écosystèmes arides.....	28
1.1. Effet de la concentration de NaCl sur le nombre des souches actinomycétales isolées.....	30
1.1.1. Les échantillons 'E1' et 'E2' sans prétraitement.....	31
1.1.2. Echantillons 'E1' et 'E2' avec prétraitement.....	31
2. Identification morphologique des actinomycètes isolés.....	33
2.1. Caractères cultureux des actinomycètes.....	33
2.2. Aspect microscopique des actinomycètes.....	34
3. Mise en évidence de la capacité des actinomycètes à utiliser quelques pesticides comme seule source de carbone et d'énergie.....	35

Conclusion et perspectives.....	43
--	-----------

Références bibliographiques.....	44
---	-----------

Annexes

Liste des Abréviations

ACA : amidon caséine agar

C° : degré Celsius

E1 : échantillon 1

E2 : échantillon 2

g : gramme

ml : millilitre

NaCl : Chlorure de Sodium

pH : potentiel d'hydrogène

µg/ml: Microgramme/ millilitre

USD : United States Dollar

Liste des figures

Figure N° 01 : Evolution du chiffre d'affaire du marché mondial des produits phytosanitaires en milliards USD.....	07
Figure N° 02 : Cycle de développement des <i>Streptomyces</i> sur milieu solide.....	17
Figure N° 03 : Système de classification hiérarchique proposé de la classe Actinobactéries basé sur des analyses phylogénétiques des données de séquence ADNr 16s.....	18
Figure N°04 : échantillon 'E1', échantillon 'E2'	23
Figure N° 05 : Résultats de l'isolement à partir des deux échantillons : (A) E2, (B) E1 sur milieu amidon-caséine additionné d'amphotéricine B.....	28
Figure N°06 : Effet de la concentration du NaCl sur le nombre d'actinomycètes isolés à partir de l' échantillon 'E1' et 'E2' sans prétraitement et avec 0% de NaCl.....	32
Figure N°07 : Effet de la concentration du NaCl sur le nombre d'actinomycètes isolés à partir de l'échantillon 'E1' et 'E2' avec prétraitement et sans l'ajout de NaCl.....	32
Figure N°08 : Effet de la concentration du NaCl sur le nombre d'actinomycètes isolés à partir de l'échantillon 'E1' et 'E2' avec prétraitement et avec 7% de NaCl.....	33
Figure N°09 : Aspect microscopique de la souche 'E1 A15'et 'E1 A23' après coloration de Gram (Gx100).....	35
Figure N°10 : Pourcentage des isolats capables de biodégrader le Duoplus.....	38
Figure N°11 : Pourcentage des isolats capables de Biodégrader le Glyphosate.....	39
Figure N°12 : Pourcentage des isolats capables de biodégrader l' Akopic 240 EC.....	39
Figure N°13 : Pourcentage des isolats capables de biodégrader l' Hexonate.....	40
Figure N°14 : Pourcentage des isolats capables de biodégrader le Lancelot 450 WG.....	40
Figure N°15 : Pourcentage des isolats capables de biodégrader le Monuron.....	41
Figure N°16 : Résultat positif de la biodégradation l'herbicide Glyphosate par la souche E1 A10 et E1A11.....	41
Figure N°17 : Résultat négatif de la biodégradation du fongicide Duoplus.....	42

Liste des tableaux

Tableau N° 01 : Formulations liquides des pesticides.....	06
Tableau N° 02 : Formulations solides des pesticides.....	06
Tableau N° 03 : Système de classification des produits phytosanitaires.....	08
Tableau N° 04 : Distribution des actinomycètes dans la nature.....	16
Tableau N°05 : Dénombrement des isolats d'actinomycètes des deux échantillons sur le milieu Amidon Caséine Agar.....	29
Tableau N°06 : Caractères culturaux des isolats les plus représentatifs.....	34
Tableau N° 07 : Mise en évidence de la capacité des isolats à utiliser quelques pesticides comme seule source de carbone et d'énergie.....	36

Introduction

Depuis plusieurs années, la bio-dépollution des différents écosystèmes et la bioremédiation agro-industrielle, constituent un des principaux axes de recherche qui intéresse les microbiologistes et les écologues. Les origines de la pollution du sol sont variées, elles sont industrielles, agricoles ou urbaines. Ces différentes sources entraînent la présence de nombreuses molécules xénobiotiques différentes polluantes qui agissent négativement sur la flore et la faune. Les polluants d'origine agricole incluent surtout, les désherbants et les pesticides (**Van der Perk , 2006**). L'utilisation importante des produits phytosanitaires en agriculture a engendré la contamination de l'environnement tellurique et aquatique. A la suite de leur application, ces molécules sont susceptibles de quitter leur site d'application et sont alors considérées comme des micropolluants organiques à l'origine de la pollution de tous les compartiments environnementaux. Du fait de leur écotoxicité, de leur potentiel de bioaccumulation, et de leurs actions endocriniennes, ces molécules présentent un risque pour l'environnement en général. (**Schrack et al., 2009**).

Les recherches se sont orientées depuis plusieurs années vers les techniques de dépollution des sols contaminés. Parmi elles il y a des techniques physico-chimiques qui sont très coûteuses et nécessitent des moyens généralement lourds. Ces dernières années on assiste à l'émergence de techniques biologiques qui sont beaucoup moins onéreuses et très efficaces. Ces techniques font appel aux potentiels de biodégradation des microorganismes très variés.

Parmi ces microorganismes, les actinomycètes qui sont un groupe hétérogène de bactéries Gram positif avec un taux élevé de G+C. Ces bactéries développent un réseau ramifié d'hyphes. Ceux-ci poussent à la fois à la surface et à l'intérieur du substrat. Ce sont des bactéries omniprésentes dans presque tous les milieux même ceux où la vie est extrêmement hostile (**Goodfellow et William, 1983 ; Okami et Hotta, 1988**). On les trouve dans divers habitats (marins, sols, mangroves, etc...) et diverses conditions environnementales (couvrant une large gamme de pH, température, salinité, métaux lourds, etc...). Un certain nombre d'entre eux sont capables de croître dans des habitats riches en sel, et ils sont donc halophiles ou halotolérants. (**Solanki et Kothari, 2011**). Ils sont connus pour leur aptitude à jouer un rôle très important dans la biodégradation de la matière organique et inorganiques présentes dans la nature (**Silini, 2012**).

Les écosystèmes telluriques Sahariens sont connus par leurs climats très rudes qui changent durant les saisons et même du jour à la nuit d'une manière considérable. Les températures par exemple, varient de 50 à 60 °C au matin pour atteindre les 0 à -3 °C durant la nuit. La situation est similaire pour le sel, en effet ces bactéries ont des plages importantes de résistance à la salinité et peuvent également vivre dans les sols allant des plus faibles en sel aux sols les plus riches. Les microorganismes qui vivent dans ces biotopes sont dotés par des capacités d'adaptation très performantes et peuvent par conséquent être utilisés dans les niches écologiques les plus diversifiées.

Ces écosystèmes Sahariens dans notre pays sont mal étudiés et cachent des secrets sans limites qui peuvent enrichir l'arsenal microbien, pour faire face aux différentes agressions de la vie contemporaine.

L'objectif principal de ce travail est d'étudier la capacité des actinomycètes isolés à partir du sol et de la sebkha d'El-Oued d'utiliser différents pesticides comme seul source de carbone et d'énergie.

- La première phase consiste en l'isolement des actinomycètes provenant de nos deux échantillons. Il s'agit également de déterminer les conditions favorables pour l'isolement sélectif des actinomycètes.
- La seconde partie consiste à mettre en évidence la capacité des actinomycètes isolés à utiliser quelques pesticides comme seul source de carbone et d'énergie.

Revue Bibliographique

1. La pollution

1.1. Définition

Le terme « pollution » désigne la présence d'une substance au-delà d'un seuil pour lequel des effets négatifs sont susceptibles de se produire (**François, 2000**).

La pollution est une modification défavorable du milieu naturel qui apparaît en totalité ou en partie comme un sous-produit de l'action humaine, au travers d'effets directs ou indirects altérant les critères de répartition du flux d'énergie, des niveaux de radiation, de la constitution physico-chimique du milieu naturel et de l'abondance des espèces vivantes. Ces modifications peuvent affecter l'homme directement ou à travers des ressources agricoles, en eau et en autres produits biologiques, elles peuvent aussi l'affecter en altérant les objets physiques qu'ils possèdent et les possibilités réactives du milieu (**François, 2002**).

1.2. Types de pollution

1.2.1. Pollution atmosphérique (pollution de l'air)

Elle est définie comme la présence dans l'atmosphère extérieure de substances ou contaminants apportées par l'homme en quantité ou à des concentrations et pendant des périodes telle qu'ils gênent une proportion importante des habitants d'un secteur ou nuisent à la santé public, à la vie humaine, végétale ou animale ou aux biens, ou portent atteinte à l'agrément de l'existence ou à la jouissance des biens dans l'état, ou les zones qui sont touchées (**Belfarhi, 2011**).

1.2.2. Pollution de l'eau

La pollution de l'eau est une altération de sa qualité et de sa nature qui rend son utilisation dangereuse et/ou perturbe l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles (rivières, plans d'eau) et/ou les eaux souterraines. (**Site web 2**).

1.2.3. Pollution du sol

La pollution du sol correspond à l'accumulation de composés toxiques : produits chimiques, sels, matières radioactives ou agents pathogènes qui, tous, ont des effets nocifs sur la croissance des plantes et la santé des animaux (**Dor, 2006**).

La pollution des sols distingue classiquement les pollutions diffuses et les pollutions ponctuelles ou localisées. Les premières sont principalement liées aux activités agricoles, notamment en raison des épandages de produits de toutes sortes qui génèrent une contamination de très larges surfaces de sol. Les secondes sont de deux types : soit des situations de pollution accidentelle avec une évolution temporelle plus ou moins rapide en fonction de l'ampleur de

l'accident et de la nature des produits impliqués, soit des pollutions chroniques conséquences d'activités industrielles, principalement les industries chimiques et de métaux non ferreux et l'enfouissement des déchets (**Dor, 2006**).

1.3. Origines de la pollution

Selon l'origine des substances polluantes, quatre catégories de pollutions sont à distinguer :

1.3.1. Pollution domestique

Elle provient des habitations et elle est, en général, véhiculée par le réseau d'assainissement jusqu'à la station d'épuration. La pollution domestique se caractérise par la présence des germes fécaux, de fortes teneurs en matières organique, des sels minéraux et des détergents (**Gilli et al., 2004**).

Elle peut être responsable de l'altération des conditions de transparence et d'oxygénation de l'eau ainsi que du développement de l'eutrophisation dans les rivières (**Faurie et al., 2003**).

1.3.2. Pollution industrielle

Elle provient des usines et elle est caractérisée par la présence d'une grande diversité des polluants, selon l'utilisation de l'eau tels que :

- Les hydrocarbures (raffinerie) ;
- Les métaux (traitement de la surface) ;
- Les acides, les bases, les produits chimiques divers (industries chimique) ;
- L'eau chaude (circuit de refroidissement des centrales thermiques) ;
- Les matières radioactive (centres nucléaires, traitement des déchets radioactifs).

Il peut y avoir un effet toxique sur les organismes vivants, par l'accumulation de certains éléments dans les denrées alimentaires tels que les métaux et les pesticides (**Calvet et al., 2005**).

1.3.3. Pollution naturelle

Certains auteurs considèrent que divers phénomènes naturels sont aussi à l'origine de la pollution (éruption volcaniques, etc.) (**Grosclaude, 1999**).

1.3.4. Pollution agricole

Elle provient des fermes ou des cultures et elle se caractérise par les fortes teneurs en sels minéraux (NO₂, P, K,...) et la présence de produits chimiques du traitement (pesticides, engrais...) (**Grosclaude, 1999**).

1.4. Principaux polluants agricoles

La pollution agricole s'est intensifiée depuis que l'agriculture est entrée dans un stade d'industrialisation. La pollution d'origine agricole peut se présenter sous deux formes : diffuse lorsqu'elle concerne de grandes surfaces et ponctuelle lorsqu'elle est accidentelle ou chronique sur un espace plus réduit (**Grosclaude, 1999**).

1.4.1. Les fertilisants

Les engrais chimiques sont dispersés dans les sols afin d'accroître les rendements des végétaux cultivés. Parmi ces éléments, nous citons : l'azote, le phosphate, le potassium et dans une moindre mesure le soufre, le calcium, le magnésium et d'autres oligo-éléments. L'usage intensif et successif de ces produits contamine donc les eaux superficielles et même les nappes phréatiques (**Conrad et al., 1999**).

1.4.2. Les pesticides

L'usage des pesticides a connu une expansion considérable, non seulement dans les pays développés, mais aussi dans l'ensemble des pays de tiers monde où la révolution verte a augmenté les exigences en traitement antiparasitaire. Ces traitements ont contribué à propager des variétés moins résistantes aux divers ravageurs de culture que les souches cultivées autochtones.

Cependant, ces pesticides s'accumulent dans les sols et les nappes phréatiques causant des ravages illimités (**Lemercier, 2003**).

2. Les pesticides

2.1. Définition

Le mot pesticide composé de deux parties : le suffixe « -cide » qui a pour origine le verbe latin «caeder» qui signifie « tuer ». On lui a adjoint la racine anglaise « Pest » qui signifie animal ou plantes nuisibles à la culture (**Colin, 2000**).

Les pesticides sont des produits « phyto-pharmaceutiques », ou plus communément produits phytosanitaires, dont les propriétés physiques, chimiques, et biologiques permettent de détruire ou de limiter le développement et la croissance d'organismes vivants (**Calvet et al., 2005 ; Devillers et al., 2005**).

2.2. Composition et Formulation des pesticides

2.2.1. Composition des pesticides

Un pesticide est composé de deux types de substances :

- **Une ou plusieurs matières actives** : Ce sont ces matières actives qui confèrent au produit l'effet poison désiré.
- **Un ou plusieurs additifs** : Ces additifs renforcent l'efficacité et la sécurité du produit, à titre d'exemple : répulsif, vomitif, épaississant, anti-moussant, solvant... (**Maison de consommation et de l'environnement, 2003**).

2.2.2. Formulation des pesticides

La formulation est le terme qui désigne la forme sous laquelle un produit phytopharmaceutique est mis sur le marché. Les **tableaux N°01 et N°02**, montrent les principales formulations utilisées.

Tableau N° 01 : Formulations liquides des pesticides (**Boland et al., 2004**).

Etat physique	Application	Véhicule	Type de formulation	Acronyme
Liquide	diluée	Eau	Suspension concentrée	SC
		Eau	Concentré émulsionnable	EC
		Huile	Volume bas	SU ou UL
	Non diluée		Liquide pour application à très bas volume ou TBV	ULV
			Aérosol	AE

Tableau N° 02 : Formulations solides des pesticides (**Boland et al., 2004**).

Etat physique	Véhicule	Type de formulation	Acronyme
Solide	Porteur	poudre pour poudrage	DP
		Granulé	GR
	Eau	poudre mouillable	WP
		poudre soluble dans l'eau	SP
		granulé soluble dans l'eau	SG / WG
	Son, graines	appât sur grains	AB
	Air	Fumée, fumigant ou gaz	

2.3. Classification des pesticides

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupe fonctionnel et d'activité ; que leur classification est complexe.

D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose comme le montre le **tableau N° 3**.

- **Premier système de classification** repose sur le type de parasite à contrôler.
- **Deuxième système de classification** tient compte de la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires (**El Mrabet *et al.*, 2008**).

2.4. Marché des pesticides

Le marché mondial des produits phytosanitaires a progressé en termes de chiffre d'affaire de 25,6 à 44,015 milliards de dollars (USD) en 10 ans. Il est d'ailleurs remarquable que ce développement se soit accentué entre 2006 et 2011 (**figure N°01**), puisqu'on y observe une progression du marché mondial d'environ 45% au cours de cette période contre 20 % au cours des cinq années précédentes (**Regnault-Roger, 2014**).

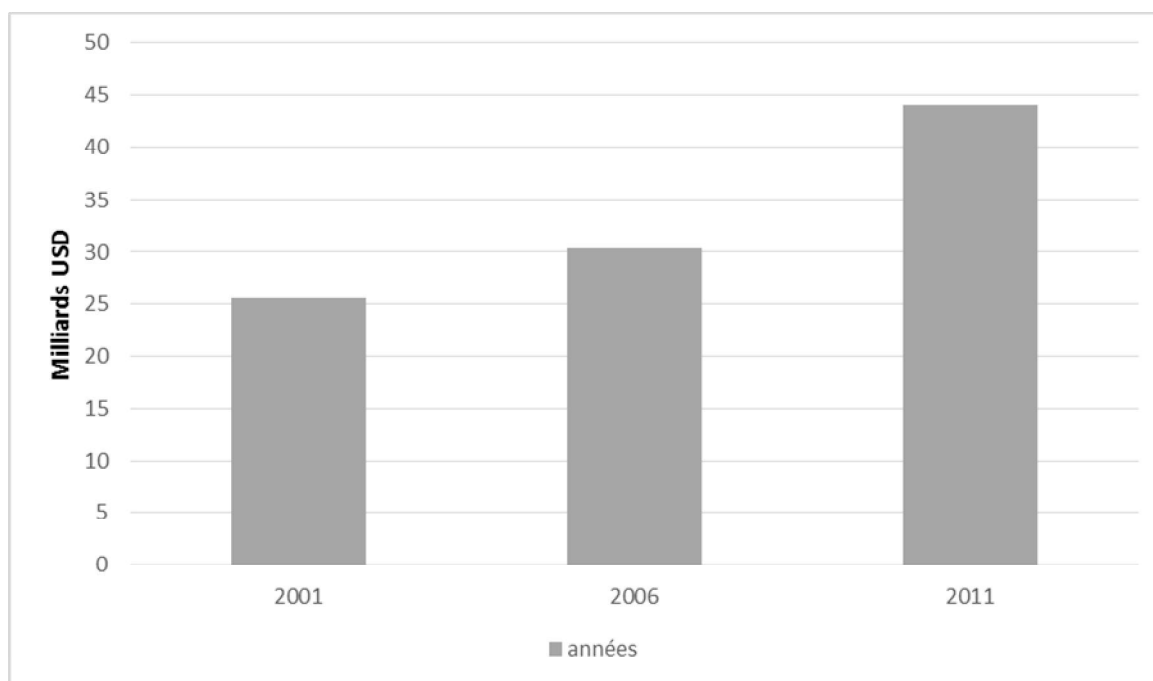


Figure N° 01 : Evolution du chiffre d'affaire du marché mondial des produits phytosanitaires en milliards USD (**Regnault-Roger, 2014**).

