

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Présenté par :

LOUNASSE Imane et ZIANI Noura
Thème

***Isolement et identification des microorganismes
dégradant les pesticides et leur application dans la
bioremédiation***

Soutenu le : 11/07 / 2021

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme. IDER Djamila</i>	<i>MAB.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme. MOURI-HADIDI Lila</i>	<i>MCB.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mme. YALAOUI-GUELLAL Drifa</i>	<i>MCB.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir aidé à réaliser ce travail.

Ce mémoire doit beaucoup aux nombreuses personnes qui nous ont encouragé, soutenu et conforté au long de toutes ces années. Qu'elles trouvent dans ce travail l'expression de nos plus sincères remerciements. Nous remercions tout particulièrement :

Notre encadreur Mme. YALAOUI GUELLAL Drifa, Maître de conférences B à l'université de Bouira pour avoir proposé, accepté et encadré ce mémoire, pour son encouragement, ses conseils précieux, sa disponibilité, ses suggestions pertinentes, ses critiques constructives et pour sa patience tout au long de ce projet et sans lesquels, ce travail n'aurait pu aboutir.

Nos sincères considérations et nos vifs remerciements vont également aux membres du jury : Mme IDER Djamilia, Maître Assistant B à l'université de Bouira, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, Mme MOURI-HADIDI Lila Maître Assistant B à l'université de Bouira, pour avoir accepté d'examiner de ce mémoire.

Nous remercions le chef de département de biologie, tous les enseignants de notre spécialité Biotechnologie microbienne qui nous ont enseigné durant le cursus universitaire, et tout le personnel de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Bouira qui ont contribué à notre formation.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.

Merci à tous



Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes parents qui sont toujours présents pour faire mon bonheur.

Que Dieu les protège et leur donne longue vie pleine de santé et qu'ils trouvent ici la preuve de ma reconnaissance infinie et d'un profond amour.

Ma grande mère, Mon grand-père, Ma sœur Soumia, Mes frères Abdelhamid et Abderrahmane, ma tante Fatma Zohra, Ansi que.

Mon binôme Noura qui m'a accompagnée tout au long de la Réalisation de ce mémoire et pour la durée de notre amitié.

Mes collègues et amies: Khadidja, Chahinez, Wissam, Amira et tous le personnel de la faculté SNVST

Toute ma promotion ; Amel, Yousra, Asma, Meriem

Mme YALAOUI- GUELLAL de nous avoir aidées pour l'élaboration de ce travail, pour son encadrement, ses conseils avisés, pour sa disponibilité et ses encouragements.

Mes chères amies de la promotion de biotechnologie microbienne de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. Tous les étudiants, enseignants et personnels du département des Sciences Biologiques.

Imane



Dédicaces

Je tiens tout d'abord à remercier le bon dieu de m'avoir aidé à réaliser ce mémoire.

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents puisse dieu vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A mes précieux trésors, mes frères et mes sœurs. A mon fiancé qui est toujours encouragé à étudier, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.

A mon binôme Imane qui m'a accompagnée tout au long de la réalisation de ce mémoire et pour la durée de notre amitié.

A celle qui a sacrifié son temps et ses efforts et m'a appris le sens du dévouement au travail, notre étoile brillante Madame YALAOUI-GUELLAL Drifa. Cela m'accroît l'honneur que j'ai appris de ses mains et elle attribue mon succès, et à chaque professeur qui nous a enseigné et a implanté des principes de bonté et de connaissance dans nos cœurs avant nos esprits. A toute ma famille et mes amies.

Noura

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
I. Généralités sur les pesticides	3
I.1. Historique.....	3
I. 2. Définition	3
I.3. Classification des pesticides.....	4
I.3.1.Classification chimique.....	5
I.3.1.1. Les pesticides inorganiques.....	5
I.3.1.2. Les pesticides organo-métalliques	5
I.3.1.3. Les pesticides organiques.....	6
I.3.2.Classification biologique.....	6
I.3.2.1. Les herbicides	6
I.3.2.2. Les fongicides	7
I.3.2.3. Les insecticides	7
I.4. Formulation et composition	8
I.4.1. Formulation.....	8
I.4.1.1. Les pesticides formulés sous forme solide.....	8
I.4.1.2. Les pesticides formulés sous forme liquide	8
I.4.2. Composition.....	9
I.4.2.1. Substance active.....	9
I.4.2.2. Substance additive ou formulant	9
I.5. Propriétés des pesticides	9
I.5.1. Propriété physico-chimiques	9
I.5.1.1. Mobilisation	9
I.5.1.2. Le transport	10
I.5.2. Propriétés chimiques	10
I.6. Impact des pesticides sur l'environnement	10
I.6.1. Effet des pesticides sur les sols et la microflore du sol.....	10
I.6.2. Effet des pesticides sur les eaux et la faune aquatique.....	11
I.6.3. Effet des pesticides sur l'air	11
I.6.4. Effet des pesticides sur les aliments.....	12
I.6.5. Effet des pesticides sur les plantes visées.....	13
I.6.6. Effets sur la biodiversité et la faune	13
I.6.6.1. Les vertébrés	13
I.6.6.2. Les invertébrés	14
I.6.7. Les effets sur la santé humaine	14
I.6.7.1. Voies d'expositions.....	14
I.6.7.2. Toxicité aiguë.....	15
I.6.7.3. Toxicité chronique	15
I.7. Transfert des pesticides	17
I.7.1. Transfert des pesticides vers les eaux souterraines	17
I.7.2. Transfert des pesticides vers l'atmosphère.....	18
I.7.2.1. La volatilisation.....	18
I.7.2.2. L'érosion éolienne.....	18
I.8. Dégradation abiotique des pesticides	18
I.8.1. Hydrolyse	19
I.8.2. Les réactions redox	19
I.9. Réglementation pour l'usage des pesticides.....	20

I.9.1. Législation Algérienne	20
I.9.2. Convention	21
I.9.2.1. Convention de Bâle	21
I.9.2.2. Convention de Stockholm	21
I.9.2.3. Convention de Rotterdam	22
I.9.3. Normes	22
I.9.3.1. Normes pesticides dans l'eau potable	22
I.9.3.2. Normes pesticides dans les aliments « Codex Alimentarius »	22
I.9.3.3. Normes pesticides dans l'air	23
I.9.3.4. Normes pesticides dans le sol	23
II. Biodégradation des pesticides	24
II.1. Les microorganismes dégradants les pesticides	24
II.1.1. Les Actinomycètes	24
II.1.2. <i>Bacillus</i>	25
II.1.3. <i>Flavobacterium sp.</i>	25
II.1.4. <i>Arthrobacter sp.</i>	25
II.1.5. <i>Pseudomonas sp.</i>	26
II.1.6. <i>Comamonadaceae</i>	27
II.1.7. <i>Trichoderma viride</i>	28
II.2. Mécanisme de dégradation des pesticides	29
II.2.1. Le métabolisme	29
II.2.2. Co-métabolisme	30
II.2.3. La Conjugaison et la condensation	31
II.2.3.1. La conjugaison	31
II.2.3.2. La condensation	31
II.3. Les facteurs influençant la dégradation	31
II.3.1. Facteurs biologiques	31
II.3.1.1. Les interactions entre les bactéries	32
II.3.1.2. Les interactions bactéries-plantes	33
II.3.2. Facteurs physicochimiques	33
II.3.2.1. La température	33
II.3.2.2. Le pH	34
II.3.2.3. Teneur en eau	34
II.3.2.4. La nature du sol, et de la matière organique	34
II.3.2.5. La porosité	34
II.4. Techniques d'isolement des souches dégradantes les pesticides	35
II.4.1. Enrichissement et isolement des souches bactériennes	35
II.4.2. Techniques d'identification des bactéries	37
II.4.2.1. Identification morphologique	37
II.4.2.2. Identification biochimique	38
II.4.2.3. Identification phylogénique par séquençage d'ARNr 16S	45
II.4.2.4. Identification par l'étude Métagénomiques	49
II.4.2.5. Identification par la spectrométrie de masse par Désorption-ionisation laser assistée par matrice-Temps de vol (MALDI-TOF MS)	50
II.5. Application des microorganismes dégradant les pesticides dans la bioremédiation du sol	53
II.5.1. Bioremédiation des pesticides	53
II.5.2. Processus de bioremédiation	54
II.5.2. Les systèmes de bioremédiation	57
Conclusion	61
Référence bibliographique	63
Annexes	77
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Micro-organismes isolés qui décomposent les composés organophosphorés...32	
Tableau 02 : Tableau interprétatif des scores de corrélation.....53	
Tableau 03 : Les techniques de bioremédiation microbienne.....60	

Liste des figures

Figure 01 : Evolution chronologique de l'usage des pesticides.....	4
Figure 02 : Classification des pesticides.....	5
Figure 03 : Structures chimiques de quelques exemples d'herbicide.....	6
Figure 04 : Structures chimiques de quelques exemples de fongicide.....	7
Figure 05 : Structures des insecticides organophosphorés.....	8
Figure 06 : Chaîne de la contamination de la denrée alimentaire par les pesticides.....	12
Figure 07 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides.....	15
Figure 08 : Transfert des pesticides dans l'environnement.....	17
Figure 09 : La dégradation bactérienne de 2,4-D.....	26
Figure 10 : Réaction initiale dans la dégradation du carbofuran par les bactéries.....	27
Figure 11 : Voie proposée pour le catabolisme de 1C4NB par la souche bactérienne LW1...28	
Figure 12 : Schéma simplifié du métabolisme et du Co-métabolisme d'un pesticide par les micro-organismes.....	29
Figure 13 : Métabolisme directe de l'atrazine.....	30
Figure 14 : Co-métabolisme de l'atrazine.....	30
Figure 15 : Diagramme représentant l'isolement et l'identification des bactéries dégradant les pesticides.....	36
Figure 16 : Aspect macroscopique des 2 souches représenté par l'apparition d'un mycélium de couleur marron.....	37
Figure 17 : Aspect microscopique des isolats après coloration de Gram présentent un aspect mycélien (GX100).....	37
Figure 18 : Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinomycètes non mobiles mono-sporulés.....	38
Figure 19 : Test positif de l'oxydase.....	39
Figure 20 : Test de la catalase.....	39
Figure 21 : Aspect de Test de RM positif et négatif.....	40
Figure 22 : Aspect de test VP positif et négatif.....	40
Figure 23 : Test positif d'hydrolyse de la gélatine en présence des actinomycètes.....	41
Figure 24 : Test d'utilisation du citrate.....	41