Tableau N° 03 : Système de classification des produits phytosanitaires. (El Mrabet *et al.*, 2008 ; Calvet *et al.*, 2005).

Premier système de classification		Deuxième système de classification
En fonction de la cible	Spectre d'action	En fonction de la nature chimique de la substance active
Herbicides	Les végétaux rentrant en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance.	Organochlorés Organophosphorés Les carbamates Les pyréthrynoïdes Les triazines Les urées-substituées
Fongicides	Les champignons ou encore les bactéries responsables des phyto-maladies	
Insecticides	Protection des plantes contre les insectes	
Acaricide	Acariens	
Némantocides	Contre les vers du groupe Nématodes	
Rodenticides	Contre les rongeurs	
Molluscicides	Contre les limaces et les escargots	
Taupicides	Contre les taupes	
Corvicides et corvifuges	Contre les corbeaux et les autres oiseaux ravageurs des cultures	

2.5. Comportement des pesticides dans l'environnement

Lors du traitement des cultures, la majeure partie des quantités de pesticides apportées atteint le sol, soit parce que les pesticides y sont directement appliqués, soit parce que la pluie a lessivé le feuillage des plantes traitées (cultures et/ou mauvaises herbes).

Le sol occupe donc une position centrale dans la régulation du devenir des pesticides dans l'environnement et il aura un double rôle de stockage et d'épuration. Dans le sol, les pesticides sont affectés par différents processus physiques, chimiques et biologiques qui vont conditionner leur dégradation, leur transfert vers les autres compartiments de l'environnement (eau, plante, atmosphère) et par conséquent leur impact potentiel sur les êtres vivants exposés, en particulier. C'est lorsque le pesticide est présent en phases liquide et gazeuse qu'il sera disponible pour être dégradé par les microorganismes (épuration) mais aussi pour être transféré vers les nappes d'eau, alors qu'en phase solide, il reste piégé dans le sol (stockage) (**Barriuso et al., 2011**).

Le comportement des pesticides va être plus particulièrement contrôlé par les phénomènes de rétention sur les constituants du sol (matières organiques, argiles) et de dégradation. Plus la rétention du pesticide est importante, plus sa mobilité est faible et moins les risques de contamination des eaux souterraines (profondes), par exemple, seront élevés. Cependant, dans ce cas, il est susceptible d'être transféré vers les eaux de surface par transport particulaire lors d'épisodes de ruissellement ou d'érosion (**Barriuso et al., 2011**).

La persistance des pesticides est directement liée à leur dégradation. C'est l'un des processus clé du devenir des pesticides dans les sols puisqu'elle conditionne leur élimination des milieux naturels. La dégradation peut être de nature biotique (dégradation par la microflore, la microfaune et les végétaux) ou abiotique (hydrolyse, photolyse). Toute une série de molécules intermédiaires (les produits de dégradation ou métabolites) entre la molécule initiale et les molécules minérales finales peuvent être produites. C'est lorsque le pesticide est transformé en molécule minérale, comme le CO₂, qu'il est totalement éliminé. Ce phénomène est appelé minéralisation (**Barriuso et al., 2011**).

2.6. Impacts des pesticides

2.6.1. Impacts des pesticides sur l'environnement

L'impact des pesticides sur l'environnement varie en fonction d'un grand nombre de facteurs qui sont : la persistance du pesticide dans l'environnement (durée de demi-vie), le temps d'exposition, la dose et la toxicité, la sensibilité relative des organismes ou de l'écosystème exposés et l'âge de l'organisme exposé. Les pesticides peuvent donc être responsables de

pollutions diffuses chroniques et/ou aiguës et accidentelles, lors de leur épandage sur les surfaces agricoles mais également lors de leur fabrication, transport ou élimination (**Margni et al., 2002**).

2.6.2. Impacts des pesticides sur la santé humaine

La toxicité d'un pesticide est son potentiel à produire des effets nocifs sur la santé, à court ou à long terme (**Arias et al., 2008**). L'évaluation des effets toxiques des pesticides est complexe car de nombreux paramètres sont à considérer : la nature du composé, ses propriétés toxico-dynamiques, la durée d'exposition et ses variations, l'effet des mélanges, la nature libre ou liée des résidus, etc...(**Capkin et al., 2005**).

2.6.3. Impacts des pesticides sur la faune sauvage

Tous les organismes sont susceptibles d'être exposés aux pesticides et d'en subir des effets néfastes. Les effets sur les oiseaux, les poissons et les mammifères ont été souvent décrits. Les insectes non visés n'y échappent pas également et le cas le plus médiatisé est celui des abeilles (**Clavet et al., 2005**).

L'empoisonnement de la faune sauvage dépend de la toxicité d'un pesticide, de la quantité appliquée, de la fréquence, du moment et de la méthode de pulvérisation. Par exemple, la pulvérisation fine a tendance à être emportée par le vent. Les insecticides, les fongicides et les herbicides, menacent la faune sauvage (**Isenring, 2010**).

2.6.4. Impacts des pesticides sur la faune aquatique

Les produits phytosanitaires et leurs dérivés peuvent provoquer des dégâts importants sur la faune aquatique. En effet, même si les mortalités des poissons représentent les effets les plus spectaculaires, les autres composantes de l'écosystème aquatique comme les mollusques, les petits crustacés, les algues et les plantes aquatiques sont aussi affectées par les effets néfastes des pesticides (**Aissaoui, 2013**).

2.7. Dégradation des pesticides

La dégradation des pesticides est un processus qui dépend de plusieurs facteurs (pH du sol, microorganismes du sol) et constitue un processus qui définit la persistance du produit et sa durée d'action. Ceci a des conséquences sur son efficacité biologique. On distingue une dégradation abiotique et une dégradation biotique :

2.7.1. Dégradation abiotique

Les transformations abiotiques sont dues à des réactions chimiques qui ne sont pas catalysées

par des systèmes enzymatiques. Cette dégradation chimique résulte :

- Des réactions d'hydrolyses dans la phase du sol en solution et de réaction d'oxydation qui dépendent de la matière active considérée.
- De son état d'ionisation.
- De la nature d'interface et des conditions du milieu.

La dégradation abiotique photochimique se produit sous l'effet des radiations solaires. Elles conduisent aux mêmes produits que la dégradation chimique. Selon **Schiavon et Barriuso** : « la dégradation abiotique des pesticides, qui reste un phénomène mineur, ne contribue, le plus souvent, qu'à la perte du pouvoir biocide spécifique de la matière active et à l'introduction dans le milieu de nouvelles structures chimiques » (**Regnault-Roger, 2014 ; Calvet et al., 2005**).

2.7.2. Dégradation biotique

Cette dégradation est appelée aussi « biodégradation ». Elle consiste à décomposer un substrat organique comme, les hydrocarbures, les solvants, les composés organochlorés...etc., par l'action des microorganismes vivants (bactéries et champignons essentiellement). Elle a lieu dans les milieux naturels comme les sols, les sédiments et les eaux mais elle peut aussi se produire dans les organismes végétaux et animaux (**Clavet et al., 2005**).

En présence d'oxygène, deux types de biodégradation de composés organiques peuvent avoir lieu : La minéralisation ou la 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 de molécules organiques en composés inorganiques (eau, dioxyde de carbone, ions minéraux) (**Alexander, 1994**).

La biodégradation est basée sur deux processus : la croissance et le co-métabolisme microbien. Dans le cas de croissance, les polluants organiques sont utilisés comme source de carbone et d'énergie. 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 (**Laperto, 2006**).

2.8. Les microorganismes impliqués dans la biodégradation

Dans le sol la biodégradation est réalisée essentiellement par des processus impliquant des microorganismes de toutes sortes (bactéries, champignons, telluriques). (**Regnault-Roger, 2014**).

Parmi les genres fongiques qui jouent le rôle dans la décomposition de la matière organique on cite les suivants : (*Mucor, Mortierella, Rhizopus, Penicillium, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium, Alternaria* et *Botrytis*) (**Maier et al., 2000**).

Les bactéries sont également des organismes très performants dans cette biodégradation. Parmi les Gram négatifs hétérotrophes, de très nombreuses espèces peuvent utiliser une grande variété de composés organiques comme source de carbone et d'énergie : *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, *Klebsiella* (Davet, 1996). Parmi les bactéries à Gram positif, les actinomycètes jouent un rôle très important dans la biodégradation des matières organiques les plus divers. Cela est due à leur diversité métabolique impressionnante et finissent généralement par une minéralisation de la matière organique. Les enzymes extracellulaires produits par ces bactéries améliorent cette action. Il a été prouvé que les actinomycètes dégradent intensivement la chitine, la cellulose, l'amidon ou le xylane. Aussi certains dégradent activement les pesticides (Djaballah, 2010 ; Boudemagh et Hocinat 2016).

3. Les actinomycètes en tant qu'agents de biodégradation

3.1. Historique

D'après Waksman (1959), Cohn fut le premier à découvrir les actinomycètes en 1875 (Lechevalier), qu'il nomma *Streptothrix foerestri* ; par la suite Hraz en 1877, isola l'agent responsable des actinomycoses du bétail et le nomma *Actinomyces bovis*. (Messoudi, 2013).

On peut diviser l'histoire des actinomycètes en quatre grandes périodes :

- **La première va de 1874 aux années 1900**, elle pourrait être nommée la période « médicale » par ce que l'intérêt porté à ces organismes était du presque exclusivement aux propriétés pathogènes.
- **La deuxième période (1900-1919)**, se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de Krainsky (1914), Cohn, Curtis et Orla Yensen (1909), qui créa la famille des *Actinomycetaceae* qui comprend un seul genre *Actinomyces*, par la suite Buchanan (1917) créa l'ordre des *Actinomycetales*.
- **La troisième période (1919-1940)** au cours de laquelle une meilleure connaissance des genres a été acquise grâce aux recherches de Waksman (1919), de Lieske (1921), de Krassilnikov (1938), et Orskov (1925) ; ce dernier ajouta le genre *Micromonospora* qui comprend les actinomycètes qui ne produisent pas de mycélium aérien. Jensen (1932) regroupe dans le genre *Paraactinomyces* (actuellement *Nocardia*) les actinomycètes dont le mycélium de substrat se fragmente. (Baldacci, 1962).
- **Quatrième période** : commence en 1940, et correspond à l'époque des antibiotiques produits par les actinomycètes, avec la création du genre *Streptomyces* (en combinant les noms des genres *Streptothrix* et *Actinomyces*) par Waksman et Henrici en 1943 ; qui

regroupe les actinomycètes dont le mycélium aérien produit des chaînes de spores portées par des sporophores. En **1958 Pridham**, proposa un système de classification des *Streptomyces* basé sur la morphologie des chaînes de spores et la couleur du mycélium aérien, **Ettling et al., 1958** introduit un critère important dans la différenciation des espèces la production des pigments mélanoides. (**Messoudi, 2013**).

Enfin, depuis les années 1960, l'essor des méthodes de génétique, initiées par **Hopwood** puis de génomique a révolutionné la classification des espèces puis les méthodes de découvertes de métabolites secondaires et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes. (**Belyagoubi, 2014**).

3.2. Généralités sur les actinomycètes

Les actinomycètes sont des bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes, c'est-à-dire de filaments qui irradiant, par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Rastogi & Kishore, 1997**). Cela explique leur dénomination : le mot « Actinomycètes » provient de deux substantifs grecs et signifie « champignons à rayons » ou « champignons rayonnants », expression utilisée pour les désigner en anglais (*Ray fungi*) et aussi en allemand et en russe (**Messoudi, 2013**).

Les actinomycètes ont souvent été confondus avec les champignons (eucaryote) (**Otto, 1998**), du fait de l'allure mycosique des maladies qu'ils provoquent et aussi de leurs morphologies fongoïdes (**Lefebvre, 2008**). Mais actuellement ils sont classés définitivement parmi les bactéries (procaryote), du fait que leurs matériels génétiques est dépourvu de noyau, contrairement aux eucaryotes dont le matériel génétique est inclus dans un noyau entouré d'une enveloppe nucléaire. Les principales différences entre les champignons et les actinomycètes peuvent être résumées dans les points suivants :

- Leurs parois qui ne renferment ni cellulose ni chitine, se retrouvent respectivement chez les plantes et les champignons (**Shukla, 2010**).
- Le diamètre de leurs mycéliums est approximativement le un dixième de celui de la plupart des hyphes fongiques (généralement 0,7 à 0,8 μm),
- Leurs sensibilités aux attaques des bactériophages et lysozymes (**Hawker et Linton, 1971**).
- Leurs sensibilités aux antibiotiques antibactériens (**Rangaswami et al., 2004. Winn et Koneman, 2006**).

3.3. Morphologie des actinomycètes

Les actinomycètes sont des bactéries de coloration de Gram positif (**Dgigal, 2003**), à taux élevés de (G+C) compris entre 60-70 % (**Pelmont, 2005**), formant des filaments minces et ramifiés qui, lorsqu'ils évoluent sur un substrat solide, comme la gélose, ils se développent à la fois sur la surface et à l'intérieur de celui-ci (**Prescott, 2010**). Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyen est environ de 2 à 3 heures (**Beckers et al., 1982**).

La morphologie des différents groupes d'actinomycètes est très variable, elle va de forme peu évoluées comme *Mycobacterium*, à des formes très évoluées comme le genre *Streptomyces* qui forme un véritable mycélium non fragmenté et sporulant (**Smaoui, 2010**).

Les actinomycètes ont longtemps été considérés comme des champignons primitifs, du fait de leur mycélium souvent à la fois aérien et pénétrant dans le substrat nutritif, du fait également de la fructification par sporanges libérant des spores chez nombre d'entre eux (**Hasley et leclerc, 1993 ; Horinouchi, 2002**).

Leur propriétés chimiques, physiologique, et immunologique les rangent parmi les procaryotes, leur paroi cellulaire ne renferme ni chitine ni cellulose mais une glycoprotéine contenant de lysine (formes fermentatives) ou de l'acide diaminopimélique (forme oxydatives) et leur cytologie est celle des bactéries (**Mariat et Sebald, 1990**).

Ces caractères s'ajoutant à d'autre (leur parasitage par des bactériophages, leur sensibilité aux antibiotiques antibactériens) ne permet pas de les classer parmi les mycètes (**Hasley et Leclerc, 1993**).

Ces caractères s'ajoutent à d'autres comme la sensibilité à des actinophages et à des antibactériens, qui confirment le bien-fondé de la classification des actinomycètes parmi les bactéries (**Larpen, 1989 ; Mariat et Sebald, 1990**).

3.4. Physiologie des actinomycètes

3.4.1. Conditions de croissance des actinomycètes

Plusieurs facteurs environnementaux conditionnent la croissance des actinomycètes :

- **Le pH** : Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin (**Omura, 1992**).
- **La température** : Les actinomycètes sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérant des températures avoisinant 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C ou plus (**Omura, 1992**).
- **L'oxygène** : Selon le type respiratoire, les actinomycètes peuvent être séparés en deux groupes : les formes oxydatifs aérobies, qui se trouvent essentiellement dans le sol, et les formes fermentatifs anaérobies strictes ou facultatives, qui vivent dans les cavités naturelles de l'homme et des animaux. (**Silini, 2012**).

En ce qui concerne les besoins nutritifs, les actinomycètes sont, en général, des chimoorganotrophes, utilisant une grande variété de sources d'énergie y compris les polymères complexes. Mais plusieurs espèces sont capables aussi d'être chimio-autotrophes, utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (**Mariat et Sebald, 1990**).

Afin d'obtenir une croissance abondante, des matières suffisamment énergétiques doivent être fournis par des protéines, des hydrates de carbone, ou des acides organiques. Des sources appropriées d'azote, soit organique ou inorganique et certains minéraux notamment le potassium, le magnésium, le phosphore, le soufre et le fer, sont également nécessaires (**Srinivasan et al., 1991**).

Certains ont des exigences nutritionnelles en facteurs de croissance telles que les vitamines et certains acides aminés. D'autres aliments peuvent être aussi nécessaires pour soutenir des activités métaboliques dans l'utilisation des actinomycètes au niveau industriel, comme par exemple, le besoin en cobalt pour la synthèse de vitamine B12 (cobalamine), et le besoin en chlore pour la synthèse de chloramphénicol (**Silini, 2012**).

3.4.2. Milieux de culture des actinomycètes

La composition d'un milieu de culture doit permettre la croissance bactérienne et doit donc tenir compte des besoins nutritifs des bactéries. Les meilleurs milieux de culture pour l'isolement des actinomycètes sont ceux contenant de l'amidon, du glycérol ou de la chitine comme source de carbone, la caséine, l'asparagine ou l'arginine comme source d'azote organique (**Burman, 1973 ; Williams et al., 1993 ; Hilali et al., 2002**).

Pour l'isolement des actinomycètes, les antibiotiques sont ajoutés dans les milieux sélectifs pour inhiber la croissance de certains germes indésirables. Les molécules les plus utilisées sont : la nystatine, le cycloheximide (Actidione), la pimaricine, l'amphotéricine B pour l'inhibition des champignons. La polymixine, la novobiocine, l'acide nalidixique, la colistine pour stopper les bactéries Gram négatives (**Nonomura et Hayakawa, 1988 ; Larpent et Larpent, 1990, Takizawa et al., 1993 ; Kurtbaeke et Wildman, 1998**). L'incubation se fait, généralement, à une température de 28°C ou 30°C qui favorise le développement des actinomycètes (**Burman, 1973**).

3.5. Ecologie des actinomycètes

Les actinomycètes colonisent une large variété d'habitats naturels comme le montre le **tableau N°04**, elles sont capables de se développer sur une large gamme de substrats. Elles sont présentes dans des sols polaires gelés en permanence tout comme dans les sols désertiques chauds

et secs, dans le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec les métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés. (**kitouni, 2007**).

Le genre *Streptomyces* est celui qui prédomine généralement dans les sols et divers autres substrats. Ils représentent 80 à 95% du total des actinomycètes après *Streptomyces*, les genres les plus fréquents sont *Nocardia* et *Micromonospora*. Les autres genres ne constituent qu'une fraction minime et sont parfois peu fréquents ou même assez rares (**Boucheffa, 2011**).

Tableau N° 04 : Distribution des actinomycètes dans la nature (**Larpen, 1989**).

Genre	Habitats
<i>Actinomadura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau, litière
<i>Frankia</i>	Nodules des racines
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, eau
<i>Nocardia</i>	Sol, eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier, litière
<i>Saccharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière
<i>Streptosporangium</i>	Sol
<i>Thermomonospora</i>	Matière en décomposition et fermentation

3.6. Cycle de développement

Les *Streptomyces* ont un cycle de développement complexe qui se divise en plusieurs étapes. Sur milieu solide (**figure N°02**), il débute par la germination d'une spore qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes non septés et plurinucléés, ramifiés et ancrés dans le milieu solide. Un mycélium aérien se développe sur ce mycélium primaire (**Smaoui, 2010**).

En effet ce dernier s'autolyse et les produits de la lyse sont cannibalisés par le mycélium aérien. Les extrémités des hyphes aériens se spiralisent puis se cloisonnent et se différencient pour former des chaînes de spores uninucléées, ces spores sont des agents de dissémination (**Smaoui, 2010**).

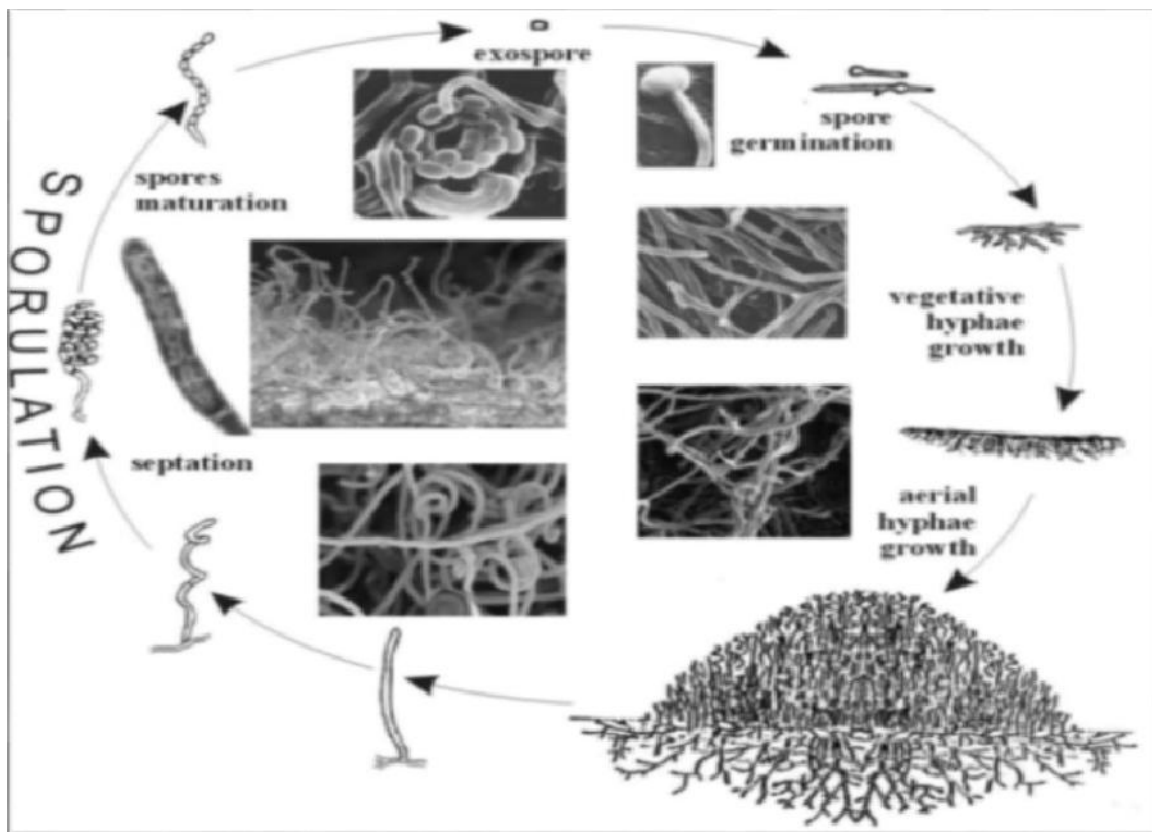


Figure N°02 : Cycle de développement des *Streptomyces* sur milieu solide (Jakimowicz, 2007).

3.7. Classification des actinomycètes

Selon le système de classification de Murray qu'on retrouve dans le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (1986, 1989), les Actinomycètes appartiennent au règne des *Procaryotes* (organismes cellulaires sans noyau), à la division des *Firmicutes* (Bactéries Gram-positif) et à la classe des *Thallobacteria* (Bactéries Gram-positif ramifiées) contenant l'ordre des *Actinomycetales* (Ouhdouch, 2003; Alauzet, 2009).

La classification des actinomycètes a évolué en fonction du développement des connaissances, durant ces 30 dernières années elle fut marquée par quatre périodes dont chaque une à apporter des nouveaux critères de classification :

- **Premier période.** C'est la période classique, où seuls les critères macro et micro morphologiques, permettaient de différencier les genres entre eux.
- **Seconde période.** C'est la période d'utilisation de la chimio-taxonomie. Selon **Goodfellow et Minnikin, (1985)**, la chimio-taxonomie est l'utilisation des caractères chimiques dans la classification des organismes. Selon les travaux de **Becker et al., 1964 ; Lechevalier et Lechevalier (1970)**, certains constituants cellulaires (les acides aminés pariétaux, les lipides

des enveloppes cellulaires et les sucres cellulaires) ont une grande importance taxonomique dans la classification des actinomycètes, ces constituent on les retrouve généralement soit dans la paroi ou dans la cellule entière (Sabaou, 1988).

- **Troisième période.** Durant la troisième période naissait la taxonomie numérique, qui a débuté dans les années 70, et qui combine l'outil informatique à de nombreux tests physiologiques pour différencier les espèces de chaque genre entre elles (Smaoui, 2010). Sneath et Sokal ont défini la taxinomie numérique comme "le groupement d'unité taxonomique, en taxons à l'aide de méthodes numériques sur la base des états de leurs caractères" (Prescott *et al.*, 2003).

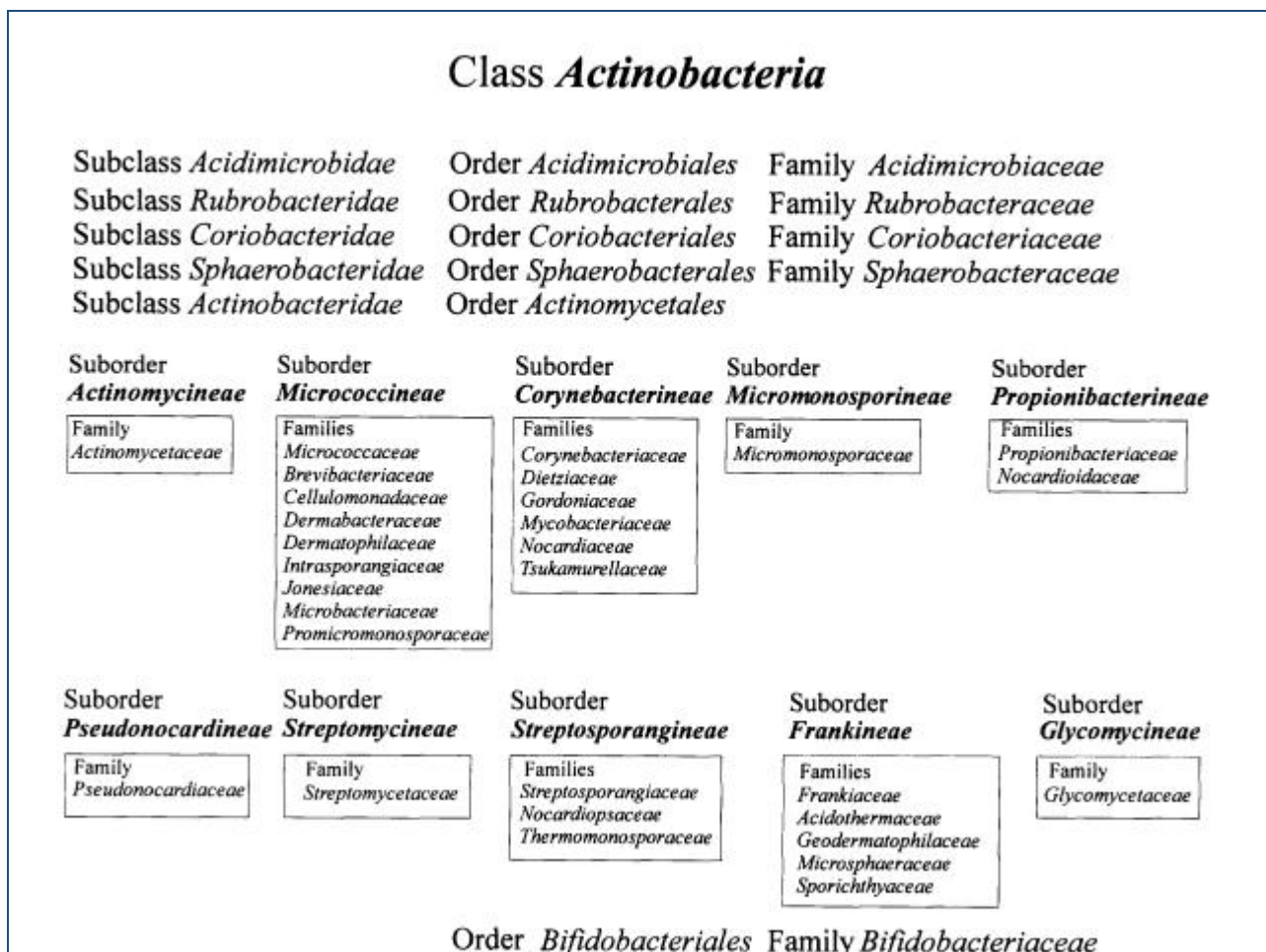


Figure N° 03 : Système de classification hiérarchique proposé de la classe Actinobactéries basé sur des analyses phylogénétiques des données de séquence ADNr 16S (Stackbrand *et al.*, 1997).

Le procédé consiste à déterminer la présence ou l'absence des caractères sélectionnés dans le groupe d'organisme étudié. Pour faire une classification précise et fiable, il faut comparer de nombreux caractères, au moins 50 et il est également préférable d'inclure de nombreux types de données différents : morphologique, biochimiques et physiologiques.

Chacun des caractères est codés **1** pour présence du caractère, ou **0** pour absence du caractère. Les degrés de similitude entre individus sont finalement représentés sous la forme de dendrogramme, et permettent de rassembler dans une même classe de similitude les individus les plus semblables (**Kitouni, 2007 ; Prescott et al, 2003**).

Actuellement et 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 également « *Actinobacteria* ».

Cette classe est divisée en 5 sous-classes (**figure N°03**) : *Acidimicrobidae*, *Rubrobacteridae*, *Coriobacteridae*, *Sphaerobacteridae*, *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 : *Actinomycineae*, *Micrococcineae*, *Corynebacterineae*, *Micromonosporineae*, *Propionibacterineae*, *Pseudonocardineae*, *Streptomycineae*, *Streptosporangineae*, *Frankineae* et *Glycomycineae* (**Labeda et Kroppenstedt, 2000 ; Stackebrandt et Schumann, 2000**).

3.8. Identification des actinomycètes

Les actinomycètes constituent un groupe bactérien très varié dont l'appartenance ou non à un genre donné est très délicate à établir. L'étude des caractères morphologiques, les caractères physiologiques et la composition chimique de la paroi cellulaire permettent de séparer ces microorganismes avec une grande précision en groupes et genres différents et d'identifier ces bactéries jusqu'au niveau de l'espèce (**Lechevalier et al., 1977 ; Xu et Jiang, 1996**).

3.8.1. Identification morphologique des actinomycètes

Plusieurs critères morphologiques sont étudiés pour identifier les actinomycètes. Il s'agit principalement de :

- Hyphes : présence, abondance et disposition des hyphes du mycélium végétatif ou du mycélium aérien
- Spores : nombre, mobilité, forme, position sur les hyphes
- Présence de sporanges
- Présence de sclérotés ou de synnématas
- Résistance des spores à la chaleur
- Résistance aux traitements acides. (**Schofield et Schaal, 1981 ; Demain et Solomon 1985**).

3.8.2. Identification chimio-taxonomiques des actinomycètes

Les caractères chimiques étudiés sont :

- Composition du peptidoglycane.
- Composition en sucres cellulaires.
- Composition phospholipidique des membranes.
- Production d'antibiotiques.
- Tests biochimiques : Réduction du nitrate ; Hydrolyse de l'urée ; Hydrolyse de l'acide hyppurique ; Synthèse de mélanine (*Streptomyces*) (**Lechevalier et Lechevalier 1985 ; Larpent et Sanglier 1989**).

3.8.3. Identification génomique des actinomycètes

Pour les caractères génétiques, il s'agit d'analyser les points suivants :

- % GC de l'ADN.
- Digestions de l'ADN et analyse par électrophorèse en champ pulsé
- Séquence de l'ADNr 16S. (**Stackebrandt, 1997 ; Ventura, 2007 ; Zhi 2009**).

3.9. Les applications des actinomycètes

3.9.1. Les applications écologiques

Les actinomycètes sont presque partout dans la nature. Ils sont présents dans des sols polaires gelés en permanence tout comme dans des sols désertiques chauds et secs, dans le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec des métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés. (**Site web 1**)

Certaines espèces d'actinomycètes semblent préférer certains habitats à d'autres. Par exemple, les *Thermoactinomyces* et les *Faenia* se trouvent dans les composts, les foins en fermentation et les condenseurs de réfrigérateurs et de climatiseurs. Les *Actinoplanes* et les *Actinosynnema* se rencontrent dans les sols cultivés et sur les débris végétaux qu'on trouve aux bords des rivières et des lacs ; Les *Micromonospora* au fond des lacs et des réservoirs ; Les *Streptosporangium* à la surface des sols forestiers ; Les *Microbispora* et les *Actinomadura* dans les sols de prairies et les sols cultivés. Les *Streptomyces*, si nombreux, se rencontrent presque partout. (**Site web 1**)

La fonction écologique des actinomycètes au sein des écosystèmes est la décomposition des substances organiques. Les actinomycètes, fort nombreux dans les sols, se joignent aux autres bactéries et aux champignons comme nettoyeurs de la nature et formateurs d'humus. Ils prolifèrent

surtout quand l'action des bactéries ordinaires touche à sa fin, on pourrait dire qu'ils terminent leur action. **(Site web 1)**

De plus, les actinomycètes du genre *Frankia* vivent en association avec de nombreux arbres et arbrisseaux, tels que les aulnes, sur les racines desquels ils forment des nodules où l'azote gazeux est fixé. Le système *Frankia*-plantes ligneuses fixe, globalement, dans la biosphère presque autant d'azote que le système *Rhizobium*-légumineuses.

Les *Frankia* fixent aussi l'azote *in vitro*, tandis que les *Rhizobium* ne le font qu'*in planta*. Les *Frankia* pénètrent les cellules des racines, qu'ils déforment, et y produisent des vésicules où l'azote est fixé grâce à une nitrogénase. **(Site web 1)**

Tout le monde connaît l'odeur de la terre fraîchement labourée. Cette odeur est due surtout à une huile neutre de bas poids moléculaire, la Géosmine, produite par les actinomycètes présents dans le sol. Du sol, la Géosmine et autres métabolites odoriférants se répandent dans les eaux, les rendant indésirables comme boisson à cause de l'odeur, ce qui pose un problème dans la purification des eaux potables. **(Site web 1)**

3.9.2. Les applications biotechnologiques

Les actinomycètes jouent un rôle important dans la production de divers agents antimicrobiens et d'autres substances industriellement importantes telles que des enzymes. **(Mukesh, 2014).**

Le potentiel d'actinomycètes dans la découverte de nouveaux composés ayant une activité contre les micro-organismes a été réalisé, et ouvre donc des pistes intéressantes dans le domaine de la biotechnologie et de la recherche biomédicale. **(Mukesh, 2014).**

Le point de vue métabolique des actinomycètes fournit non seulement un domaine intéressant pour la recherche, mais offre également la possibilité de commercialisation des métabolites générés dans le processus. **(Mukesh, 2014).**

Des enzymes telles que l'amylase, la lipase et les cellulases produites à partir des actinomycètes jouent un rôle important dans l'industrie alimentaire, la fermentation, l'industrie du textile et du papier.