Figure 25 : Aspect du milieu TSI.....	42
Figure 26 : Teste auxanogramme.....	43
Figure 27 : Test d'indole.....	43
Figure 28 : Test positif de production de sulfure d'hydrogène.....	44
Figure 29 : Test d'antibiogramme.....	44
Figure 30 : Etapes de l'identification phylogénique.....	45
Figure 31 : Chargement de l'échantillon d'ADN dans un puits dans le gel.....	47
Figure 32 : Photographie de profile électrophorétique de l'ADN extrait par CTAB. Une électrophorèse sur gel d'agarose (0,8%) d'ADN après coloration au BET et visualisation sur UV.....	47
Figure 33 : Arbre phylogénique.....	49
Figure 34 : Étapes d'identification par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF à partir d'une colonie bactérienne.....	51
Figure 35 : Spectre de masse (MALDI-TOF). Les spectres obtenus à partir de 11 colonies individuelles ont été comparés et un spectre de référence a été généré.....	52
Figure 36 : Classification des options de bioremédiation.....	55
Figure 37 : Installation de système de bioremédiation <i>in situ</i>	56
Figure 38 : L'installation de système de bioremédiation <i>ex situ</i>	57
Figure 39 : Schéma simplifié d'un Biobed.....	58
Figure 40 : Schéma simplifié d'un Phytobac.....	58
Figure 41 : Schéma simplifié du Biofiltre.....	59

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ARNr 16S : Sous-unité 16S de l'ARN ribosomal.

BET : Bromure d'éthidium.

CTAB : CétylTriméthyl Ammonium Bromide.

DDE : Dichloro-diphenyl-Exachloroéthane.

DDT : DichloroDiphénylTrichloroéthane.

EC : Concentrés émulsionnables.

EDTA : Acide éthylène diamine Tétracétique.

IgE : Immunoglobulines.

LB : LuriaBertani.

LMR : Limite maximale de résidus.

MALDI-TOF/MS : Spectrométrie de masse par ionisation par désorption laser assistée par matrice-temps (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight/MassSpectrometry).

MMM : Milieu minéral minimum.

MR : Rouge de Méthyle.

MS : Spectrométrie de masse.

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

PCP : "Pesntachlorophénol.

PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne (Polymerase Chain Reaction).

PDA : Phénylène diamine oxydase.

PH : Potentiel hydrogène.

PIC :Consentement préalable en connaissance de cause (Prior informed consent).

SC : Suspension Concentrée.

SDS : Sodium Dodécyl Sulfate

SG : Granulés solubles.

SL : Concentré liquide soluble.

Sp: Sous espèce.

TE : Tris-EDTA.

TSI : Fer à triple sucre (Triple SugarIron).

UV : Ultra-Violet.

VR : Vogues Proskauer.

Introduction

Pendant des décennies, les systèmes agricoles ont été basés sur l'utilisation des pesticides de synthèse pour assurer une protection rapide et la lutte efficacement contre divers ennemis des cultures (Calvet et al., 2005).

Un pesticide est une substance destinée à détruire, atténuer tout animal, micro-organisme ou phytoravageur. Alors que les pesticides sont généralement des agents chimiques, ou les agents biologiques ou physiques peuvent également être des pesticides (Amdur, 1993). Les pesticides sont presque omniprésents dans le monde d'aujourd'hui. En agriculture, des insecticides, des nématicides et des herbicides sont appliqués sur les plantes et le sol pour améliorer le rendement et/ou l'apparence des produits récoltés (Somerville et Walker, 1990).

Les pesticides tels que les mildicides et les insecticides sont couramment incorporés dans les matériaux de construction et/ou appliqués aux structures pour empêcher les infestations de ravageurs. Les pesticides sont couramment appliqués sur le fond des bateaux pour empêcher l'attachement et la croissance d'un mollusque. La liste se rallonge de plus en plus (Johnston, 2000).

Malgré leurs énormes avantages, les pesticides ne sont pas sans défauts, de nombreux de ces produits chimiques sont toxiques pour les organismes vivants et détruire certains systèmes biochimiques. Parce qu'il y a des similitudes dans tous les organismes vivants, il y a donc un produit chimique qui peut tuer les mouches peuvent aussi tuer les chiens. Donc non uniquement lors du développement d'un produit chimique mais dans son travail, il doit aussi être considéré peut empoisonner des organismes inattendus (Lindquist, 2000).

La pollution par des pesticides est principalement perçue à travers leur présence dans l'eau et les aliments. Cependant, de nombreux polluants traversent le sol et leur comportement dans le sol affectera les performances de leurs propriétés de pollution. Réduire leur impact sur l'environnement nécessite de comprendre les processus qu'ils subissent dans le sol, principalement les processus de maintien et de stabilisation, les processus de transformation et les phénomènes de transfert. Les mécanismes de détoxification des sols base de sa capacité d'épuration, et sur l'aptitude des micro-organismes des sols à décomposer les polluants. (Barriuso et al., 1996).

L'utilisation des micro-organismes constitue un moyen bon marché, en effet, ils peuvent contenir des enzymes capable de métaboliser les substrats qui compris les molécules des xénobiotiques, la dégradation des xénobiotiques peut provoquer leur minéralisation complète,

les résultats de plusieurs travaux des chercheurs ont démontré que les micro-organismes ont une grande importance dans la biodégradation des composés dans l'environnement (Savado, 2014).

Dans cette optique notre étude a été menée, elle a pour but d'étudier les microorganismes dégradant les pesticides. Ce mémoire est divisé en deux chapitres, dans le premier chapitre nous allons se rappeler de quelques notions importantes sur les pesticides, telles que les différents groupes des pesticides et leur composition et caractéristiques, les effets néfastes des pesticides et leur impact sur la nature.

Le deuxième chapitre est consacré aux différents techniques utilisés dans la biodégradation des pesticides à savoir les techniques d'isolement et d'identification des microorganismes dégradant les pesticides, ainsi que les différents processus appliqués dans la bioremédiation.

Nous terminons notre travail par une conclusion générale, des perspectives, des références bibliographiques et des annexes.

Chapitre I

Chapitre I

I. Généralités sur les pesticides

I.1. Historique

Afin de réduire les ravageurs et les maladies des cultures et des animaux, les humains utilisent des produits chimiques d'origine végétale et inorganiques. Deux périodes peuvent être distinguées pour décrire le développement très important des pesticides. Ce sont environ la première moitié du XXe siècle séparés dans la Seconde Guerre mondiale (Berrah, 2011).

Avant 1950, les composés de l'arsenic étaient largement utilisés pour lutter contre les ravageurs des arbres fruitiers et des vignes, ainsi que contre les ravageurs notoires de la pomme de terre (doryphore). Outre les insecticides minéraux, les insecticides organiques d'origine naturelle et synthétique se sont également fortement développés, ces composés étant représentés par des composés organochlorés, qui sont des biocides particulièrement efficaces. Le Dichloro Diphényl Trichloroéthane (DDT) a obtenu un grand succès dans la lutte contre de nombreux ravageurs et moustiques (Berrah, 2011).

Dans la seconde moitié du XXe siècle, l'utilisation des pesticides a considérablement augmenté (Figure 01). Selon une enquête réalisée en 1992 par la Commission européenne, de nombreuses substances ont été découvertes. Ils appartiennent à la famille chimique des organophosphorés, des carbamates et des pyréthrinoides. Depuis le début des années 1960, l'utilisation des pesticides en Asie et en Amérique du Sud a grimpé en flèche (Jeroen et al., 2004). 65% des pesticides dans le monde sont utilisés dans les pays développés, mais l'utilisation des pesticides dans les pays en développement est en augmentation (Berrah, 2011).

I. 2. Définition

Le pesticide est un nouveau mot emprunté à l'anglais. Il est composé de ravageurs «insectes ou plantes nuisibles, parasites» et insecticides, du latin violon, frapper, couper, tuer (Glaude et al., 2010). Les pesticides sont une substance ou un mélange de substances conçues pour prévenir, détruire, repousser ou atténuer tout ravageur : insectes, acariens, nématodes, mauvaises herbes, rats,etc (Wenjun et al., 2011).

Évolution des produits			
	HERBICIDES	FONGICIDES	INSECTICIDES
Avant 1900	Sulfate de cuivre ● Sulfate de fer ●	Soufre ● Sels de cuivre ●	Nicotine ●
1900 - 1920	Acide sulfurique ●		Sels d'arsenic ●
1920 - 1940	Colorants nitrés ▼ ●		
1940 - 1950	Phytohormones... ●		Organo-chlorés ● Organo-phosphorés ▼ ●
1950 - 1960	Triazines, Urées substituées ● Carbamates ▼ ●	Dithiocarbamates ● Phtalimides ●	Carbamates ▼ ●
1960 - 1970	Dipyridyles, Toluidines... ●	Benzimidazoles ●	
1970 - 1980	Amino-phosphonates ● Propionates... ●	Triazoles ● Dicarboximides ● Amides, Phosphites ● Morholines ●	Pyréthriinoïdes ● Benzoyl-urées (régulateurs de croissance) ●
1980 - 1990	Sulfonyl urées... ●		
1990 - 2000	▼▼▼▼▼	Phénylpyrroles ● Strobilurines ▼▼▼▼▼	▼▼▼

Figure 01. Evolution chronologique de l'usage des pesticides (Données UIPP).

Le terme « pesticide » est un nom générique qui recouvre toutes les substances ou produits utilisés dans l'agriculture et d'autres secteurs pour lutter contre les ennemis naturels des cultures et des produits agricoles ou pour protéger les lieux publics des insectes, plantes, animaux, animaux ou microorganismes nuisibles. Les pesticides sont des molécules largement distribuées dans l'environnement. Ils sont toxiques pour les insectes et dans une moindre mesure pour la vie aquatique et les mammifères (Steeve et al., 2013).

I.3. Classification des pesticides

Les substances actives sont classées en fonction de la nature chimique de la substance active et de la nature de la cible et le mode d'action (Figure 02), ils peuvent aussi être classés selon leurs origines (Calvet et al., 2005).

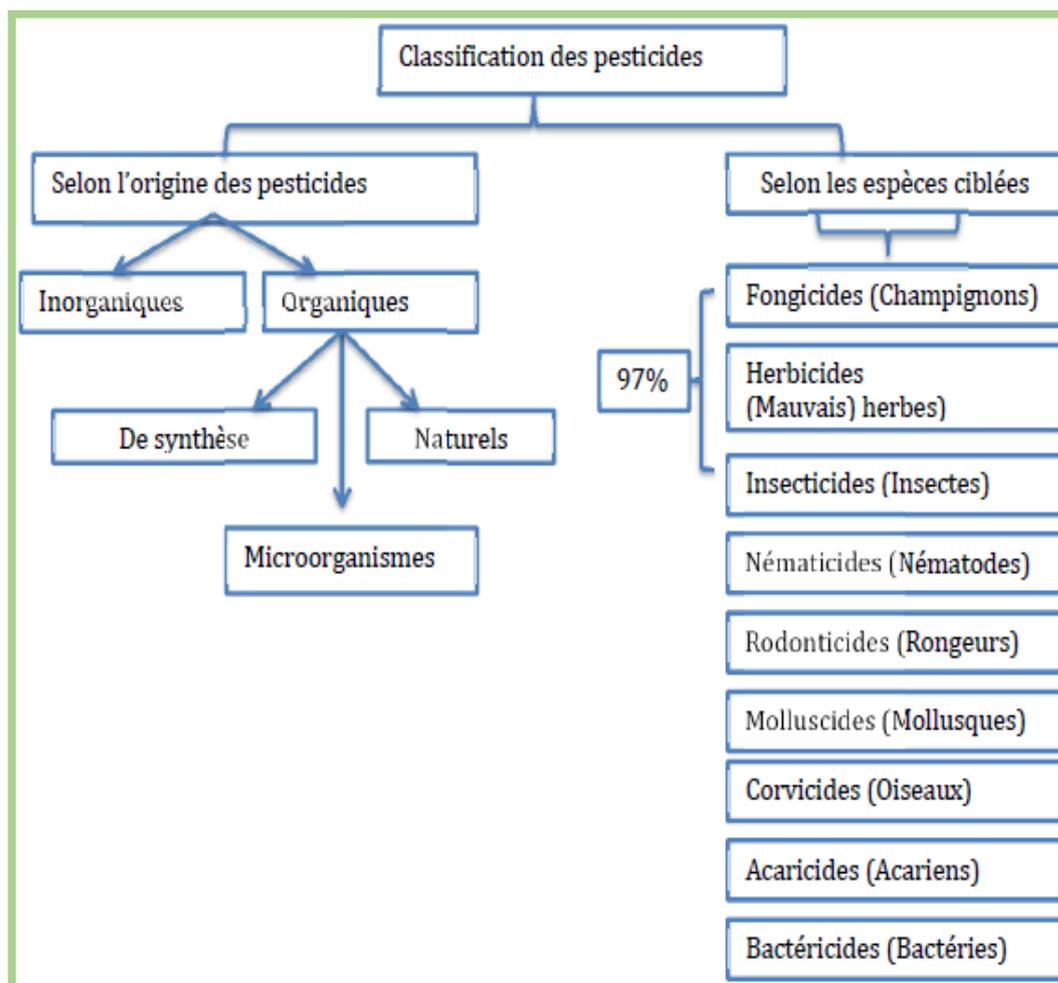


Figure 02. Classification des pesticides (Gouvernement du Québec, 2016 ; E-TIC, 2014).

I.3.1. Classification chimique

Selon la famille chimique il existe trois catégories de pesticides (Tomlin, 1995).

I.3.1.1. Les pesticides inorganiques

Les pesticides inorganiques ne sont plus disponibles et un seul herbicide est utilisé aujourd'hui. En tant qu'herbicide total, le chlorate de sodium. La plupart des pesticides inorganiques c'est un bactéricide à base de soufre et de cuivre (Fillatre, 2011).

I.3.1.2. Les pesticides organo-métalliques

Ce sont des fongicides dans lesquels les molécules sont composées de complexes métalliques, tels que Zinc et manganèse et dithiocarbamate d'anion organique. Exemples de ces pesticides sont le mancozèbe, contenant du zinc, et le manébe, contenant du manganèse (Calvet et al., 2005).

I.3.1.3. Les pesticides organiques

Il existe actuellement plus de 80 familles chimiques ou catégories chimiques, mais parfois leurs noms sont aléatoires. Les principaux groupes chimiques des pesticides déterminés par le groupe l'atome qui constitue une fonction chimique spécifique est : l'acide carboxylique, Amines, carbamates, thiocarbamates, hétérocycles azotés, phosphates organiques, pyréthrinoides, urées substituées, sulfonylurées, uracile et diphenyle éther (Tomlin, 1995).

I.3.2. Classification biologique

Selon les organismes vivants visés, la nature de la cible et le mode d'action, nous distinguons plusieurs catégories de pesticides dont les principales sont les insecticides, les fongicides et les herbicides (ACTA, 2006).

I.3.2.1. Les herbicides

Les herbicides sont les pesticides les plus largement utilisés dans toutes les cultures du monde. Ils visent à éliminer les plantes qui concurrencent les plantes. Les herbicides ont différents modes d'action sur les plantes, ils peuvent perturber la régulation de l'hormone de croissance tels que l'atrazine, Metsulfuron-méthyle, Glyphosate (Figure 03) la photosynthèse, l'inhibiteur de la division cellulaire, synthétique lipides, cellulose ou acides aminés (Chenikhar, 2018).

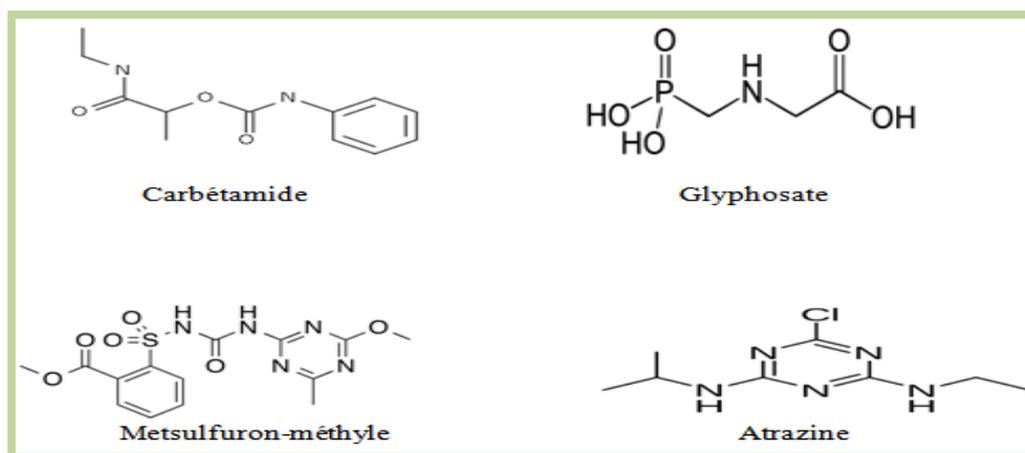


Figure 03. Structures chimiques de quelques exemples d'herbicide (Serra, 2015).

I.3.2.2. Les fongicides

Les fongicides tels que le propamocarbe, le tébuconazole (Figure 04) peuvent éliminer ou limiter la croissance des champignons ravageurs des plantes. Ils peuvent être supprimés par le système respiratoire ou division cellulaire, en perturbant la biosynthèse des stérols, ARN polymérase ou adénosine désaminase (Baldi et al., 2013).

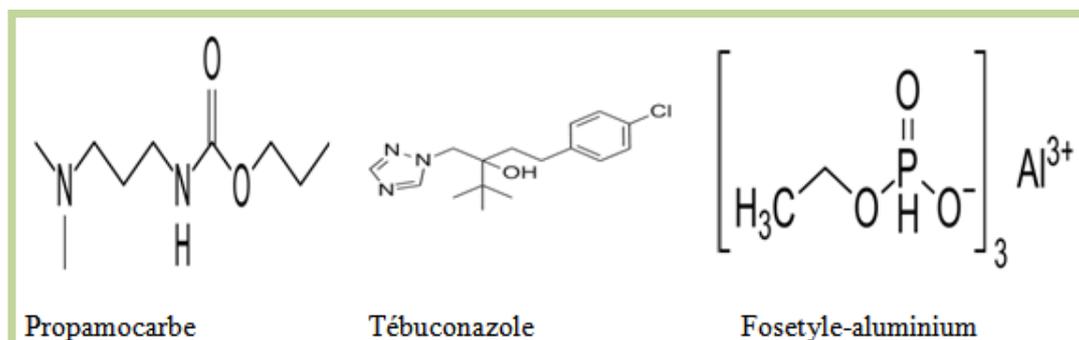


Figure 04. Structures chimiques de quelques exemples de fongicide (Serra, 2015).