Certaines enzymes utilisées comme agents thérapeutiques dans le cancer humain, principalement dans la leucémie. Les actinomycètes sont utiles dans le traitement du cancer, la bioremediation et il produit des antibiotiques précieux tels que la novobiocine, l'amphotéricine, la vancomycine, la néomycine, gentamicine, chloramphénicol, la tétracycline, l'érythromycine, la nystatine, etc.

Les actinomycètes sont également utilisés comme agents favorisant la croissance des plantes (aide à produire l'hormone de croissance végétale indole-3-acétique), des outils de biocontrôle, les agents de biopesticides, des composés antifongiques, et biocorrosion et comme une source de composés agro-actifs. **(Mukesh, 2014)**.

Matériel et méthodes

1. Isolement et purification des actinomycètes

1.1. Description des échantillons explorés

Notre étude a été menée sur deux types d'échantillons aimablement fournis par Professeur Boudemagh : le premier échantillon « E1 » provient du sol d'El-Oued et le deuxième d'une Sebka de la même région « E2 » (**figure N°04**).

Une fois transportés au laboratoire, les échantillons sont immédiatement conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation.

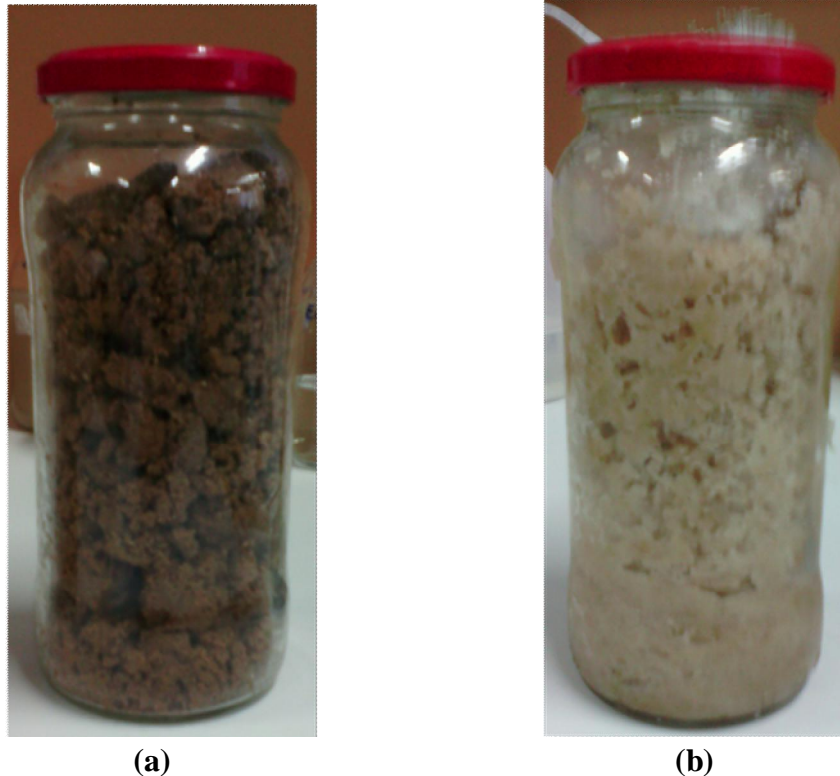


Figure N° 04 : Echantillons provenant d'El-Oued .a) Echantillon du sol 'E1' ; b) Echantillon de la Sebka 'E2'.

1.2. Prétraitement des échantillons

Chacun des deux échantillons sont divisés en deux lots l'un est manipulé en état humide (sans séchage) et l'autre est séché à l'air libre.

10 g sont prélevés à partir des deux échantillons et mis dans du papier aluminium et laissé à l'air libre pour sécher pendant 21 jours.

1.3. Méthodes d'isolement

Pour cette étude, 4 isollements ont été réalisés :

-Milieu amidon caséine (Annexe 1), additionné de 100µg/l d'Amphotéricine B sans prétraitement des échantillons.

-Milieu amidon caséine additionné de 100µg/l d'Amphotéricine B et de 7% de NaCl sans prétraitement des échantillons.

-Milieu amidon caséine, additionné de 100µg/l d'Amphotéricine B. avec prétraitement des échantillons

-Milieu amidon caséine, additionné de 100µg/l d'Amphotéricine B et de 7% de NaCl, avec prétraitement des échantillons.

La solution d'antifongique est stérilisée par filtration sur membrane type millipore (de 0,22 µm de porosité) et est ajoutée aseptiquement au milieu d'isolement en surfusion.

Des suspensions mères ont été préparées, après avoir mis 1gramme de chaque échantillon dans des tubes à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, et agitée vigoureusement pendant 5 minutes environ. Par la suite on réalise une série de dilution décimale pour chaque échantillon jusqu'à 10^{-4} .

L'ensemencement est réalisé en étalant 0,1 ml de chaque dilution sur la surface du milieu d'isolement. Les boîtes sont incubées à 30°C et observées quotidiennement pendant une durée minimale de 30 jours. Afin d'obtenir des souches pures, les différentes colonies obtenues sont repiquées et ensemencées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant le même milieu d'isolement, puis incubés pendant au moins 21jours à 30°C.

2. Observation des colonies au microscope optique

Afin de mettre en évidence l'aspect filamenteux caractéristique des actinomycètes, toutes les colonies qui se rapprochent par leurs aspects macroscopiques à ces derniers, colonies dures et incrustées dans la gélose, sont observées au microscope optique (**Paralux**), en utilisant la coloration simple par le bleu de méthylène, ainsi que la coloration de Gram. L'observation au microscope optique est effectuée avec des grossissements gradués ($\times 10$, $\times 40$, $\times 100$) (**Kalyani et al., 2012**).

3. Conservation des souches d'actinomycètes

Seules les colonies à Gram positif présentant les aspects caractéristiques des actinomycètes, sont conservés sur gélose inclinée sur le milieu amidon caséine à 4°C.

4. Caractérisation morphologique des isolats

4.1. Coloration de Gram

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

Pour chaque colonie répondant aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques des actinomycètes un frottis est réalisé. Ces derniers sont colorés en premier lieu par une solution de violet de Gentiane qui est un colorant basique, pendant une minute. Ensuite les lames sont rincés par une solution iodo-iodurée (Lugol) qui agit comme mordant en augmentant les interactions entre le colorant et les cellules afin que celle-ci soient contrastées. Sans rincer les lames sont inclinées à 45°, les frottis sont décolorés par lavage d'un mélange d'alcool et d'acétone. Par la suite les lames sont rincées à l'eau distillée afin d'arrêter la décoloration.

Enfin les frottis sont recolorés par un colorant basique de couleur rose : Fuschine de Ziehl, pendant une minute puis rincés abondamment à l'eau du robinet.

Une fois séchées, les lames sont examinées au microscope optique à l'aide de l'objectif à immersion (Gx100).

Les résultats sont photographiés à l'aide d'un appareil photographique numérique de marque **Canon Power ShotA1400 8 × Zoom**.

5. Mise en évidence de la capacité des actinomycètes à utiliser quelques pesticides comme seule source de carbone et d'énergie

5.1. Caractéristiques des pesticides utilisés

Dans cette partie, trois herbicides et deux fongicides ont été recueillis auprès des agriculteurs des wilayas de Constantine, Jijel et Khenchla ; le quatrième herbicide a été aimablement fourni par Pr. Zertale A. responsable du Laboratoire des Techniques innovantes de Prévention de l'Environnement (LPTE) Chaab-errassas Université des Frères Mentouri Constantine.

5.1.1. Caractéristiques des herbicides utilisés

Quatre désherbants ont été testés. Ce sont des formulations très employés en agriculture Algérienne, dans les grandes cultures et dans les cultures maraichères.

- **Le glyphosate**

Il s'agit d'un herbicide systémique non sélectif, absorbé par les feuilles et véhiculé par la sève jusqu'à l'extrémité des racines et rhizomes. L'Herbasate est efficace sur pratiquement toutes les mauvaises herbes annuelles ou vivaces et n'est pas sélectif des cultures. (**Annexe N°02**).

- **Monuron**

Fournis aimablement par le Laboratoire des Techniques Innovantes de Prévention de l'Environnement. C'est une substance à 99% pure. Cet herbicide est non-sélectif inhibant la photosynthèse. Il est utilisé contre plusieurs graminées et mauvaises herbes dans les surfaces de terre non cultivées. (**IARC ; 1991**). (**Annexe N°02**).

- **Lancelot 450 WG**

Lancelot WG 450 est utilisé comme herbicide sélectif, destiné pour le contrôle des mauvaises herbes à feuilles larges dans les cultures de blé et d'orge (**Annexe N°02**).

- **Akopic 240 EC**

Produit phytosanitaire à effet herbicide, non sélectif. Utilisé sur les cultures de tomates, raisins, pomme de terre. (**Annexe N°02**).

5.1.2. Caractéristiques des fongicides

Ils permettent quant à eux de combattre de la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons ou encore des bactéries. Ils peuvent agir différemment sur les plantes soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire, soit en perturbant la biosynthèse des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides (**El Azzouzi, 2013**). Nous en avons testé deux, des plus utilisés en Algérie.

- **Hexonate**

L'hexonate est un fongicide à large spectre pour la lutte préventive et curative, il contient 50g/l d'Hexaconazole et appartient à la famille chimique des triazoles systémiques. Il agit efficacement sur un grand nombre de champignons et parasites rencontrés dans les cultures arboricoles, maraichères et vignes. (**Annexe N°02**)

- **Duoplus**

C'est aussi l'un des fongicides les plus utilisés en Algérie, utilisé sur les cultures de céréales

contre la Rouille/ Septoriose et les Oïdium (**Annexe N°02**).

5.2. Mise en culture

Les souches d'actinomycètes isolées et purifiées sont ensemencées sur le milieu minimum de Vandermesse contenant un seul type de pesticide comme unique source de carbone et d'énergie à une concentration de 1g/l (**Hocinat et Boudemagh, 2016**).

Les herbicides et les fongicides utilisées sont sous forme liquide et solide dont les pesticides solides sont ajoutés au milieu minimum avant la stérilisation par autoclave (afin d'assurer la stérilité du milieu) tandis que les pesticides liquides sont ajoutés séparément, après stérilisation par filtration sur membrane type millipore (de 0,22 µm de porosité).

Les bactéries sont inoculées par stries serrées sur la surface du milieu et incubés pendant 15 à 21 jours à 30°C.

La biodégradation est appréciée en comparant les cultures avec la croissance obtenue sur le milieu minéral sans source de carbone servant de témoin négatif et avec le milieu minéral additionné de pesticides servant de contrôle positif.

*Résultats et
discussion*

1. Isolement et dénombrement des souches actinomycétales isolées à partir d'écosystèmes arides

Après 30 jours d'incubation à 30°C, 66 colonies présentent l'aspect macroscopique caractéristique des actinomycètes. Ce sont des colonies d'aspect poudreux ou dures et incrustées dans le milieu d'isolement utilisé (**figure N°05**). L'isolement des souches actinomycétales à partir des échantillons de sol 'E1' et celui de la Sebkha 'E2' traités ou non traités, sur le milieu Amidon-Caséine Agar additionné d'Amphotéricine B (100µg/l), et complémenté ou non de 7% de NaCl, a conduit aux résultats rassemblés dans le **tableau N°05**.

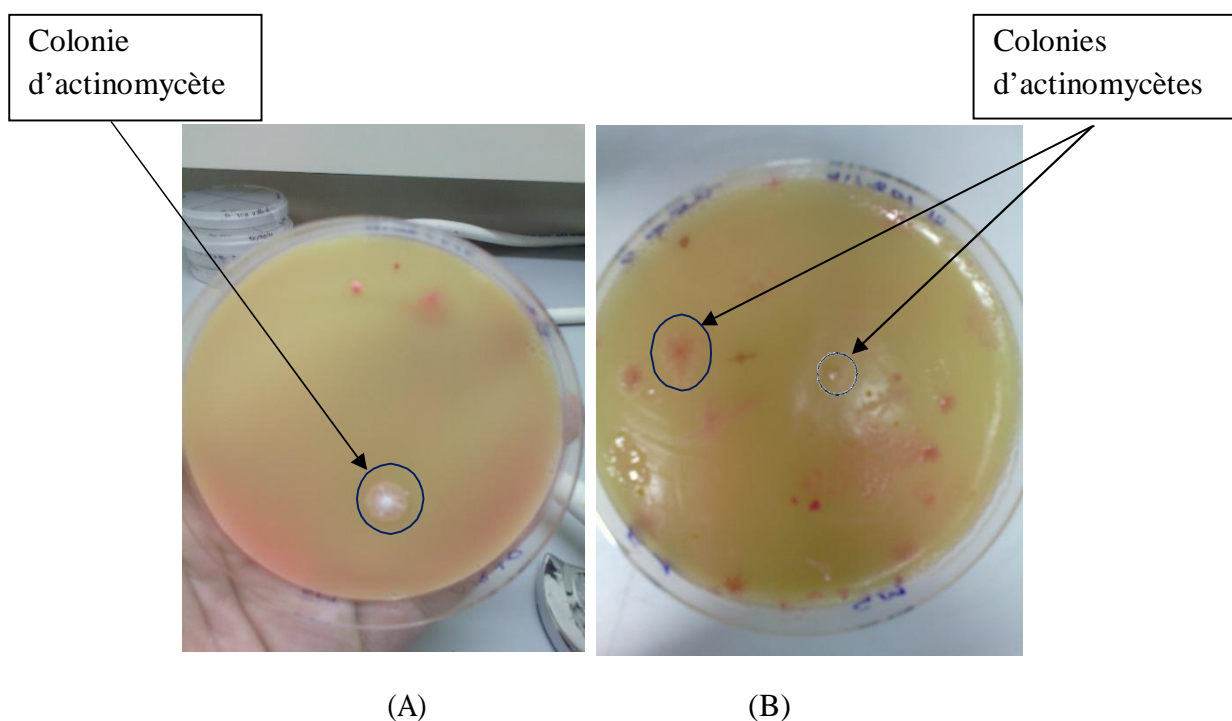


Figure N° 05 : Résultats de l'isolement à partir des deux échantillons : (A) E2, (B) E1 sur milieu amidon-caséine additionné d'Amphotéricine B.

Tableau N°05 : Dénombrement des isolats d'actinomycètes des deux échantillons sur le milieu Amidon Caséine Agar

Echantillons sans prétraitement				Echantillons avec prétraitement			
Echantillon E1		Echantillon E2		Echantillon E1		Echantillon E2	
ACA+ amphotéricine B (100 µg/ml)	ACA + amphotéricine B (100 µg/ml) + 7% NaCl	ACA + amphotéricine B (100 µg/ml)	ACA + amphotéricine B (100 µg/ml) + 7% NaCl	ACA + amphotéricine B (100 µg/ml)	ACA + amphotéricine B (100µg/ml) + 7% NaCl	ACA + amphotéricine B (100 µg/ml)	ACA + amphotéricine B (100µg/ml) + 7% NaCl
32 souches	Absence de colonies	16 souches	Absence de colonies	7 souches	4 souches	7 souches	Absence de colonies

Selon les résultats rassemblés dans le **tableau N°05**, on constate que 66 colonies différentes d'actinomycètes ont été isolées sur le milieu Amidon Caséine Agar dont 43 proviennent de l'échantillon tellurique 'E1' (sol de la région d'El Oued) et 23 proviennent de l'échantillon 'E2' (sebkha de la même région).

Les travaux d'isolements sélectifs des actinomycètes halophiles à partir des milieux extrêmes sahariens (comme la Sebka) sont relativement rares en Algérie (**Boughachiche et al., 2012 ; Reghiousa et al., 2008**). **Meklat et al., 2011** ont isolés 52 souches d'actinomycètes à partir des échantillons collectés de diverses régions sahariennes salines : Adrar, Béchar, Djelfa, El Golea, El Oued, Ghardaia, Laghouat, Ouargla et Tolga. **Djabellah, (2010)** a isolé 63 souches actinomycétales à partir des échantillons prélevés de la Sebka d'Ezmoul de la région de Batna. Alors que **Messoudi, (2013)** a isolé 18 souches seulement d'actinomycètes à partir de la sebkha de Kenadsa, située dans le sud-ouest de la wilaya de Béchar. Notre travail nous a permis d'isoler 66 souches du sol et de la Sebka de la région d'El-Oued.

Une distribution hétérogène des actinomycètes isolés à partir de chaque échantillon est observée. En effet, les isolats obtenus sont d'aspects différents d'un échantillon à un autre. Ce résultat est d'après nous dû à la différence dans les facteurs physico-chimiques, des deux échantillons, surtout le degré de salinité et d'humidité. qui influent considérablement sur le nombre ainsi que le type des actinomycètes qu'abrite le sol (**Hop et al., 2012 ; Adegboye et al., 2012**). Selon **Lee et Hwang, 2002**, les trois facteurs écologiques les plus importants qui influent sur la diversité des actinomycètes dans le sol sont : le pH, la matière organique et l'humidité. D'autre facteur sont aussi important comme la température du sol, le type du sol, la végétation et l'emplacement géographique....etc. (**Adegboye et al., 2012**).