I.3.2.3. Les insecticides

Les insecticides sont utilisés pour protéger les plantes contre les insectes. Ils interviennent dans l'élimination ou l'empêchement de la reproduction des insectes, il existe différents types tels que :

- Insecticides agissant sur le système nerveux (avermectines, organophosphorés,...).
- Insecticides agissant sur la respiration cellulaire (phénoxy-pyrazoles, roténone,...).
- Insecticides de type régulateurs de croissance (benzhydrazides, thiazidiazines,...).

Outre, ces trois grandes familles de pesticides citées ci-dessus, il existe d'autres catégories telles que :

- Les acaricides, contre les acariens.
- Les nématicides, contre les vers du groupe des nématodes.
- Les rodenticides, contre les rongeurs.
- Les taupicides, contre les taupes.
- Les molluscicides, contre les mollusques et les limaces.
- Les corvicides et corvifuges, contre les corbeaux et les autres oiseaux ravageurs des cultures.

Et même des insectifuges et des répulsifs pour la lutte contre les corbeaux et autres oiseaux qui détruisent les récoltes (ACTA, 2006). Quelques exemples d'insecticide sont indiqués dans la Figure 05.

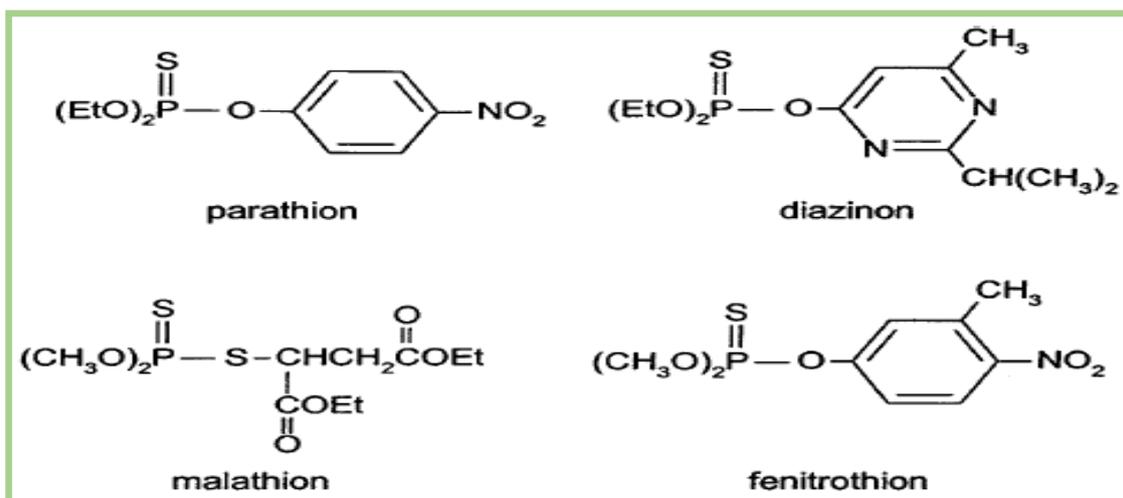


Figure 05. Structures des insecticides organophosphorés (Serra, 2015).

I.4. Formulation et composition

I.4.1. Formulation

La formulation des pesticides correspond à la forme physique sous laquelle le produit phytopharmaceutique est mis sur le marché. Ils sont disponibles sous diverses formes, solides ou liquides (Amara, 2013).

I.4.1.1. Les pesticides formulés sous forme solide

Ils sont généralement de pré-semis et de prélevée et sont utilisés sur le sol nus. Les formules granulées doivent diffuser lentement dans le sol. Les pesticides peuvent être inclus dans des microcapsules poreuses de polymères (polyamides...) de diamètre moyen (25µm). Elles peuvent être dispersées en suspension dans l'eau (Devaut, 2007).

Pour les formulations solides, on rencontre les granulés solubles (SG), les poudres mouillables (WG) (Amatroppe, 2000).

I.4.1.2. Les pesticides formulés sous forme liquide

Ils sont utilisés au cours de la post-levée, à des stades déterminés le plus souvent par le nombre de feuilles des plants. Les épandages aériens, encore pratiqués sur les forêts, mettent en œuvre des pesticides liquides ou micro-encapsulés (Devaut, 2007). Concernant les formulations liquides, trois types sont utilisés :

- Les concentrés solubles (SL), composés des produits solubles dans l'eau.

- Les concentrés émulsionnables (EC, composés des produits liquides en émulsion dans le produit.
- La suspension concentrée (SC), composés de particules solides dispersées dans le produit (Amatropé, 2000).

I.4.2. Composition

Un pesticide comprend une ou des matières actives et des matières additives (Calvet, 2006).

I.4.2.1. Substance active

Les substances actives représentent des ingrédients qui sont partiellement ou entièrement attribuables à une activité biologique directe ou indirecte contre des parasites ou des maladies. Attribuable en partie ou en totalité à des effets toxiques (Debbab, 2014).

I.4.2.2. Substance additive ou formulant

Le matériau additif assure la stabilité de la matière active pendant le stockage et/ou l'utilisation. Ils sont souvent appelés adjuvants, solvants ou excipients. Il peut s'agir d'huiles, de poudres, de solutions ou de mélanges divers. Les additifs peuvent améliorer l'effet des substances actives. Ce sont des substances qui n'ont pas d'activité biologique mais qui peuvent changer la qualité des pesticides et favoriser leurs effets (Debbab, 2014).

Par conséquent, l'un des objectifs du fabricant est de trouver la meilleure formulation de produit au meilleur coût possible, tout en connaissant la nécessité de rendre le mélange de produits possible (Batsch, 2011, Debbab, 2014).

I.5. Propriétés des pesticides

I.5.1. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des pesticides dépendent de la séquence de deux étapes: la mobilisation et le transport convectif (Fournier, 2002) :

I.5.1.1. Mobilisation

Il s'agit d'un ensemble de divers phénomènes qui aident à faire entrer une substance en phase liquide ou gazeuse, c'est-à-dire qu'il détermine la composition de l'atmosphère et la solubilité du sol (Eneida, 2009).

I.5.1.2. Le transport

Le transport, par convection, est la diffusion moléculaire de substances dissoutes ou gazeuses sur les membranes biologiques (Fournier, 2002).

Le Manuel des pesticides recueille également de nombreuses données physiques et chimiques, en particulier des données sur les conditions de l'eau et du sol dans les produits organiques des composés étudiés. Ce livre est particulièrement utile pour déterminer le solvant d'extraction le plus approprié pour le composé étudié (Eneida, 2009).

I.5.2. Propriétés chimiques

Dans des conditions appropriées, telles que la physique (température, pression) et la chimie physique (pH, force ionique du milieu), les pesticides peuvent participer à des réactions chimiques, en modifiant leur composition et leur structure et conduisant parfois à leur conversion en composés inorganiques (Calvet et al., 2005).

L'ionisation, l'hydrolyse, l'oxydo-réduction et la photolyse sont des transformations chimiques majeures liées aux pesticides (Circaète et Malausa, 2002). Alors que d'autres transformations biotiques conduisent à des changements de composition et souvent à une simplification de la structure moléculaire, elles conduisent à la dégradation des pesticides dont dépend leur devenir dans la nature (Kheddam-Benadjal, 2012).

I.6. Impact des pesticides sur l'environnement

Depuis près de 50 ans les pesticides sont présents dans toutes les chaînes environnementales, l'eau des fluviales, les eaux souterraines, l'air, ainsi que les fruits, les légumes, les céréales et les produits d'origine animale. Ils ont parfois des effets néfastes inattendus sur les espèces non ciblées, y compris les espèces utiles aux humains, telles que les haies, les hérissons, les coccinelles ou les abeilles (Kheddam-Benadjal, 2012).

I.6.1. Effet des pesticides sur les sols et la microflore du sol

Les sols atteints par les pesticides peuvent avoir des conséquences pour l'environnement et les organismes résidants, la pollution du sol se produit en premier pendant le traitement puis en raison de ruissellement potentiel de la pluie (Faso et al., 2007).

Les pesticides, appliqués sur le sol, ont généralement moins d'effet nocif sur les populations microbiennes du sol. Il peut y avoir des effets inhibiteurs sélectifs sur certaines espèces de la microflore du sol.

Les bactéries sont très importantes pour la fertilité du sol, les fluctuations du nombre de bactéries peuvent être attribuées à des changements dans la nutrition, l'environnement et la pollution chimique (Hussain et al., 2001).

Des analyses montrent qu'une certaine dose de pesticides détruira la vie du sol. En influençant l'efficacité des microorganismes à l'aide de matière organique, parfois en stimulant la respiration et la biomasse, parfois en les inhibant (Ouattara et al., 2010).

I.6.2. Effet des pesticides sur les eaux et la faune aquatique

La non-conformité des eaux destinées à la consommation humaine est à cause de la pollution de l'eau par les pesticides et sont impliquées dans près d'un quart des cas (IFEN, 2002 ; 2004).

Ces polluants peuvent avoir des impacts toxiques cumulatifs sur les organismes aquatiques et aussi agir comme des perturbateurs endocriniens chez certains poissons. Une recherche de l'United States Geological Survey sur 20 rivières américaines a montré une corrélation entre la quantité totale des pesticides présents dans l'eau et les changements de l'équilibre œstrogène/testostérone des carpes dans ces rivières (Aubertot et al., 2005).

Des études ont montré que les pesticides avec des concentrations très abondantes tels que le diazinon et l'atrazine peuvent affecter les comportements de regroupement des poissons aussi que leurs activités de nage et leur mécanisme de reproduction. Les mollusques, les insectes, les petits crustacés, les algues et les plantes aquatiques sont aussi affectés par les pesticides. Par exemple l'herbicide atrazine peut provoquer une réduction de l'oxygène dans l'eau et la productivité des plantes aquatiques, en interférant la capacité respiratoire des poissons (Aubertot et al., 2005).

I.6.3. Effet des pesticides sur l'air

La concentration de pesticides dans l'atmosphère mérite une attention particulière de la recherche en raison de son impact potentiel sur les humains et les écosystèmes. L'agriculture est la principale source de pollution par les pesticides dans l'atmosphère (Lichiheb et al., 2015).

L'évaporation de certains pesticides pendant et après la pulvérisation peut contaminer l'air avec des vapeurs qui montent et sont transportées par les courants d'air à des distances importantes au-dessus de la zone traitée (Giroux, 2004).

I.6.4. Effet des pesticides sur les aliments

En raison de la contamination de la chaîne alimentaire, les pesticides utilisés dans les cultures peuvent pénétrer dans nos aliments. Principalement par la consommation directe d'aliments contaminés par des résidus de pesticides ou bien par l'utilisation de ces produits dans les industries agro-alimentaire. Certains animaux peuvent être intoxiqués par contacte directe lors du traitement aérien ou bien par ingestion des végétaux traités par des pesticides

Les propriétés chimiques des substances utilisées (Figure 06) jouent un rôle important dans cette pollution (Juricek et al., 2014).

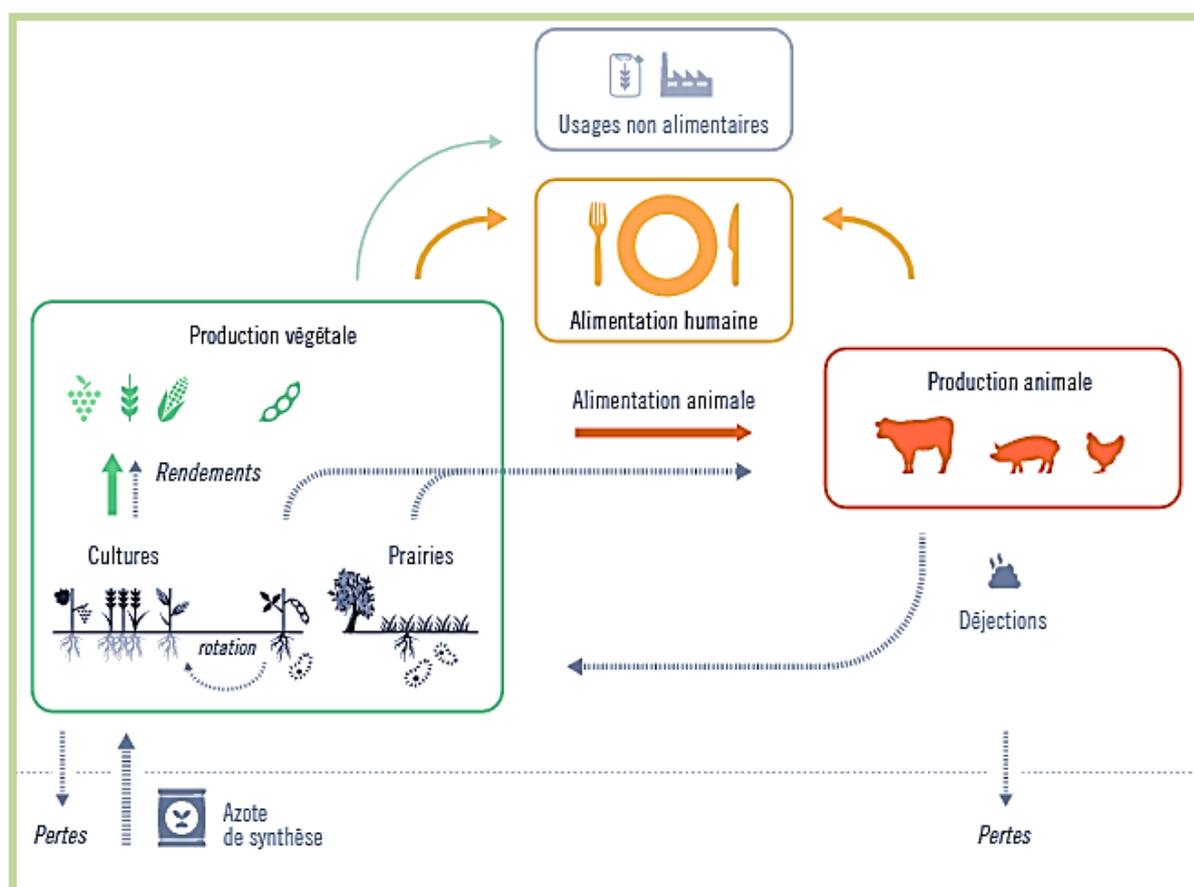


Figure 06 : Chaîne de la contamination des denrée alimentaire par les pesticides (Poux et al., 2018).

L'utilisation en quantités excessives ou l'utilisation sans expérience des pesticides, laissent inévitablement des résidus de la substance active ou de ces métabolites dans nos fruits et légumes frais ou transformés. En effet les aliments comme les viandes, les œufs et les produits laitiers peuvent constituer une source importante de ces substances (INVS, 2013).

En Algérie dans l'année 2008, les données sanitaires sont édifiantes. Des analyses réalisées par le centre Algérien du contrôle de la qualité et l'emballage (CACQE) ont touché 7.675 échantillons alimentaires, 2.419 échantillons sont déclarés non conformes, soit 32 % du total. Plus encore, [Chelabi en 2009](#), ingénieur agronome, spécialiste en cultures maraichères, indique que la moitié des fruits et légumes dont notamment les poivrons, piments, tomates, poireaux, laitues et épinards, vendus sur les étals, contiendraient ces substances chimiques très dangereuses ([Amine, 2009](#)).

I.6.5. Effet des pesticides sur les plantes visée

Les pesticides ont peu d'effet sur les plantes, cependant des interférences des composés organochlorés sur la croissance des plantes ont été observée ainsi que son effet toxique sur les algues ([Calvet et al., 2005](#)).

Les herbicides agissent de différentes manières sur les plantes et peuvent perturber la régulation des hormones de croissance, comme l'auxine, la photosynthèse, les inhibiteurs de la division cellulaire, la synthèse lipidique, la cellulose ou les acides aminés ([Nabiha, 2020](#)).

I.6.6. Effets sur la biodiversité et la faune

Les pesticides sont l'un des facteurs responsables du déclin de la biodiversité en raison de leur toxicité avérée et de leur prolifération répétée dans le monde([Foubert, 1986](#)).

Les pesticides peuvent nuire à des organismes autres que les espèces nuisibles cibles([Barnett et al., 2003](#)).Même l'exposition à de petites doses de pesticides peut entraîner des changements comportementaux et physiologiques chez les espèces touchées, ce qui peut entraîner une réduction de la survie et de la reproduction ([Kegley et al., 1999](#)).

I.6.6.1. Les vertébrés

Les mammifères sont également affectés par ces produits, soit directement par empoisonnement, soit indirectement par privation d'alimentation et d'abri([Jahn et al., 2014](#)).Certains mammifères comme le sanglier (*Sus scrofa*) et le renard (*Vulpes*) ont été autopsiés lors d'une évaluation toxicologique d'un rodenticide. Les résultats ont confirmé leur empoisonnement après l'ingestion de ce produit ([Jacquot, 2013](#)).Le chien (*Canis lupus familiaris*) est l'espèce la plus fréquemment contaminée par les pesticides utilisés à l'intérieur contre les insectes volants, suivi par les chats(*Felis silvestris catus*)les bovins(*Bos taurus*),les chevaux(*Equus caballus*)et les moutons(*Ovis aries*)([Berny, 2010](#)).

L'utilisation intensive de pesticides joue un rôle important dans le déclin de 4/5 espèces d'oiseaux (Robinson et al., 2002). Un pesticide peut tuer l'oiseau directement, l'empoisonner sans le tuer, ou agir indirectement sur lui en réduisant sa nourriture ou en consommant des proies déjà contaminées (Milot, 2016). Les pesticides constituent une menace pour les poissons et certaines espèces sensibles peuvent disparaître (Beresford et al., 2004). Chez les poissons arc-en-ciel australiens (*Melanotenia fluviatilis*), l'exposition aux pyréthrinoïdes à des doses sublétales entraîne une diminution du nombre de poissons arc-en-ciel (Barry et al., 1995). L'exposition à ces contaminants peut entraîner des malformations, une diminution de la fertilité, une diminution de la capacité de nage ou même une altération du système immunitaire (Kegley et al., 1999).

I.6.6.2. Les invertébrés

L'exposition à certains pesticides peut entraîner une diminution de la mobilité de plusieurs insectes, comme *Melipona quadrifasciata* et la guêpe *Trissolcus basalus*. L'exposition des larves à des doses sublétales d'imidaclopride (un insecticide de la famille des néonicotinoïdes) entraîne une diminution de l'activité du système musculo-squelettique chez l'adulte à partir de quatre jours (Tomé et al., 2012).

Les annélides jouent un rôle important dans la structure du sol. Leur sensibilité relative aux pesticides a contribué à faire de ces organismes le point d'entrée pour les études d'écotoxicité des pesticides. Par exemple, les vers de terre affectés par les pesticides ont subi des troubles de l'activité enzymatique, augmentation de la mortalité individuelle, baisse de la fertilité et de la croissance (Aubertot et al., 2005).

I.6.7. Les effets sur la santé humaine

Les pesticides présentent un risque potentiel pour la santé humaine et sont probablement à l'origine de plusieurs pathologies. Grâce au développement de la toxicologie, il est désormais possible d'identifier les propriétés nocives de ces pesticides comme le DDT, le glyphosate et le chlorpyrifos (Tellier et al., 2006).