D'après les résultats illustrés dans le **tableau N°05**, nous observons également une différence importante du nombre de colonies d'actinomycètes isolées à partir des deux échantillons, traité ou non traité. Le plus grand nombre de colonies d'actinomycètes prélevées est obtenu à partir de l'échantillon sans prétraitement avec 48 bactéries actinomycétales contre 18 actinobactéries à partir de l'échantillon avec prétraitement. Ces chiffres ne corroborent pas avec les travaux précédents et qui ont trouvé que le nombre d'actinomycètes isolés est inversement proportionnel aux taux d'humidité des échantillons (**Sykes et Skinner, 1973 ; Basilio, 2003**). En effet, le séchage des échantillons du sol à l'air libre pendant 21 jours, a pour but la réduction de la flore bactérienne contaminante. Les conidiospores des actinomycètes résistent bien à la dessiccation par rapport aux autres bactéries de coloration de Gram positif et négatif qui vont pas résister (**Khanna et al., 2011**). Les travaux de (**Fan et al., 2010**), indiquent qu'un séchage des échantillons du sol pendant 7 à 21 jours réduit considérablement le nombre des champignons ainsi que les bactéries et aussi augmente le nombre des actinomycètes.

1.2. Effet de la concentration de NaCl sur le nombre des souches actinomycétales isolées

Plusieurs méthodes et techniques d'isolement et de prétraitement des échantillons du sol, ont été appliquées dans les différents programmes de screening des actinomycètes dans le sol, ils ont tous comme objectifs de faciliter l'isolement sélectif des actinomycètes, qui ont une croissance lente, par rapport aux bactéries et aux champignons, qui gênent par leurs croissances rapides, la multiplication des actinomycètes.

D'après les résultats illustrés dans le **tableau N°05** et les diagrammes en bâtons de l'isolement des actinomycètes on constate dans :

121. Les échantillons 'E1' et 'E2' sans prétraitement

Le nombre des actinomycètes isolés sur le milieu Amidon-Caséine Agar (ACA) additionné d'Amphotéricine B à partir de l'échantillon du sol 'E1' a donné 32 souches alors que le nombre d'actinomycètes isolé à partir de la Sebkhah 'E2' a donné 16 souches seulement (**figure N°06**). Ces résultats peuvent être expliqués par la richesse du sol 'E1' en matière organique. Nos résultats sont conformes avec plusieurs travaux qui affirment que le nombre des actinomycètes est en corrélation positive avec le pourcentage de la matière organique (**Hayakawa et al., 1988 ; George et al., 2010**) quel que soit le taux la salinité du sol (**Lee et Hwang, 2002**). Par contre aucune colonie n'a pu être isolée sur le milieu ACA additionné d'Amphotéricine B et de 7% de NaCl à partir de l'échantillon du sol 'E1' et de la Sebkhah 'E2'. Ceci peut être dû au fait que la concentration à 7% de NaCl ajoutée au milieu d'isolement était trop faible et par voie de conséquence défavorise la croissance des actinomycètes de ces échantillons.

122. Echantillons 'E1' et 'E2' avec prétraitement

Dans notre travail nous avons utilisé un seul prétraitement physique qui est le séchage à l'air libre en plus de l'utilisation d'un milieu spécifique qui est l'Amidon-Caséine Agar pour l'isolement des actinomycètes. D'après certains auteurs, la technique universelle d'isolement des actinomycètes n'existe pas. Il faut toujours varier les méthodes et les milieux d'isolement dans un même screening, afin de réussir l'isolement de la flore actinomycétale qui compose l'échantillon étudié (**Boudemagh, 2007**). C'est la raison pour laquelle nous avons utilisés le milieu ACA puisque plusieurs travaux ont confirmé que ce milieu est efficace pour l'isolement sélectif des actinomycètes à partir d'écosystème varié. **Sharma et al., (2011)** ont isolés 134 actinomycètes en utilisant uniquement ce milieu. **Gayathri et al., (2011)** à utiliser ce milieu pour isolés 20 colonies d'actinomycètes à partir d'un sol salin.

D'après la **figure N°07** le nombre des actinomycètes isolé sur le milieu amidon- caséine Agar (ACA) additionner d'Amphotéricine B à partir de l'échantillon du sol 'E1' et à partir de l'échantillon de la Sebkhah 'E2' après prétraitement par séchage à l'air libre pendant 21 jours a donné 14 souches : 7 souches actinomycétales à partir de 'E1' et 7 souches à partir de 'E2'.

Selon la **figure N°08** le nombre d'actinomycètes isolé sur le milieu Amidon-Caséine Agar (ACA) additionner d'Amphotéricine B et de 7% de NaCl à partir de l'échantillon du sol

'E1' et de la Sebka 'E2' après prétraitement par séchage à l'air libre a donné 4 souches seulement actinomycétales pour 'E1' et aucune souches pour 'E2'.

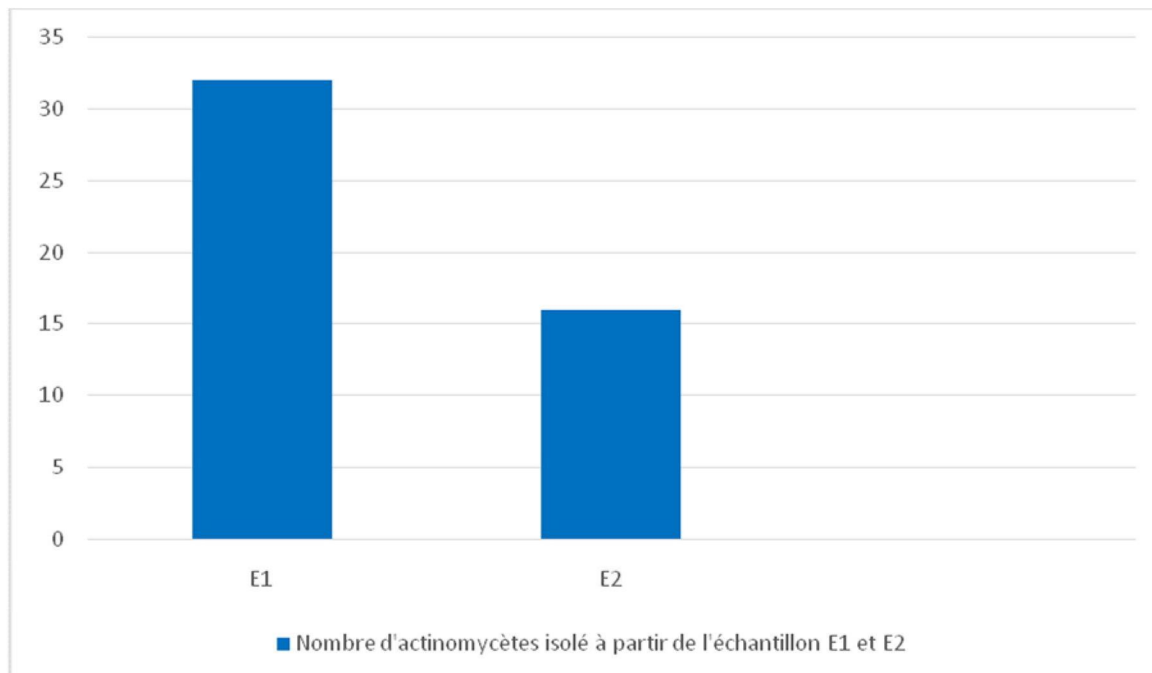


Figure N°06 : Effet de la concentration du NaCl sur le nombre d'actinomycètes isolés à partir de l'échantillon 'E1' et 'E2' sans prétraitement et avec 0% de NaCl.

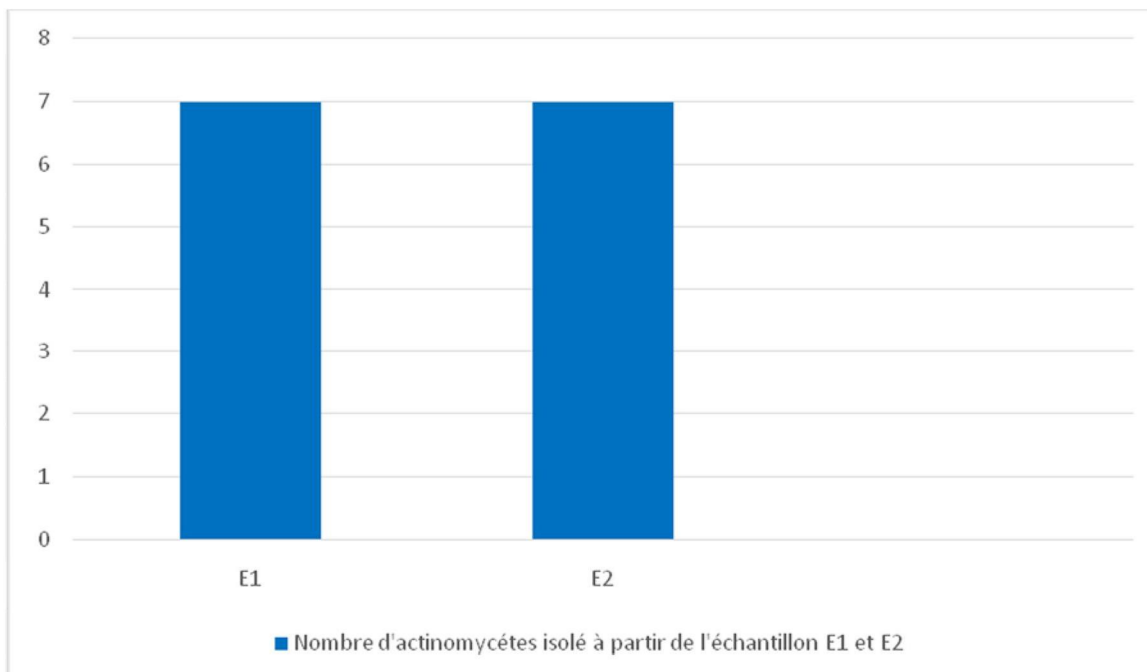


Figure N°07 : Effet de la concentration du NaCl sur le nombre d'actinomycètes isolés à partir de l'échantillon 'E1' et 'E2' avec prétraitement et sans l'ajout de NaCl.

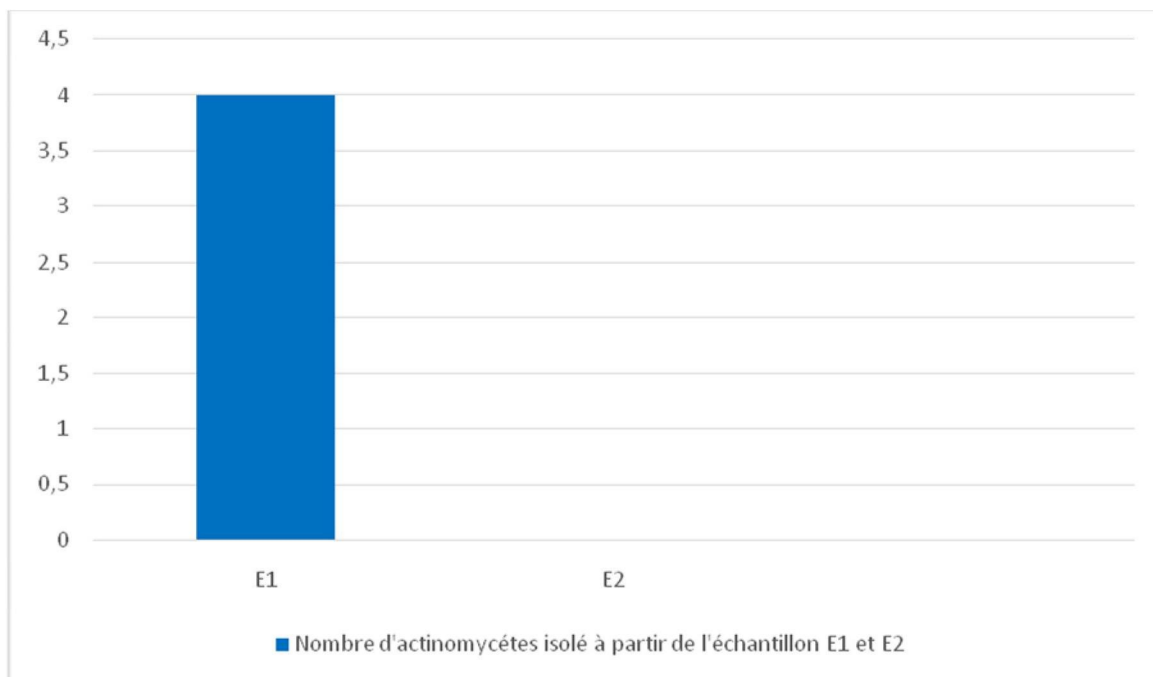


Figure N°08 : Effet de la concentration du NaCl sur le nombre d'actinomycètes isolés à partir de l'échantillon 'E1' et 'E2' avec prétraitement et avec 7% de NaCl.

2. Identification morphologique des actinomycètes isolés

2.1. Caractères cultureux des actinomycètes

Après ensemencement sur le milieu ACA, les colonies d'actinomycètes préalablement purifiées apparaissent, toutes les souches se développent sur le milieu ACA à degré de croissance faible.

Les colonies obtenues sont de taille différente (petite à moyenne) et de forme variable (bombée, aplatie....etc). Elles sont tous incrustées dans la gélose, possédant un mycélium végétatif surmonté d'un mycélium aérien de couleurs différentes (transparente, jaune, blanche, marron...etc).

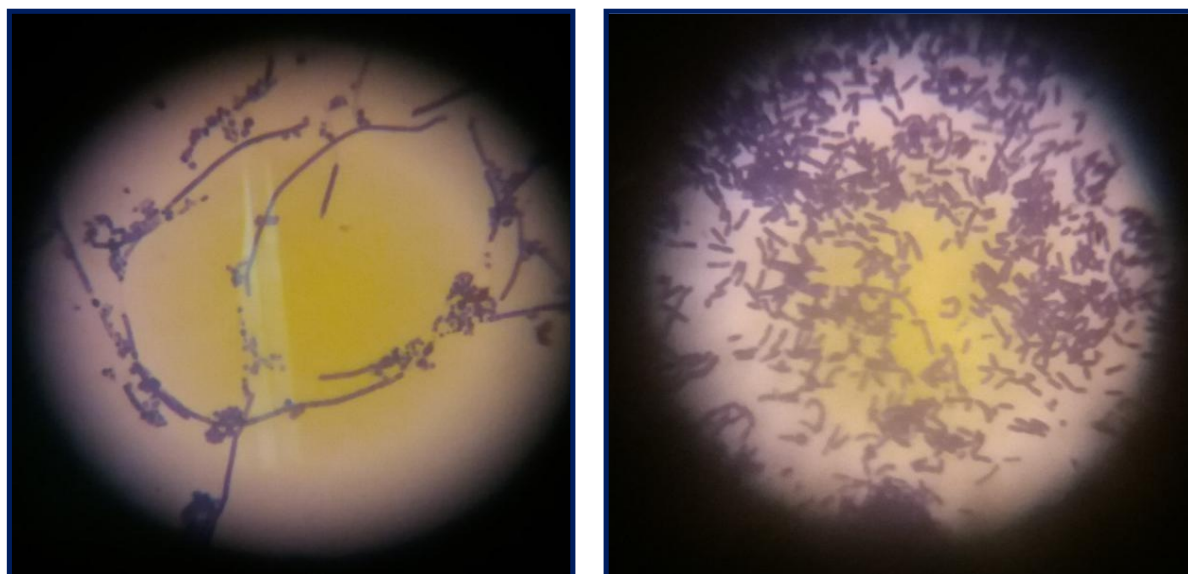
Les caractères cultureux des souches les plus représentatives sont regroupées dans le **tableau N°06.**

Tableau N°06 : Caractères cultureux des isolats les plus représentatifs.

Isolat	Echantillon	Caractères macroscopiques
A10	E1	<ul style="list-style-type: none"> • Colonies de taille moyenne à masse sporale de couleur blanche • Forme irrégulière, à surface plate et au centre surélevé • Les colonies sont opaques d'aspect muqueux
A11	E1	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie de taille moyenne à couleur jaune • Forme ronde, bombée à contour régulier, d'aspect crémeux
A17	E1	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie de petite taille, ronde, à masse sporale jaune blanchâtre • Forme ronde, plane, à contour régulier, d'aspect poudreux
A19	E1	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie de petite taille et de couleur blanche brillante • Colonies punctiformes, planes, d'aspect muqueux
B10	E2	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie de petite taille, de couleur beige • Colonies circulaires, bombée à contour irrégulier, d'aspect poudreux
S5	E2	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie de taille moyenne et de couleur orange • Forme circulaire, plane, à contour irrégulier, d'aspect crémeux
S4	E2	<ul style="list-style-type: none"> • Colonie de petite taille et de couleur jaune • Forme circulaire, bombée à contour régulier, incrustée dans la gélose

2.2. Aspect microscopique des actinomycètes

D'après la coloration de Gram, l'observation microscopique montre que la plupart des souches d'actinomycètes isolées et purifiées sont des bactéries filamenteuses à coloration de Gram positive comme le montre la **Figure N°10**. Les résultats sont photographiés à l'aide d'un appareil photographique numérique de marque **Canon Power Shot A1400 8 × Zoom**. Les actinomycètes se présentent sous forme de filaments fins, ramifiés et enchevêtrés, ces filaments se fragmentent pour certains ou pas pour d'autre en élément bacillaires ou ovoïdes. Il est signalé après ces résultats, que les travaux sur l'isolement des actinomycètes sont un peu spéciaux, en effet, il ne faut jamais écarter certaines colonies sous prétexte que l'aspect macroscopique ne ressemble pas aux actinomycètes. Il est impératif d'abord, de réaliser une observation microscopique après coloration de Gram.



(A)

(B)

Figure N°10 : Aspect microscopique de la souche 'E1 A15' et 'E1 A23' après coloration de Gram (Gx100).

A) Aspect filamenteux du mycélium de la souche 'E1 A15' ; B) fragmentation du mycélium en éléments bacillaires de la souche 'E1 A23'.

3. Mise en évidence de la capacité des actinomycètes à utiliser quelques pesticides comme seule source de carbone et d'énergie.

A partir des 66 souches actinomycétales isolées et purifiées, nous avons sélectionné 20 souches sur la base de leurs caractères morphologique pour la poursuite de notre travail. La capacité de croissance des isolats d'actinomycètes a été mise en évidence sur le milieu minimum de Vendermess additionné des pesticides : Akopic 240 EC, Duoplus, Glyphosate, Hexonate, Lancelot 450 WG et le Monuron comme seule source de carbone et d'énergie. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **tableau N°07**. L'incapacité de dégrader ces pesticides se traduit par l'absence de croissance. Dans le cas contraire, les souches présentant une bonne croissance.

Tableau N°07 : Mise en évidence de la capacité des isolats à utiliser quelques pesticides comme seule source de carbone et d'énergie.

Pesticides Souches	MM+ Isolat Temoin⁺	MM+ Pesticide Temoin⁻	MM+ Akopic 240 EC	MM+ Duoplus	MM+ Glyphosate	MM+ Hexonate	MM+ Lancelot 450 WG	MM+ Monuron
E1 A10	-	-	+/-	+/-	++	++	++	+/-
E1 A11	-	-	+/-	+/-	+	+	+	+/-
E1 A17	-	-	-	-	+/-	+/-	-	+/-
E1 A19	-	-	-	-	+	+/-	++	-
E2 B9	-	-	+/-	-	+	+/-	+/-	+/-
E2 B10	-	-	-	-	-	-	-	-
E2 B11	-	-	-	-	-	-	-	-
E2 B12	-	-	-	-	-	-	-	-
E2 B13	-	-	-	-	-	-	-	-
E2 B14	-	-	-	-	-	-	-	-
E2 B15	-	-	-	-	+/-	-	+	-
E1 A20	-	-	+/-	-	+/-	-	+/-	-
E1 A21	-	-	-	-	++	+	++	+/-
E1 A22	-	-	-	-	+	+	+	+/-
E1 A23	-	-	-	-	+/-	+/-	-	-
E1 A24	-	-	-	-	+/-	-	+/-	-
E2 S6	-	-	-	-	++	-	-	++
E2 S4	-	-	-	-	++	+/-	-	+
E2 SS3	-	-	++	-	++	-	-	++
E2 S5	-	-	-	-	++	-	-	++

(++) : Bonne croissance. (+) : croissance modérée. (+/-) : croissance faible. (-) : absence de croissance.

Nous constatons que seuls les isolats E1 A10 et E1 A11 soit 10% des souches testées, ont pu croître sur le milieu minimum additionné du fongicide Duoplus, (**figure N°10**). Ce résultat montre que les deux matières actives à savoir (Difénoconazole et Propiconazole) sont difficile à biodégrader ensemble. D'après la littérature, dans le sol, ces deux molécules ont une demi-vie dans les conditions aérobies de 103 à 1600 jrs en anaérobie elle est de 679 à 947 jrs. Ils sont par conséquent considérés comme étant très persistants. Dans les milieux aquatiques, le Duoplus est également très persistant en conditions aérobies (avec une demi-vie de 307 à 494 jrs) et en milieu anaérobie (elle est de 411 jrs) (**Site web 3**).

En ce qui concerne le glyphosate, nous observons que 75% des souches testées ont pu croître sur le milieu minimum additionné de cet herbicide dont 30% des souches présente une bonne croissance (E1A10, E1A21, E2S4, E2S6, E2SS3) 20% (E1A11, E1A19, E2B9, E1A22) présentent une croissance modérée et 25% (E1A17, E1A15, E1A20, E123, E1A24) présentent une faible croissance (**figure N°11**). La capacité des isolats à dégrader un pesticide prouve que les souches sont capables de produire les enzymes responsables de sa biodégradation.

Pour l'herbicide Akopic 240 EC : 20% des souches (E1 A10, E1 A11, E2 B9 et E1 A20) présentent une faible croissance et seulement 5% (E2 SS3) présentent une bonne croissance. 75% des souches ne présentent aucune croissance sur le milieu minimum additionné de cet herbicide (**figure N°12**).

Pour le fongicide Hexonate, 5% des souches (E1 A10) présentent une bonne croissance, 15% (E1 A11, E1 A21 et E1 A22) présentent une croissance modérée, alors que 25% (E1 A17, E1 A19, E2 B9, E1 A23 et E2 S4) présentent une faible croissance sur le milieu minimum additionné de ce fongicide (**figure N°13**).

Pour l'herbicide Lancelot 450 WG : 15% des souches (E1 A10, E1 A19, E1 A21) présentent une bonne croissance, 15% (E1 A11, E2 B5 et E1 A22) présentent une croissance modérée alors que 15% (E2 B9, E1 A20 et E1 A24) présentent une faible croissance sur le milieu minimum additionné de cet herbicide (**figure N°14**).

Pour l'herbicide Monuron : 15% des souches (E2 S6, E2 SS3, E2 S5) présentent une bonne croissance, 5% (E2 S4) présente une croissance modérée, alors que 30% (E1 A10, E1 A11, E1 A17, E2 B9, E1 A21 et E1 A22) présentent une faible croissance sur le milieu minimum additionné de cet herbicide (**figure N°15**).

À partir de ces résultats, on peut constater que l'herbicide Glyphosate est le plus dégradé (**figure N°16**), suivis par l'herbicide Monuron ensuite le fongicide Hexonate et l'herbicide lancelet 450 WG, puis l'herbicide Akopic 240 EC et en fin le fongicide Duoplus (avec une très faible dégradation, il est le moins dégradé) (**figure N°17**).

Il est à signaler par ailleurs que 25% des isolats (E2 B10, E2 B11, E2 B12, E2 B13 et E2 B14) n'ont pu croître sur aucun des six pesticides testés dans cette étude. Ce résultat montre que les enzymes de biodégradation de ces pesticides sont absents chez ces isolats.

Il est à noter également, que les souches (E1 A10 et E1 A11) sont les seules qui ont montrées une aptitude à dégrader les 6 pesticides. Ces deux actinomycètes méritent d'après nous une attention particulière car nous avons là, deux candidats très prometteurs qui peuvent être utilisé dans la bioremediation des sols pollués par ces pesticides.

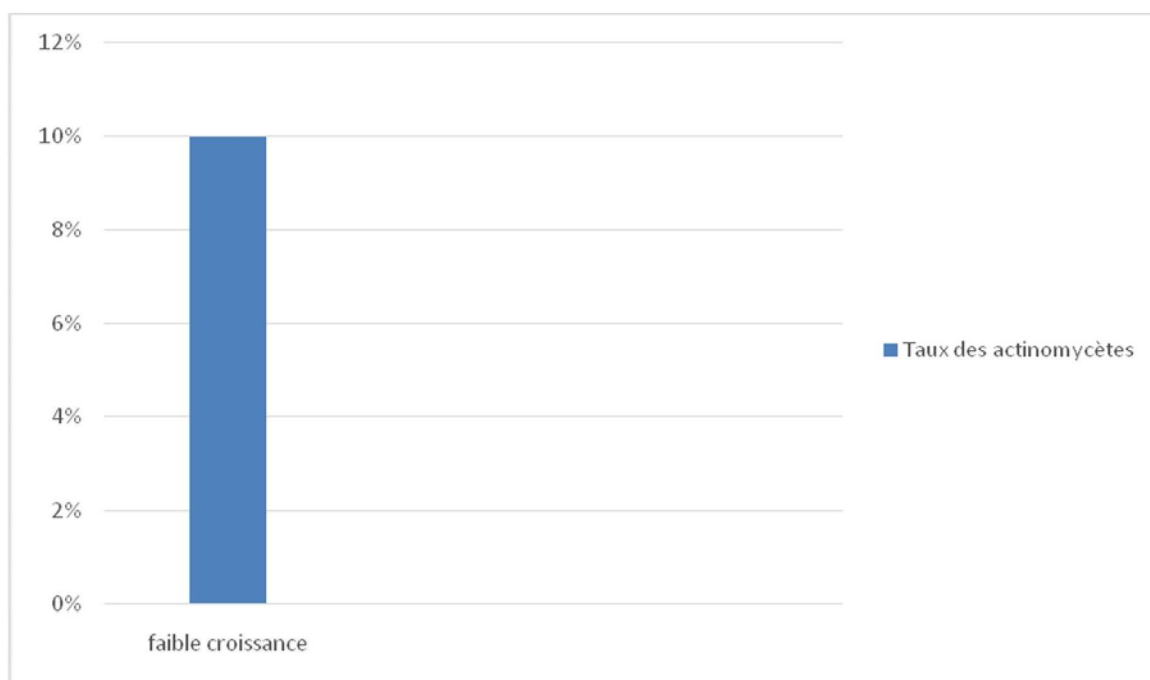


Figure N°10 : Pourcentage des isolats capable de biodégrader le Duoplus.

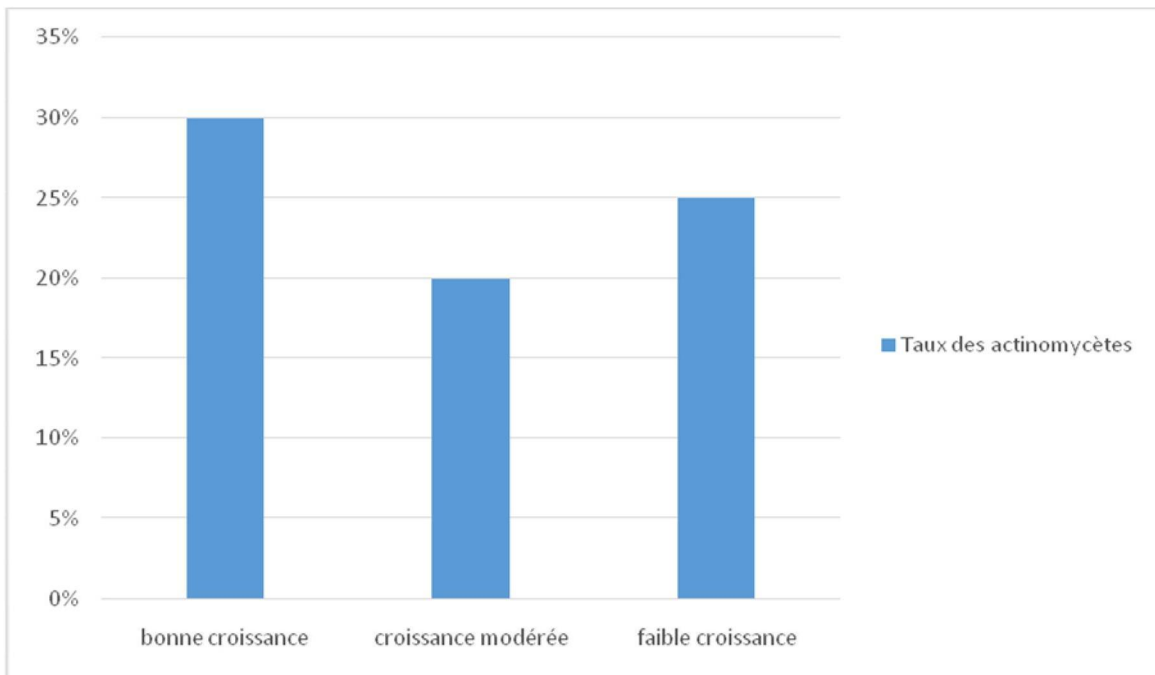


Figure N°11 : Pourcentage des isolats capable de biodégrader le Glyphosate.

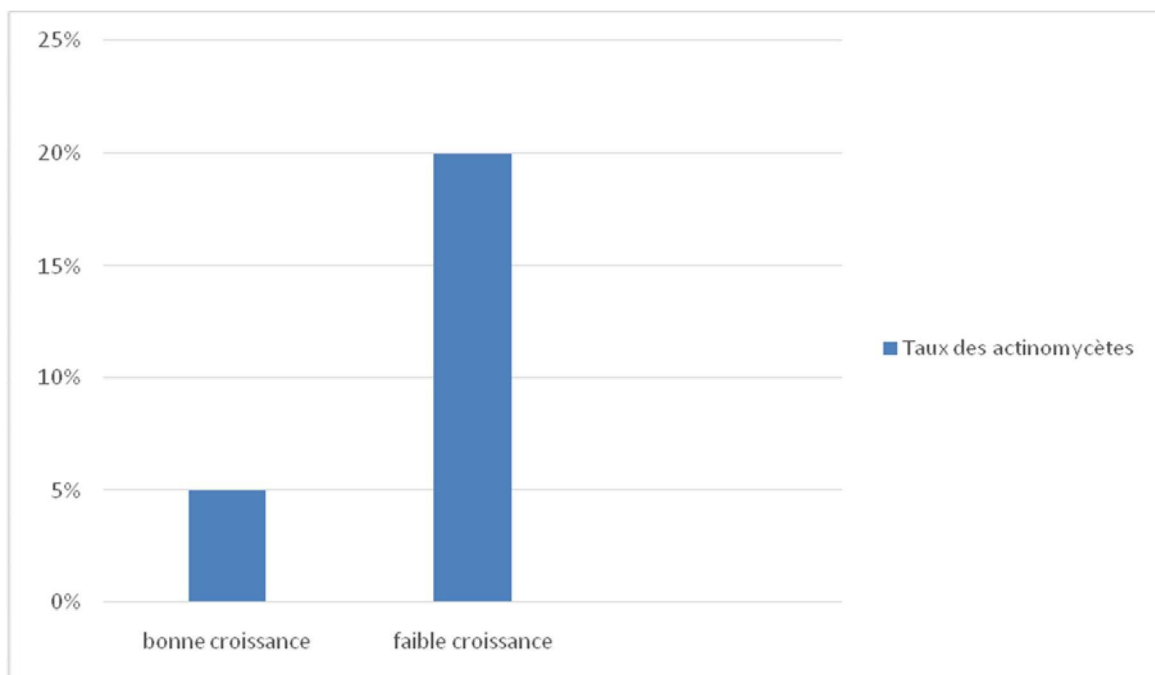


Figure N°12 : Pourcentage des isolats capable de biodégrader l'Akopic 240 EC.

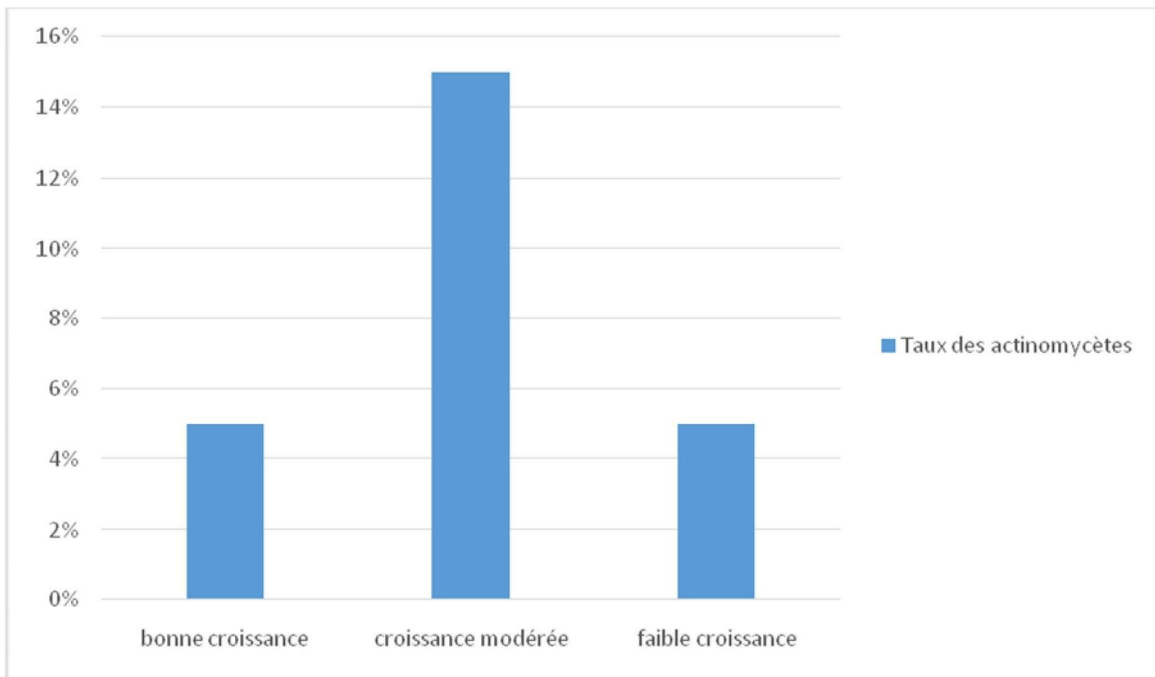


Figure N°13 : Pourcentage des isolats capable de biodégrader l'Hexonate.