I.6.7.1. Voies d'expositions

Les pesticides se présentent sous différentes formes et pénètrent dans l'organisme de différentes manières, par inhalation, contact avec la peau, mais aussi par la nourriture tels que : eau, plantes, animaux (Figure 07). L'exposition directe ou indirecte aux pesticides est complexe car ces derniers sont très différents (Merhi, 2008).

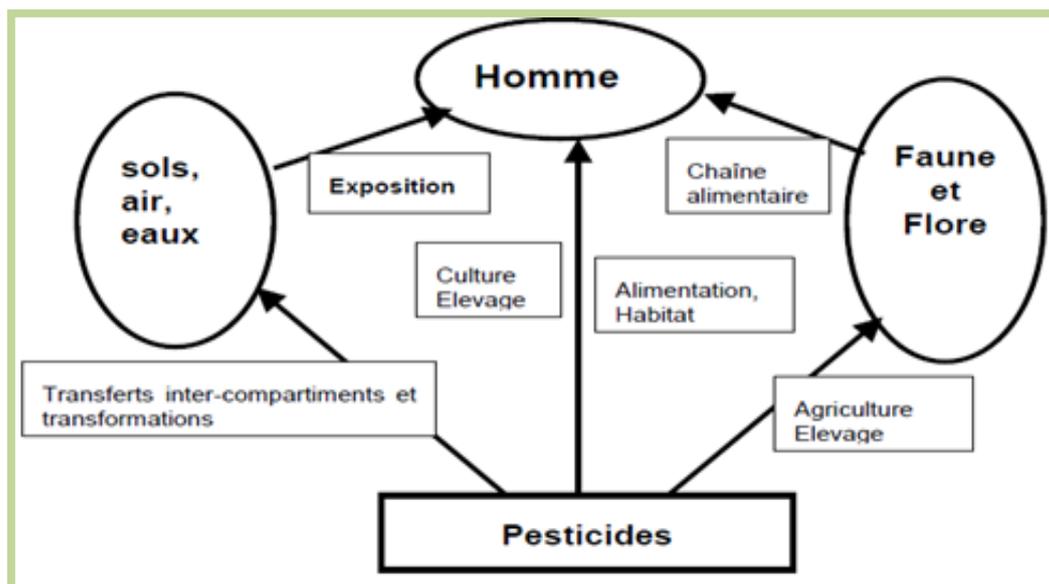


Figure 07. Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides (Grimfeld et al., 2001).

Pour évaluer la gravité de l'intoxication due à l'exposition aux pesticides, plusieurs paramètres doivent être pris en compte, tels que le type d'ingrédient actif et les métabolites des pesticides, qui jouent un rôle important dans l'augmentation de la gravité de l'intoxication (OMS, 2004).

I.6.7.2. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë, à court terme, résulte d'une exposition occasionnelle accidentelle ou volontaire à de fortes doses de pesticides susceptibles d'avoir des effets immédiats ou peu de temps après l'exposition (Bencheikh, 2010). Les signes symptomatiques les plus courants de l'intoxication aiguë sont les maux de tête, les nausées, les vomissements, étourdissements, fatigue, perte d'appétit, irritation de la peau ou des yeux, essoufflement, convulsions et même coma (Samuel, 2000).

I.6.7.3. Toxicité chronique

La plupart des intoxications par les pesticides ne surviennent pas au premier contact mais plutôt après une exposition répétée et prolongée (Lawan et al., 2007). Par conséquent, cette exposition chronique, à long terme, peut avoir de nombreux effets, tels que effets sur : la reproduction, le développement, le système immunitaire, le système endocrinien, mais aussi des effets cancérogènes et mutagènes (Samuel, 2001).

a. Cancérogénèse

Les agriculteurs augmentent la mortalité et l'incidence de certains types de cancers généralement moins fréquents voire rares, comme les cancers des lèvres, des ovaires, du cerveau, la plupart des cancers du système hématopoïétique (leucémie, myélome, lymphome) et de la peau, mélanome et sarcome des tissus mous. Le cancer de la prostate et le cancer de l'estomac, qui sont beaucoup plus courants, sont également préoccupants ([Grimfeld, 2001](#)).

b. Effets sur la reproduction

Les pesticides ont été identifiés comme des ingrédients actifs susceptibles de perturber le processus de fertilité masculine ([Grimfeld, 2001](#)). Parmi les différentes pathologies associées aux troubles de la reproduction et aux malformations congénitales figurent les principaux phénomènes ([Madjour et al., 2012](#)):

- Infertilité masculine ;
- Mort fœtale et avortement spontané et mortinatalité ;
- Prématuration et hypotrophie ;
- Malformation congénitale ([Madjour et al., 2012](#)).

c. Effets perturbateur endocriniens

Ces dernières années, les scientifiques ont également découvert que de nombreux pesticides synthétiques peuvent perturber le système endocrinien chez l'homme et provoquer une combinaison de maladies aiguës et chroniques. Ces interférences peuvent provoquer ([Merhi, 2008](#)):

- Des malformations à la naissance ;
- Des troubles du système immunitaire ;
- Des transformations sexuelles : masculinisation ou féminisation ;
- Une réduction de la production de spermatozoïdes ;
- Une diminution de l'intelligence ;
- Des changements comportementaux ([Merhi, 2008](#)).

d. Effets sur le système immunitaire

Les pesticides peuvent agir sur le système immunitaire par divers mécanismes, conduisant à des pathologies immunitaires plus fréquentes chez les enfants que chez les adultes. Certaines études ont montré qu'une exposition chronique aux pesticides peut

jouer un rôle dans le développement de certaines maladies respiratoires, telles que l'asthme et la bronchite. D'autre part, l'exposition des enfants aux pesticides organochlorés (en particulier DDT) a été liée à des changements immunologiques tels que : une augmentation des immunoglobulines (IgE) et le développement de l'otite chronique et de l'asthme bronchique (Merhi, 2008).

I.7. Transfert des pesticides

Depuis près de cinquante ans, des pesticides ont été détectés dans tous les compartiments environnementaux (Figure 08) ainsi que dans les eaux fluviales, souterraines, dans l'air et les eaux de pluie, mais aussi dans les fruits, légumes, céréales et produits animaux (El Mrabet et al., 2008).

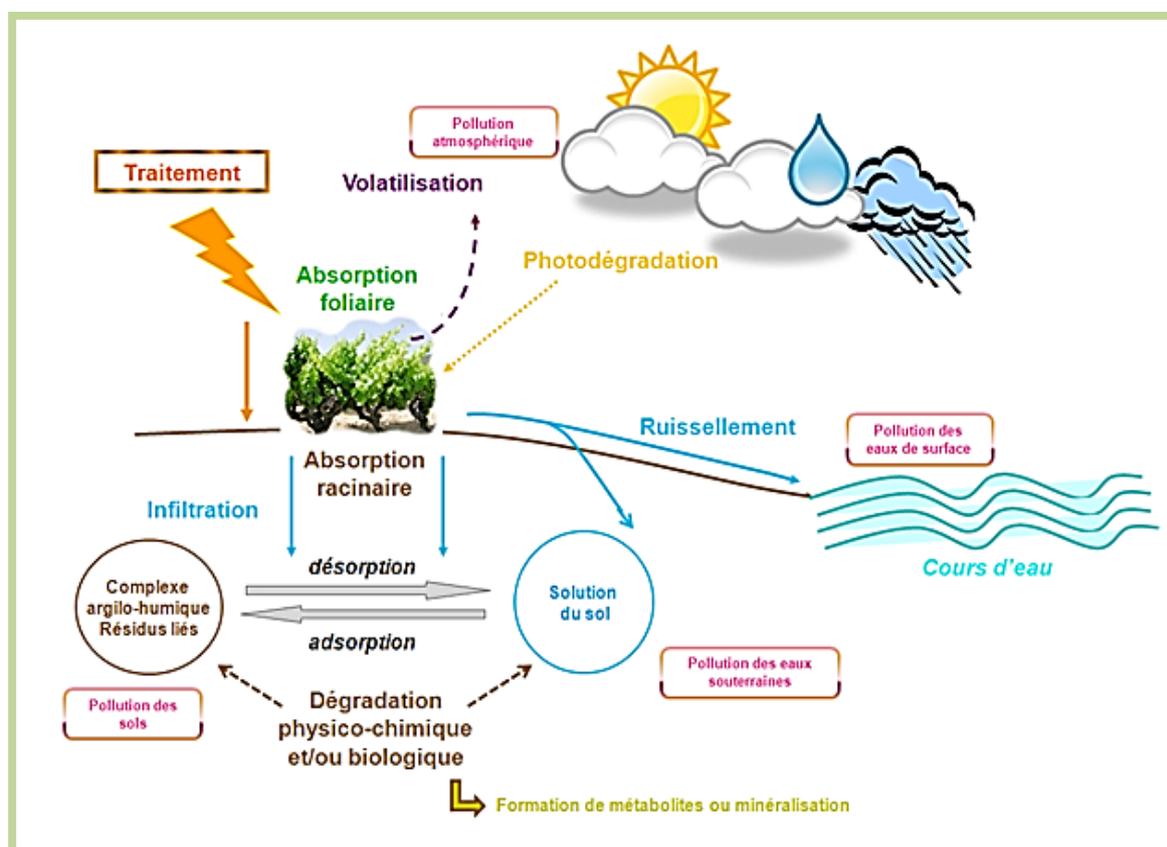


Figure 08 : Transfert des pesticides dans l'environnement (Berrah, 2011).

I.7.1. Transfert des pesticides vers les eaux souterraines

De nombreuses études ont montré la présence de pesticides dans les eaux souterraines, les processus impliqués sont divers et les quantités transférées dépendent

des propriétés physico-chimiques des pesticides et du sol, mais aussi des conditions climatiques (Beigel et al., 1999).