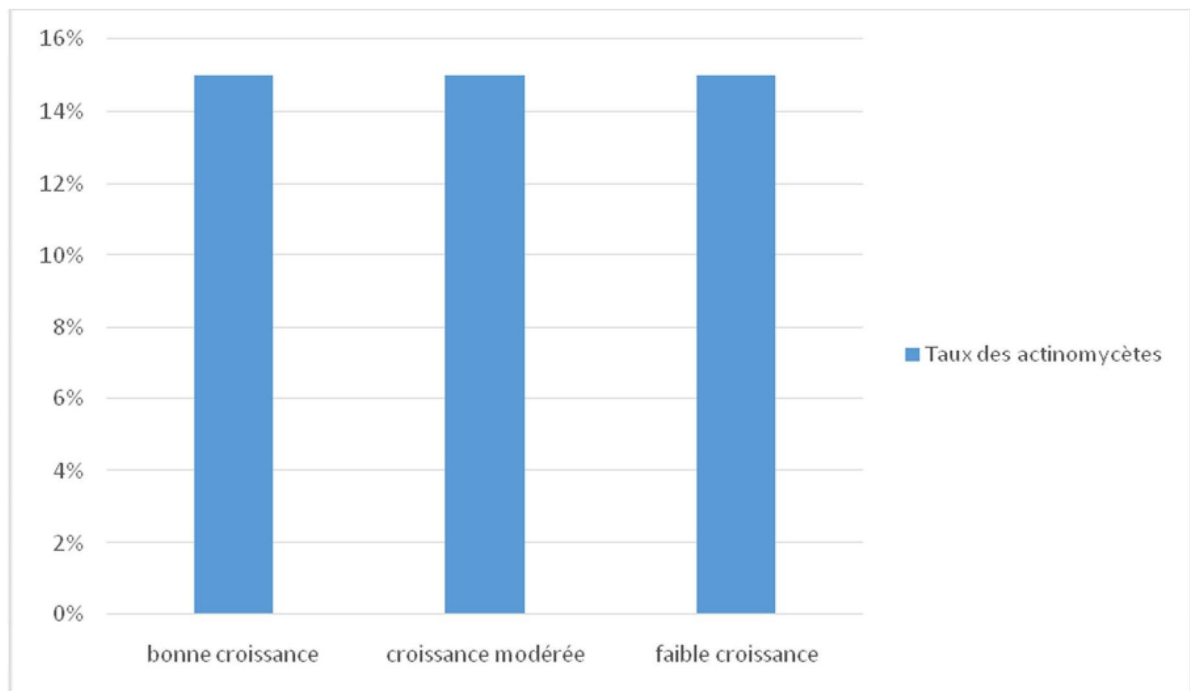


Figure N°14 : Pourcentage des isolats capables de biodégrader le Lancelot 450 WG.

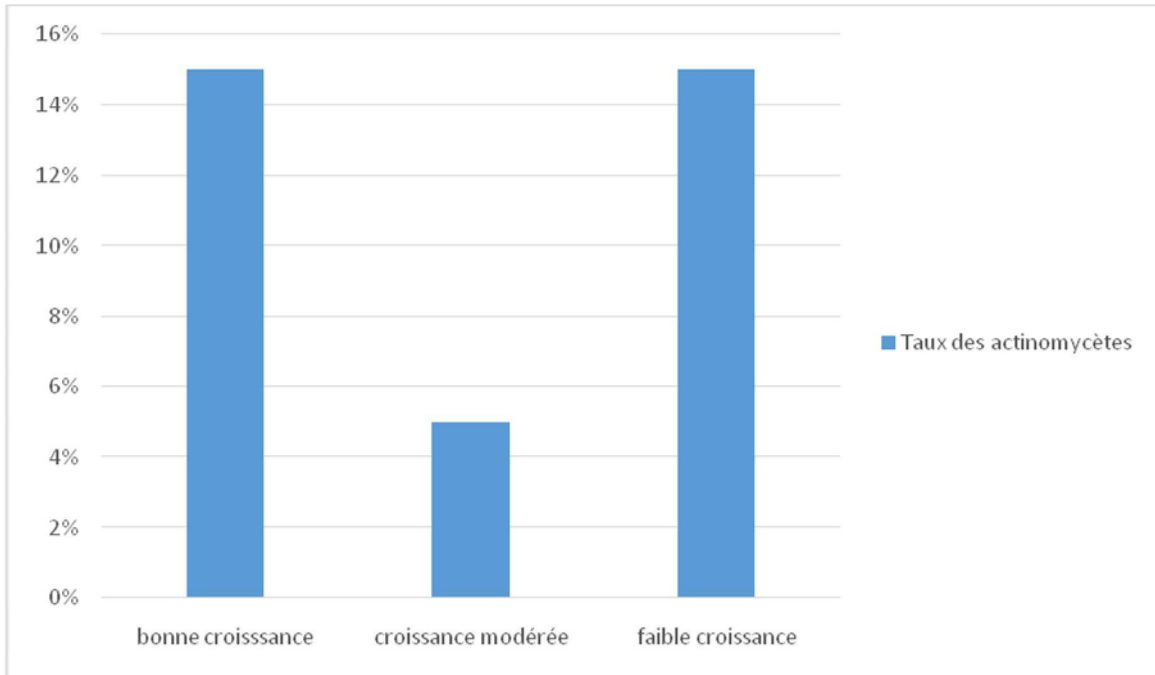


Figure N°15 : Pourcentage des isolats capables de biodégrader le Monuron.

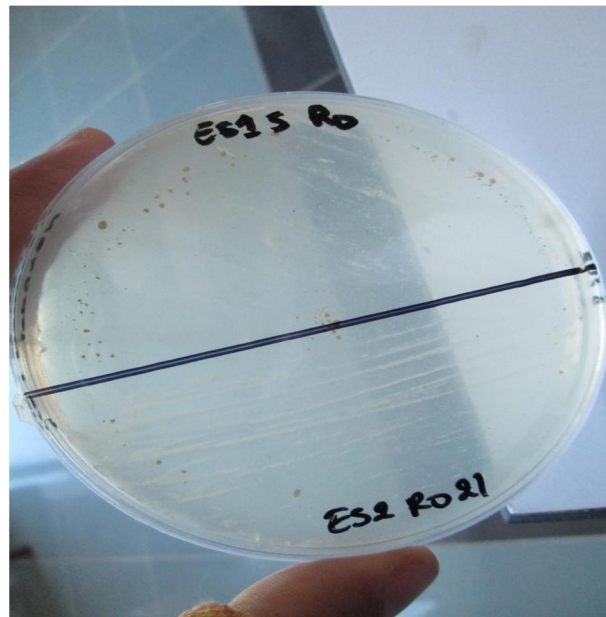


Figure N°16 : Résultat positif de la biodégradation du Glyphosate par la souche E1 A10 et E1 A11.

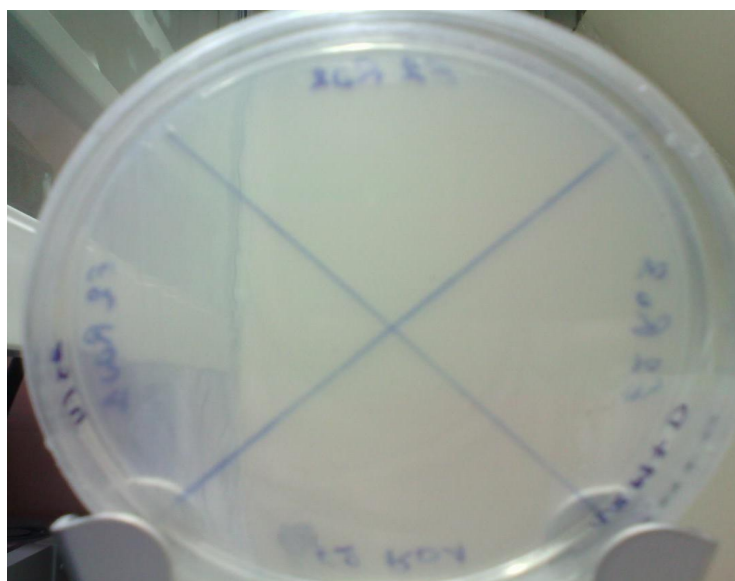


Figure N°17 : Résultat négatif de la biodégradation du Duoplus.

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

Notre travail est basé sur deux objectifs : le premier consiste en l'isolement des actinomycètes à partir de deux écosystèmes extrêmes (sol arides, sebkha) de la région d'El-Oued, le deuxième est la mise en évidence de la capacité des actinomycètes isolés à utiliser 6 pesticides comme seule source de carbone et d'énergie. 66 souches actinomycétales ont été isolées sur milieu ACA à partir de ces deux sites. Parmi elles, 20 ont été sélectionnés pour tester leur aptitude à utiliser ces pesticides. Les testes de biodégradation ont été effectués sur un milieu minimum complètement exempt de source de carbone, additionné de chaque pesticide. Les résultats montrent que 75% des actinomycètes sélectionnés ont dégradés l'herbicide Glyphosate, 25% ont pu dégrader l'herbicide Akopic 240 EC, 45% ont dégradés le fongicide Hexonate, 45% ont dégradé l'herbicide lancelet 450 WG, et 50% ont pu dégrader l'herbicide Monuron. Tandis que 10% seulement d'entre eux ont pu dégrader le fongicide Duoplus. Dans nos résultats apparait également que deux isolats d'actinomycètes E1 A10 et E1 A11 sont les seules qui ont montrées une aptitude à dégrader les 6 pesticides.

Ces résultats indiquent que les actinomycètes présents dans les sols sahariens peuvent être des acteurs très efficaces contre les problèmes de pollution par ces pesticides. Ces bactéries, peuvent par conséquent être utiliser comme des agents de dépollution dans les sols contaminés par ces pesticides. Nous soulignons surtout l'aptitude et le grand potentiel que les deux isolats E1 A10 et E1 A11 possèdent, en dégradant l'ensemble des pesticides testés. Ces deux souches peuvent d'être utilisés en bioremédiation des sites Sahariens pollués par ces pesticides largement utilisés en Algérie, ou servir comme agents de bioaugmentation dans les autres sites telluriques.

Nous souhaitons dans l'avenir, étudier *in vitro*, les cinétiques de dégradation des pesticides par ces deux souches actinomycétales actives. Il serait indispensable également de les identifier par méthodes moléculaire. Nous espérons étudier leur potentiel physiologique et adaptatif.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Adegboye M. F., Babalola O. O., (2012).** Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. *African Journal of Agricultural Research*. 7. N° 15. 2255-2261.
- Aissaoui A., (2013).** Evaluation du niveau de contamination des eaux de barrage de hammam Grouz de la région de Oued El-Athmania (Willaya de Mila) par les activités agricoles. Thèse de Magistère en Ecologie Végétale appliquée et gestion de l'environnement. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. 85p.
- Alauzet C., (2009).** Taxonomie des bactéries anaérobies : de la reclassification à la découverte de nouveaux pathogènes. Thèse de doctorat: université Nancy. 348p.
- Alexander M., (1994).** Biodégradation and Bioremediation. Academic Press, New York (USA).
- Arias E. M., Lopez P. E., Martinez C. E., Simal G. J., Merut J. C., Garcia R. L., (2008).** The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. **123**:247-260.

B

- Baldacci, E. (1962).** Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. *Ann Soc Belge Méd Trop*, 4 : 633–646.
- Barriuso E., Mamy L., Gabrielle B., (2011).** Impact sur l'environnement des herbicides utilisés dans les cultures génétiquement modifiées. *Courrier de l'environnement de l'INRA*, mai 2011. 60 : 17-18.
- Basilio A., Gonza' lez I., Vicente M.F., gorrochategui J., Cabello A., Gonza'lez A. and Genilloud O., (2003).** Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *Journal of Applied Microbiology*, 95. 814-823.
- Beckers. h. J. A. Van Der Hoeven. J. S. (1982).** Growth Rates of *Actinomyces viscosus* and *Streptococcus mutans* During Early Colonization of Tooth Surfaces in Gnotobiotic Rats. *Infection and immunity*. 35.N°2. 583-587.
- Belfarhi L., (2011).** Les effets de la pollution atmosphérique sur les maladies respiratoires à Annaba. Thèse de magistère en Physiopathologie cellulaire. Université des Frères Mentouri Constantine. 60p.
- Belyagoubi L. (2014),** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat en substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèse. Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen. 170p.
- Boughachich F., (2012).** Étude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre *Streptomyces*, isolées de Sebkh. Thèse doc : Université Mentouri- Constantine. Pp : 150.

Boland Jeroen, IreneKoomen, Joep van Lidth de Jeude, Jan Oudejans, (2004). Les pesticides : composition, utilisation et risques. Fondation Agromisa, Wageningen, Pays Bas.

Boudemagh A., (2007). Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse doc en microbiologie appliqué : Université Mentouri Constantine.144p.

Boudemagh A. et Hocinat A., (2016). Biodegradation of commercial Ortiva fungicide by isolated actinomycetes from the activated sludge. *Desalination and Water Treatment* 57/13: 6091-6097.

Boucheffa K., (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques : Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits. Thèse MagisterEn microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes. Université Abderrahmane Mira Bejaia.90p.

Burman N.P., (1973). The occurrence and significance of actinomycetes. In: *Actinomycetales. Characteristics and practical importance*. Academic Press (Ed).219-230.

C

Calvet R., E. Barriuso, C. Bedos, P. Benoit, M.-P. Charnay, Y. Coquet (2005). Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales ; 2005, Edition France AGRICOLE. 637 p.

Capkin E., AltinokI., KarahanS.,(2006).Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere* 64:1793–1800.

Colin F., (2000). Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires, cas de l'atrazine dans le bassin versant du Sousson(Gers, France), Thèsede doctorat, Unité de recherche mixte :CEMAGREF-ENGREF « Structures et Systèmes Spatiaux », Montpellier, ,France.274p.

Conrad J. E., Colvin C., Sililo O., GörgensA., Weaver J., ReinhardtC., (1999). Assessment of theImpact of Agricultural Practices on the Quality of Groundwater Resources in South Africa. WaterResearch Commission, Pretoria, South Africa. Report 641/1/99.86p.

D

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

Demain, A.L., Solomon N.A., (1985). Biology of industrial microorganisms. *The Benjamin/Cummings publishing company, Inc.* pp 291–357.

- Deviller J., Farret R., Girardin P., Rivière J.-L., Soulas G., (2005).** Indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides. Edition Tech & Doc, Londres, Paris, New York. **P. 11.**
- Dgigal. D., (2003).** Interaction entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactérivores: effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse doc : université Cheikh Anta Diop De Dakar. Pp : 157.
- Djabellah C., (2010).** Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha d'Ain M'Lila. Thèse de Magister en Ecologie Microbienne. Université Mentouri Constantine.
- Dor F., (2006).** Pollution des sols et santé publique. *Archive des Maladies Professionnelles et de l'Environnement.* 40-48. Editions Masson, Paris.

E

- El-Azzouzi E., (2013).** Processus physico-chimiques d'élimination des pesticides dans l'environnement : Cas de l'Imazéthapyr. Thèse de Doctorat en chimie physique. Université mohammed V- Agdal.Maroc. 108p.
- El-Mrabet K., Charlet P., (2008).** Les pesticides. Laboratoire National de métrologie et d'Essai 'LNE', Janvier 2008. France.

F

- Fan I., Zheng J., Yang X., (2010).** The effect of natural air-dry time on actinomycetes Isolation from sample soil. *Journal of Hainan Medical University.*
- FaurieC., Erra C., Médorie P., Devane J., Remptime J. L. (2003).**Écologie, approche scientifique et pratique. 5^{ème}édition LAVOISIER. 823p.
- FrançoisR., (2000).** Dictionnaire encyclopédique de la pollution. Edition internationale. Paris. 755p.
- François R., (2002).** Dictionnaire encyclopédique d'écologie et de science de l'environnement. 2^{ème}édition DUNOD. Paris. 704p.

G

- Garrity G.M., Bell J.A. et Lilburn T.G., (2004).** Taxonomic Outline of the prokaryotes. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Second Edition. Springer-Verlag. New York.
- Gayathri A., Madhanraj P. et Panneerselvam A., (2011).** Diversity, Antibacterial Activity And Molecular Characterization of Actinomycetes Isolated From Salt Pan Region of Kodiakarai, Nagapattinam DT. *Asian J. Pharm. Tech.* 1. N° 3 :79-81.
- George M., George G., Hatha M.A.A., (2010).** Diversity and antibacterial activity of actinomycetes from wetland soil. *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences.*28: 52-57.
- Gilli E., Mangan C., Mudry J., (2004).**Hydrogéologie : objets, méthodes et applications. Editions

DUNOD. Paris. 352 p.

Goodfellow M., Williams S.T., (1983). Ecology of Actinomycètes. *Annual Review of Microbiology*.37: 189-216.

Grosclaude G.C., (1999). L'eau, Tome II, usage et polluants, Institut national de la recherche agronomique. Paris, France.210p

H

Haslay C., Leclerc H.,(1993). Microbiologie des eaux d'alimentation. Editions Lavoisier TEC &DOC.France.

Hawker L.E.,et Linton A.H., (1971). *Micro-organismes*. 325-333.

Hayakawa M., Ishizawa K., and Nonomura H. (1988). Distribution of rare actinomycetes in Japanese soils. *Journal of Fermentation Technology*. 66 : 367–373.

Hilali L., Khatabi A., Nassrallah N., Malki A. et finance C., (2002). Isolement des nouvelles souches actinomycétales productrices de substances antifongiques à partir d'un milieu naturel marocain. *Revue .Biol .Biotech*. 2, 49-53.

Hop D.V., Sakiyama Y., Binh C.T.T, Otaguro M., Hang D.T., Miyadoh S., Luong D.T. and Ando K. (2012). Taxonomic and ecological studies of actinomycetes from Vietnam: isolation and genus-level diversity. *The Journal of Antibiotics*. 64: 599–606.

Horinouchi S., (2002). Antimicrobial hormone, A-factor, as a master switch for morphological differentiation and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*. *Frontiers in Biosciences*.7: 2045-2057.

I

Iarc, (1991). *IARC MONOGRAPHS*. 53 :467-480.

Isenring R., (2010). Les pesticides et la perte de la biodiversité. *Pesticide Action Network Europe*. 5-8.

J

Jakimowicz D.,(2007). Chromosome segregation and cell division during the growth and differentiation of *Streptomyces*. *Postepy Higieny Medycyny Doswiadczalnej*. 61: 565-575.