I.7.2. Transfert des pesticides vers l'atmosphère

I.7.2.1. La volatilisation

C'est un processus qui permet aux composés du sol ou des plantes d'être transférés dans l'atmosphère par évaporation ou sublimation. Elle se déroule en deux étapes (Van den Berg et al., 1999) :

- Premièrement, une partie de la quantité appliquée s'évapore du fait d'un changement d'équilibre entre la phase solide ou liquide et la phase gazeuse. Ce processus implique un changement d'état du pesticide.
- La deuxième étape correspond à la dispersion de la vapeur résultante dans l'atmosphère par diffusion ou par mélange turbulent. En fonction des propriétés physico-chimiques des pesticides et des conditions environnementales, des pertes de volatilisation allant jusqu'à 90° des doses appliquées peuvent être enregistrées. L'apparition de la volatilisation peut provenir du sol ou des plantes, ces dernières semblant être plus grandes et plus rapides.

I.7.2.2. L'érosion éolienne

Sa contribution à la pollution atmosphérique n'est ni la plus importante ni la plus étudiée. Cependant, certains herbicides peuvent être soumis à cette procédure, bien que les quantités émises soient faibles par rapport aux pertes causées par la volatilisation (Glotfelty et al., 1989).

I.8. Dégradation abiotique des pesticides

Il a été principalement étudié dans des conditions expérimentales contrôlées en laboratoire et semble jouer un rôle mineur dans les processus de transformation des pesticides. Comme il est d'origine chimique et / ou photochimique, il peut affecter la solution du sol ou, plus souvent, la surface des constituants du sol: argiles, matières organiques et oxydes métalliques (Calvet et al., 1980 ; Senesi, 1993).

I.8.1. Hydrolyse

Il peut être catalysé par des cations métalliques, les métaux les plus réactifs étant ceux qui ont un état d'oxydation (II) en solution (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , etc.). Ce mécanisme a été décrit pour l'hydrolyse. De divers pesticides organophosphorés (Meikle, 1978).

Dans la phase adsorbée, l'hydrolyse peut être favorisée par la formation d'un complexe de surface avec un atome métallique ou par une ionisation accrue des molécules d'eau, qui hydratent les cations compensateurs des minéraux argileux, ce qui conduit à une diminution de la valeur du pH au niveau des surfaces adsorbants (Mortland, 1970 et Smolen, 1998). L'hydrolyse des organochlorés, des organophosphates et des triazines est favorisée par la diminution du pH résultant de ce phénomène (Cruz, 1968).

Les composés organiques dissous semblent également affecter la vitesse d'hydrolyse; Par exemple, l'hydrolyse des 1,3,5-triazines augmente avec la teneur en acides humiques ou fulviques dans le milieu (Muir, 1991). Dans la solution du sol, l'hydrolyse acide peut être favorisée par des groupes fonctionnels acides dans la matière organique (Gamble et Khan, 1985). L'influence des substances organiques peut être expliquée par un modèle catalytique micellaire. Pour les composés tels que la furanone et le 2,4-D-ester, les composés organiques peuvent jouer un rôle protecteur (Miettinen et al., 1993).

Les argiles métalliques peuvent également agir comme catalyseurs en raison de leur pH de surface acide (Sanchez-Camazano et al., 1991).

I.8.2. Les réactions redox

Ils jouent un rôle important dans le devenir de certains composés (pesticides halogénés), même s'ils ne sont pas très bien décrits en termes quantitatifs (Calvet, 2005).

Les réactions d'oxydation sont dues à l'oxygène moléculaire ou à des espèces actives d'oxygène telles que l'ozone, l'oxygène singlet et / ou les oxydes métalliques, dont les oxydes et hydroxydes de manganèse sont les principaux responsables. Très réactif et très présent dans les sols (Li et al., 2003).

Le potentiel redox du MnO_2 permet par exemple d'oxyder des impuretés organiques fonctionnalisées telles que le phénol, l'aniline ou les triazines. Certains facteurs peuvent influencer la vitesse des réactions d'oxydation comme la valeur pH, les substances dissoutes telles que Mn^{2+} , Ca^{2+} (Zhanget al., 2008). Les substances organiques qui épaississent la

surface des sites réactifs et se lie de manière covalente au cation radicalaire peuvent également influencer les réactions d'oxydation (Lietal, 2000).

I.9. Règlementation pour l'usage des pesticides

Les pesticides sont devenus un élément important de la technologie agricole et de la lutte contre les vecteurs de maladies dans le monde en développement ; son importance est directement liée aux ravages causés par les ravageurs sous les tropiques. L'utilisation de pesticides est actuellement le moyen le plus rapide et le moins cher de réduire les dommages causés par les parasites (Philogène, 1985).

Les pays du tiers monde utilisent environ 15 % des pesticides dans le monde. Cette utilisation se fait dans des conditions loin d'être idéales : énorme influence des entreprises multinationales, absence d'intervention gouvernementale adéquate en raison d'un manque de réglementation ou d'un encadrement insuffisant (Philogène, 1985).

Les pesticides étant des produits chimiques toxiques et donc dangereux, la loi fixe les modalités de leur approbation., enregistrement, classification, étiquetage, emballage, fabrication, formulation, importation, exportation, commercialisation, publicité, vente, livraison, transport, stockage, disponibilité, utilisation et destruction. La plupart des pays ont des lois sur l'homologation et le contrôle des pesticides qui varient d'un pays à l'autre (Bettiche, 2017). Cette section contient la législation, les conventions qui traitent des pesticides et les règles pour leurs résidus dans les différentes matrices environnementales.

I.9.1. Législation Algérienne

En Algérie, ce contrôle a évolué au fil du temps. La promulgation de la loi n° 87-17 du 08/01/1987 relative à la protection des végétaux a permis de prendre des mesures relatives à la fabrication, l'étiquetage, le stockage, la distribution, la commercialisation et l'utilisation des produits phytopharmaceutiques à des fins agricoles. Selon cette loi, aucun pesticide ne peut être commercialisé, importé ou fabriqué s'il n'a pas été approuvé (Bettiche, 2017).

Le Décret administratif n° 95-405 du 2 décembre 1995, relatif aux conditions d'homologation, de production, de vente et d'utilisation des pesticides, et la mise en place d'un comité chargé de la recherche sur l'agrément des produits phytosanitaires et les demandes de production. L'arrêté administratif n° 99-156 du 20 juillet 1999 complétait le point précédent et stipulait les conditions d'importation et d'exportation des produits phytosanitaires agricoles. L'arrêté de mars 2000 définit les modalités et les instructions d'emballage des produits

phytosanitaires agricoles. Arrêté administratif n ° 10-69 du 31 janvier 2010, fixant les mesures applicables à l'importation et à l'exportation de produits phytosanitaires agricoles(Bettiche, 2017).

Le Décret administratif n ° 95-405 du 2 décembre 1995, relatif aux conditions d'homologation, de production, de vente et d'utilisation des pesticides, et la mise en place d'un comité chargé de la recherche sur l'agrément des produits phytosanitaires et les demandes de production. L'arrêté administratif n ° 99-156 du 20 juillet 1999 complétait et complétait le point précédent et stipulait les conditions d'importation et d'exportation des produits phytosanitaires agricoles. L'arrêté de mars 2000 définit les modalités et les instructions d'emballage des produits phytosanitaires agricoles. Arrêté administratif n ° 10-69 du 31 janvier 2010, fixant les mesures applicables à l'importation et à l'exportation de produits phytosanitaires agricoles (Ministère de l'agriculture et du développement rural).

Le Plan National des Gestion des Déchets Spéciaux(2003-2013) régleme la destruction des déchets contaminés par les PCB37 et les pesticides périmés. La fabrication, l'importation et l'utilisation de ces substances sont interdites. Il s'agit de déchets au sens de la loi 01/19 relative à la gestion, au contrôle et à l'élimination des déchets (Bettiche, 2017).

I.9.2. Convention

L'Algérie a ratifié les conventions de Bâle et de Stockholm. Ces accords concernent la gestion des produits chimiques et des pesticides tout au long de leur cycle de vie. L'Algérie n'a pas encore ratifié la convention de Rotterdam(Bettiche, 2017).

I.9.2.1. Convention de Bâle

La convention de Bâle est entrée en vigueur le 5 mai 1992. Les deux parties ont des obligations spécifiques d'échanger des informations, il s'agissait notamment de notifications sur les définitions nationales des «déchets dangereux», qui ont élargi le champ d'application de la convention: l'Algérie a ratifié et mis en œuvre la convention le 14 décembre 1998(Bettiche, 2017).

I.9.2.2. Convention de Stokholm

La convention de Stockholm est un traité international visant à éliminer ou à réduire 12 types de polluants organiques persistants, ce qu'on appelle la «douzaine sale» (Certification UTZ, 2014). Il a été adopté à Stockholm, en Suède, le 22 mai 2001, et est entré en vigueur le 17 mai 2004. Actuellement, il compte 152 signataires. L'Algérie a signé la convention de

Stockholm le 9 mai 2001 et a ratifié et mis en œuvre la convention le 21 décembre 2006 (Bettiche, 2017).

I.9.2.3. Convention de Rotterdam

La convention de Rotterdam est un traité international qui vise à donner aux pays le droit de refuser d'importer des toxines extrêmement dangereuses répertoriées dans le PIC40 du PNUE41. Il a mis fin au stockage de pesticides obsolètes ou interdits dans les pays en développement (Perdana, 2019).

En septembre 2006, 110 étaient parties à la convention. Ils sont actuellement 155. L'Algérie a volontairement participé à la procédure prior informed consent (PIC) mais n'a pas encore ratifié la convention (Matee, 2006).

I.9.3. Normes

D'un point de vue réglementaire, seules les eaux souterraines et de surface sont soumises à des contrôles de présence de pesticides avec des normes de qualité (Alix et al., 2005).