K

Kalyani A.L.T, Ramya Sravani K.M., Annapurna J.B.,(2012). Isolation and characterization of antibiotic producing actinomycetes from marine soil samples. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 4. N°: 2. 109-112.

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).

Khanna M., Solanki R. and Lal R., (2011). Selective isolation of rare actinomycetes producing novel antimicrobial compounds. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 2. N°3. 357-375.

Kitouni M., (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystème extrême. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de doctorat d'état en Microbiologie appliquée. Université des frères Mentouri Constantine. 170p.

Kurtbaeke D.I. and Wildman H.G. (1998). Accessing Australian biodiversity, towards an improved detection of Actinomycetes. **9 (1-2)**, 10-13.

L

Labeda D.P., Kroppenstedt R.M., (2000). Phylogenetic analysis of *Saccharothrix* and related taxa: proposal for *Actinozynnzmataceae* from. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **50**, 331-336.

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., Larpent G.M., (1990). Memento technique de Microbiologie. Editions *Tec. & Doc.* Lavoisier.

Larpent J.P., Sanglier J.J., (1989). Biotechnologie des antibiotiques. Editions Masson. Paris, 481p.

Lechevalier M.P., Bievre C.D., Lechevalier H., (1977). Chemotaxonomie of aerobic Actinomycetes : phospholipides composition. *Biochemical Systematics and Ecology*, 5(4): 249–260.

Lechevalier M.P., Lechevalier H., (1985). Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces*. *Biology of industrial microorganisms*. The Benjamin Cummings Publishing Company, INC. pp 315–360.

Lee. J. Y., Hwang. B. K., (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology* 48: 407–417.

Lefebvre. T. (2008). Associations biologiques entre les termites du genre *Nasutitermes* et leur microflore actinomycétale: spécificité et évolution. Thèse doc : Ecole doctorale Science de la Vie et de la Santé : Paris. Pp : 168.

Lemercier B., (2003). La pollution par les matières phosphorées en Bretagne. Sources, transfert et moyennes de lutte. Direction régional de l'environnement, Bretagne. **P. 85.**

M

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

Maison de la consommation et de l'environnement, (2003). Les pesticides réglementation et effets sur santé et l'environnement. Rennes, **p. 2, 30.**

Margni M., Rossier D., Crettaz P. & Jolliet O., (2002). Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. **93 (1-3): 379-392.**

Mariat F., Sebald M., (1990). Actinomycétales. In: Le Minor. L., Véron M. Bactériologie médicale. *Medecine-Sciences*. Flammarion. France. Deuxième partie : **933-999.**

Meklat A., Sabaou N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., (2011). Halophilic Actinomycetes in Saharan Soils of Algeria: Isolation, Taxonomy and Antagonistic Properties. *Applied Environmental Microbiology* 77(18) Pp : 6710-4.

Messoudi O., (2003). Contribution à la caractérisation des souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkhia de Kenadsa (Bechar). Thèse de Magistère en Microbiologie Appliquée. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. 78p.

Mukesh S., (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. *International Journal Current Microbiology and Applied Sciences* (2014) 3(2): 801-832.

N

Nonomura H., Hayakawa M., (1988). New methods for selective isolation of soil actinomycetes, dans « *biology of Actinomycetes* ». Japon Scientific Societies Press. Tokyo. (Ed). 88-100.

O

Okami Y., Hotta K., (1988). Search and discovery of new antibiotics, In: Goodfellow M, Williams ST, Mordarski M (Ed). *Actinomycetes in Biotechnology*. Academic Press, Inc., San Diego, 33-67.

Omura S. (1992). The search for bioactive compounds from microorganisms. Ed: Springer Verlag, New York. Inc. pp 281-303.

Otto. H.J., (1998). Écologie forestière. Institut pour le développement forestier : Paris. Pp : 397.

Ouhdouch Y., (1989). Bactéries actinomycétales rares productrices d'antifongiques. Thèse de Doctorat. Nancy.

P

Pelmont J., (2005). Biodégradations et métabolismes : les bactéries pour les technologies de l'environnement. EDP Sciences : Grenoble. Pp : 798 pages.

Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., (2010). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 3eme édition Pp : 1088.

Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A. (2003). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp : 1164.

R

RangaswamiG., BagyarajD.J.,Bagyaraj D.G., (2004).*Agricultural Microbiology.* PHI: New Delhi. Pp: 440.

Rastogi B.V., Kishore B., (1997). A Complete Course in ISC Biology. Pitambar Publishing: New Delhi. Pp: 592.

Reghioua S., Boughachiche F., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A., Boulahfrouf A., (2008).Separation et caracterisationpreliminaire d'antibiotiques produits par une souche representative d'actinomycetes isoles de sol aride de la region de Biskra. *Sciences & Technologie.* N°28,59-64.

Regnault-Roger Catherine (2014).Produits de protection des plantes, innovation et sécurité pour une agriculture durable. Edition Lavoisier, Paris.

S

SabaouN.,(1988). Contribution à l'étude des actinomycètes des sols des palmeraies algériennes : systématique et écologie. Thèse doc : USTHB. Pp : 192.

Schrack D., Coquil X., Ortar A., Benoit M., (2009).Rémanence des pesticides dans les eaux issues de parcelles agricoles récemment converties à l'agriculture biologique. *Innovations Agronomiques.* 4: 259-268.

Schofield G.M. and Schaal K.P. (1981). A numerical taxonomic study of members of the *Actinomycetaceae* and related taxa. *J. Gen. Microbiol.* **121**, 237-259.

Sharma D., Kaur T., Chadha B.S., Manhas R.K., (2011). Antimicrobial Activity of Actinomycetes against Multidrug Resistant Staphylococcus aureus, *E. coli* and Various Other Pathogens. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* December. 10. N° 6: 801-808.

ShuklaG.,(2010).Soil Enzymology. *Springer:* Berlin. Pp: 384.

Silini S., (2012). Contribution à l'étude de la biodégradation de la méthyléthylcétone en réacteur batch par les actinomycètes isolés à partir des boues activées de la station d'épuration d'El-Atmania. Thèse de Magister en écologie option : Gestion des déchets : évaluation et solution environnementales. Université des frères Mentouri Constantine. 101p.

Smaoui S.,(2010). Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France. 251p.

Sykers F., Skinner G., (1973). Actinomycetales: characteristics and practical importance. *Academic Press*. London. New York.

Solanki P. & Kothari V., (2011). Halophilic Actinomycetes: Salt-loving Filaments. *International Journal of Life Sciences and Technology* (2011). 4 Issue 2:7-13.

Srinivasan M.C., Laxman R.S. and Deshpande M.V. (1991). Physiology and nutritional aspects of actinomycetes: an overview. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 7,171-184.

Stackebrandt E. and Schumann P. (2000). Description of *Bogoriellaceae* fam. Nov., *Dermacocaceae* fam. Nov., *Rarobacteraceae* fam. Nov. and *Sanguibacteraceae* fam. Nov. and demandation of some families of the suborder *Micromcoccineae*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 50,1279-1285.

Stackebrandt E. Rainey F.A. and Ward-Rainey N.L. (1997). Proposal for a new hierarchical classification system, *Actinobacteria* classis nov *International Journal of Systematic Bacteriology*. 47, 479-491.

T

Takizawa M., Colwell R.R., Hill R.T., (1993). Isolation and diversity of Actinomycetes in the Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 997-1002.

Thakur D., Yadav A., Gogoi B.K., et Bora T.S., (2007). Isolation and screening *Streptomyces* in soil from areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. *Journal of Microbiology. Médi.*, 17 : 242-249.

V

Van der Perk, M., (2006). Soil and water contamination, Taylor & Francis groupplc. London, UK.

Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G.F., Chater, K.F., vanSinderen, D. (2007). Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(3): 495–548.

W

Williams S. T., Locci R., Beswick A., Kurtboke D. I., Kuznetsov V. D., Le Monnier F. J., Long P. F., Maycroft K. A., palma R. A., Petrolini B., Quaroni S., Todd J.I. and West M.(1993). Detection and identification of novel actinomycetes. *Microbiology*. **144**, 653-656.

Winn W. C., Koneman. E. W. (2006). Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Lippincott Williams & Wilkins: Washington. Pp: 1565.

X

Xu L. H., Li Q.R. and Jiang C.L. (1996). Diversity of soil Actinomycetes in Yuman, China. *Applied and Environmental Microbiology*. **62 (1)**, 244-248 In : « Identification des *Actinomycetales* Isolés de Sols Arides.

Z

Zhi, X.Y., Li, W.J., Stackebrandt E. (2009).An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,59 (Pt 3): 589–608.

Sites web :

Site web 1 : **H.A. LECHEVALIER**, « ACTINOMYCÈTES », *Encyclopædia Universalis*[en ligne], consulté le 14 mars 2016. [URL:http://www.universalis.fr/encyclopedie/actinomycetes/](http://www.universalis.fr/encyclopedie/actinomycetes/)

Site web 2: http://www.dictionnaire-environnement.com/pollution_de_eau_ID1033.html.

Site web 3: <http://www.sagepesticides.qc.ca/Recherche/resultats.aspx?Search=matiere&ID=122>

Annexes

Annexe 1

Composition des milieux de culture et solutions utilisées

Amidon-caséine

Amidon	10g
Caséine	1g
K ₂ HPO ₄	0.5g
Agar	15g
Eau distillée qsp	1000ml

pH= 7,3

Eau physiologique

NaCl	9g
Eau distillée qsp	1000ml

Milieu minimum: (Vandermess, 1996)

KNO ₃	13, 76 g/l
KH ₂ PO ₄	1, 78 g/l
Na ₂ HPO ₄ , 2H ₂ O	4, 66 g/l
Na ₂ SO ₄	9, 68 g/l
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0, 8 g/l
EDTA	10 mg/l
FeSO ₄ , 7H ₂ O	5 mg/l
MnCl ₂ , 4H ₂ O	1, 22 mg/l
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	0, 25 mg/l
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0, 2 mg/l
CaCl ₂ , 2H ₂ O	1 mg/l
Na ₂ MoO ₄ , H ₂ O	0, 2 mg/l

pH = 7

Annexe 2

Tableau N°01 : Propriétés de l'herbicide Glyphosate

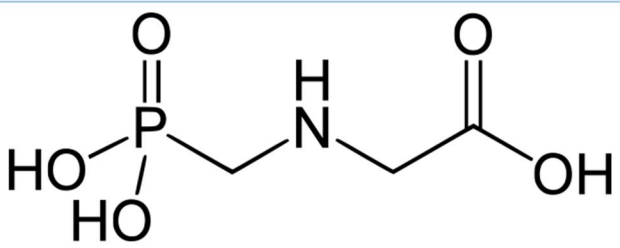
Nom	N-(phosphonométhyl)glycine.
Nom commercial	Glyfozell 36 SL, Glyfonut, Herbasate
Matière active	Glyphosate
Concentration	360g/l
Structure chimique	
Formule brute	C ₃ H ₈ NO ₅ P
Etat physique	Liquide
Usage	Herbicide
Dose utilisée	4-6 l/ha
Propriétés physico-chimiques :	Valeurs :
Masse molaire	169,0731 g/mol
Température de fusion	230°C (décomposition)
Température d'ébullition	230°C (décomposition)

Tableau N°02 : Propriétés de l'herbicide Monuron

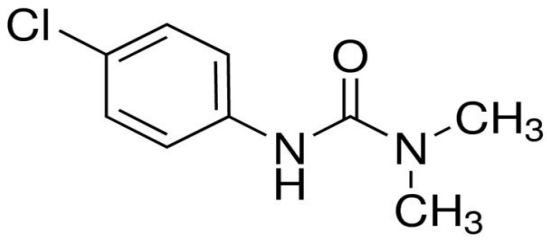
Nom chimique :	3-(4-Chlorophenyl)-1,1-dimethylurea
Formule brute	C ₉ H ₁₁ CLN ₂ O
Structure chimique	
Usage	Herbicide
Propriétés physico-chimiques :	Valeurs :
Etat physique	Solide cristallin
Odeur	Inodore
Couleur	Blanc
Masse moléculaire	198,65
Densité	1,27g/ml à 20°C
Solubilité dans l'eau	0,2g/l à 20°C
Point de fusion	170°C
Inflammabilité	Ininflammable

Tableau N°03 : Propriétés de l'herbicide Lancelot.

Identification du produit :	Valeurs :
Etat	Granulées
Type du produit	Granulés dispersibles dans l'eau 'WG'
Usage	Herbicide
Matière active	Aminopyralide + florasulam
Concentration	300g/ kg + 150g/kg
Dose utilisée	33g/ha

Tableau N°04 : Propriétés de l'herbicide Akopic.

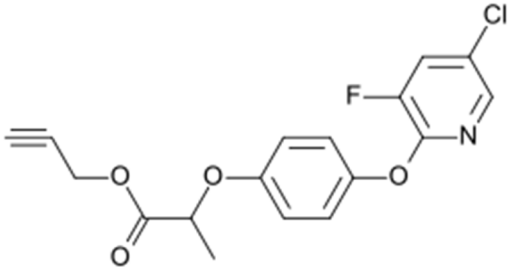
Identification du produit :	Valeurs :
Etat	Liquide
Type du produit	Concentrés émulsionnables 'EC'
Usage	Herbicide
Matière active	Clodinafop-propargyl + Kérosène (comme solvant)
Formule brute	$C_{17}H_{13}ClFNO_4$
Structure chimique	 <p>The chemical structure shows Clodinafop-propargyl, which consists of a propargyl group (a terminal alkyne) attached to an ester linkage. This ester is further connected to a central carbon atom that is also bonded to a methyl group and an oxygen atom. This oxygen atom is part of a phenoxy group (a benzene ring). The benzene ring is connected via another oxygen atom to a pyridine ring. The pyridine ring has a fluorine atom at the 3-position and a chlorine atom at the 5-position.</p>
Propriétés physico-chimique :	Valeurs :
Etat physique	Liquide
Couleur	Marron claire- marron
Odeur	Aromatique (kérosène)
Point d'ébullition	220-300°C
Densité [kg/m3]	1080 ± 15 (20°C)
Pression d'évaporation	3.19 x 10E-3 mPa; (25°C)
Viscosité	32.5 s (40°C)
Solubilité dans l'eau	Emulsifiable
Inflammabilité	Ininflammable

Tableau N°05 : Propriétés du fongicide Hexonate.

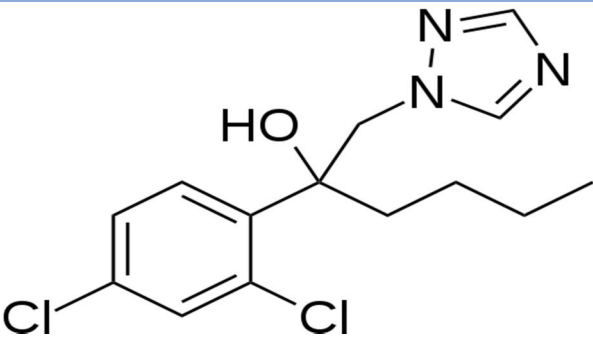
Formule moléculaire brute	$C_{14}H_{17}Cl_2N_3O$
Nom systématique	2-(2,4-Dichlorophenyl)-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)hexan-2-ol
Matière active	Hexaconazole
Concentration	5%
Structure chimique	
Usage	Fongicide
Propriétés physico-chimiques :	Valeurs :
Etat physique	Liquide
Odeur	Inodore
Couleur	Blanc
Masse moléculaire	$314.21 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Point de fusion	111°C
Dose utilisés	400ml/ha , 600ml/ha, 800ml/ha

Tableau N°06 : Propriétés du fongicides Duoplus.

Matière active	Difenoconazole + Propiconazole
Concentration	15% + 15%
Etat physique	Liquide, Concentrés émulsionnables 'EC'
Odeur	Aromatique
Couleur	Marron
Dose utilisés	500ml/ha

Isolement des actinomycètes à partir d'un sol Saharien et d'une Sebka de la région d'El-Oued et mise en évidence de leur capacité à dégrader quelques pesticides

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé :

A partir de deux échantillons sol et de sebka de la région d'El-Oued, 66 souches d'actinomycètes sont isolées sur le milieu amidon-caséine agar additionné d'antifongique. Un prétraitement des échantillons par séchage à l'air libre pendant 21 jours et par addition au milieu de l'NaCl ont été effectués afin de favoriser l'isolement des actinomycètes. Un lot de 20 souches a été sélectionné pour tester l'aptitude de ces bactéries à dégrader six pesticides très employés dans l'agriculture Algérienne. Dont quatre herbicides : le Glyphosate, le Monuron, l'Akopic 240 EC, Lancelot 450WG ; et deux fongicides : le Duoplus et l'Hexonate. Les résultats montrent que le Glyphosate est le pesticide le plus dégradé par ces bactéries, tandis que le Duoplus est le moins biodégradable. Deux isolats d'actinomycètes E1 A10 et E1 A11 sont les seuls qui ont montrés une aptitude à dégrader les 6 pesticides. Ces deux actinomycètes peuvent être utilisés dans la bioremédiation des sols pollués par ces pesticides.

Mots clés : Actinomycètes, pesticides, biodégradation, herbicides, fongicides, bioremédiation.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Zoologie faculté des Science de la nature et la vie/ Laboratoire de la pollution et traitement des eaux Chaab-Arassas université des Frères Mentouri Constantine

Jury d'évaluation :

Président du jury : *HAMIDECHI M.A.* (Professeur - UFM Constantine),
Rapporteur : *BOUDEMAGH A.* (Professeur- UFM Constantine),
Examineur : *KITOUNI M.* (Professeur- UFM Constantine).

Date de soutenance : 30/06/2016