L'application de l'approche physico-chimique est l'approche la plus ancienne et la plus largement utilisée pour évaluer la qualité de l'environnement. Il existe déjà des méthodes permettant d'analyser de nombreux pesticides dans des matrices environnementales. Les résultats sont généralement interprétés en comparant les valeurs obtenues avec des valeurs de référence, qui dans la plupart des cas n'existent que pour l'eau (Bettiche, 2017).

I.9.3.1. Normes pesticides dans l'eau potable

Actuellement, les valeurs de référence utilisées sont principalement celles qui ont été établies pour les normes de buvabilité: 0,1 µg / l en général pour chaque substance et 0,5 µg / l pour toutes les substances selon la directive 80/778 / EEC, 1980 (Alix et al., 2005) et l'arrêté du 20 décembre 2001 actualisé en France relatif à l'eau du robinet (Scheyer, 2004) et relatif à la qualité de l'eau potable mis à jour en 2006 (Normes de l'OMS sur l'eau potable).

I.9.3.2. Normes pesticides dans les aliments « Codex Alimentarius »

La limite maximale de résidus (LMR) est le niveau le plus élevé de résidus de pesticides autorisé par la loi dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux. Ils visent à garantir que les consommateurs bénéficient des niveaux d'exposition les plus faibles possibles. Ces normes ont été élaborées par l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (ONUAA) (FAO) et le "Codex Alimentarius" ou "Code alimentaire" créé par

l'OMS en 1963. Le but est d'élaborer des normes alimentaires sous le règlement (CE) n°396/2005 internationales harmonisées et des pratiques commerciales visant à protéger la santé, les consommateurs et à promouvoir une alimentation équitable (Bettiche, 2017).

I.9.3.3. Normes pesticides dans l'air

Il n'existe aucun moyen systématique de surveiller la pollution par les pesticides dans l'air. De plus, il n'y a pas de normes de sécurité qui fixent des limites pour les concentrations de pesticides dans l'air (Scheyer, 2004).

I.9.3.4. Normes pesticides dans le sol

Étant donné qu'il y a tellement d'ingrédients actifs qui sont utilisés dans les cultures et atteignent le sol, il est difficile d'établir des normes de sol. De plus, les pesticides ont des effets toxicologiques plus importants sur les personnes par le biais de l'eau, de la nourriture et de l'air, ce qui fait de ces matrices un facteur prioritaire dans les normes de résidus de pesticides. Bien qu'il n'y ait pas de normes algériennes ou de normes internationales, certains pays ont établi des normes pour certaines substances actives (principalement les organochlorés), telles que (Mawussi, 2008) :

a) Lindane des Pays-Bas ($0,05 \mu\text{g.kg}^{-1}$), aldrine ($2,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$), dieldrine ($0,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$) et endrine ($1 \mu\text{g.kg}^{-1}$). Seuil de pollution des sols pour α - endosulfan, β -endosulfan, endosulfan total ($50 \mu\text{g.kg}^{-1}$).

b) La valeur guide pour les sols contaminés au Canada est 2-4 Dichloro-diphényltrichloroéthane (DDT), 4-4 Dichloro-diphényl-Exachloroéthane (DDE), 4-4 DDT et heptachlore pour sol sec avec $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Mawussi, 2008).

Chapitre II

II. Biodégradation des pesticides

Les micro-organismes qui décomposent les pesticides sont principalement des bactéries et des champignons (Chaussod et al., 1986). L'activité de la flore microbienne dans le processus de dégradation dépend non seulement des propriétés génétiques de l'enzyme qui détermine la nature de la réaction chimique, mais aussi de l'environnement qui affecte son développement et sa survie (Calvet et al., 2005).

II.1. Les microorganismes dégradants les pesticides

Plusieurs micro-organismes sont décrits dans la littérature pour la dégradation des pesticides. Concernant les bactéries, plusieurs genres d'espèces sont décrits comme capables de se dégrader et d'utiliser différents pesticides comme seule source de carbone et d'énergie (Ma et al., 2009).

II.1.1. Les Actinomycètes

En raison de leurs systèmes enzymatiques riches, les actinomycètes sont parmi les groupes les plus importants qui décomposent les substrats les plus complexes et les plus divers tels que les pesticides (Subhajib, 2012). Les membres de ce groupe de bactéries Grampositives se sont avérés de dégrader les pesticides avec des structures chimiques très différentes, y compris les organochlorés, les s-triazines, les triazinones, carbamates, organophosphates, organophosphonates, acétanilides et sulfonilurées (Schrijver et al., 1999).

La biodégradation du pesntachlorophénol (PCP) a été démontrée chez les actinomycètes des genres *Mycobacterium*, *Rhodococcus* et *Mycobacteriumchloropheno-licum* PCP-1 (anciennement *Rhodococcuschlorophenolicus* PCP-1) peuvent croître avec le PCP comme seule source de carbone et d'énergie (Schrijver et al., 1999).

La souche d'actinomycète ATCC 4916 a produit de la peroxydase de manganèse (MnO_2) et a montré une activité d'uréase, qui pourraient toutes les deux être potentiellement liées à la dégradation du Diuron (Schrijver et al., 1999). Des études faites par Fuentes et ses collaborateurs, montrent que douze souches d'Actinomycètes, isolées de sites contaminés par des pesticides organochlorés et appartenant aux *Micromonospora* genera, pu se développer en présence de chlordane, de lindane et de méthoxychlore. Ils ont également pu éliminer ces composés du milieu de culture ou les dégrader (Fuentes et al., 2010).

II.1.2. *Bacillus*

En effet, dans une étude sur la dégradation du parathion par une culture mixte de *Bacillus*, il s'avère que la dégradation est obtenue en réduisant le groupe nitro qui est hydrolysé en p- aminophénol. Egalement la souche *Bacillus thuringiensis* a démontré sa capacité de dégrader le Malathion dans un environnement pauvre en sel, En Ajoutant le glucose et l'extrait de levure, ce qui augmente le taux de croissance de cette bactérie 10^5 fois, dégradant ainsi plus de 99% de la Malathion en seulement 30 jours (Sharmila et al., 1989 ; Zeinat et al., 2008).

La souche de *Bacillus circulans* utilise le fongicide captane comme seule source de carbone et d'énergie. Les microbes dégradent le captane par la voie d'hydrolyse initiale pour produire du cis 1, 2, 3, 6-tétrahydrophthalimide (Megadiet al., 2010). En chine, une souche de *Bacillus pumilus* NY971 peut dégrader le fongicide bénomyl et peut l'utiliser comme seule source de carbone et d'azote (Xiu et al., 2011).

II.1.3. *Flavobacterium* sp.

La bactérie *Flavobacterium*, séparée des eaux boueuses par culture d'enrichissement, décompose le diazinon dans un milieu de culture minéral, où le pesticide est la seule source de carbone. Cette bactérie hydrolyse rapidement le diazinon en 2-isopropyl-6-méthyl-4-hydroxypyrimidine, qui est métabolisé en dioxyde de carbone. Elle convertit également le parathion en p-nitrophénol (Sethunathan et al., 1973).

II.1.4. *Arthrobacter* sp.

Les *Arthrobacter* sp cométabolise le m-chlorobenzoate en un produit identifié comme étant le 4-chlorocatéchol. Les données indiquent que le cométabolisme par l'*Arthrobacter* résulte de la formation de produits par son système enzymatique oxydant le benzoate qui ne sont pas sollicités par les enzymes métabolisant le catéchol de la bactérie (Horvath et al., 1970).

Une souche d'*Arthrobacter* est capable de cliver la liaison éther du 2,4-D pour produire du 2,4-dichlorophénol, qui est ensuite converti en 3,5-di-chlorocatéchol (Figure 9), probablement par une enzyme du cytochrome P450 (Gavrilescu, 2005).

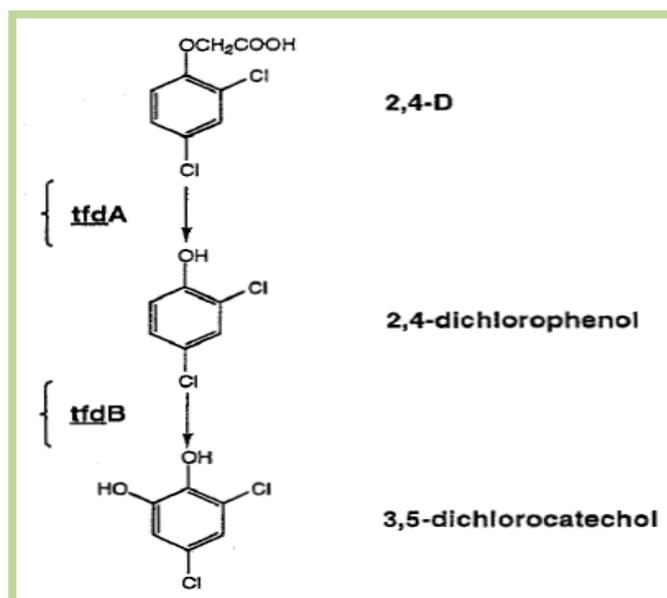


Figure 9. Dégradation bactérienne de 2,4-D (Gavrilescu, 2005).

II.1.5. *Pseudomonas* sp.

Dans une étude de Singh et Walker, il a été démontré que *Pseudomonas* peut hydrolyser le parathion pour produire du p-nitrophénol et du diéthylthiophosphate. Il en va de même pour *Pseudomonas putida* qui utilise le parathion comme source de carbone et source d'énergie (Singh et Walker, 2006).

La souche *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112 peut dégrader le chlorpyrifos en métabolites non toxiques en convertissant ce pesticide en 2-pyridinol ou en thiophosphate (Rokade et Mali, 2013). *Sphingomonas paucimobilis*, anciennement *Pseudomonas*, peut se développer sur lindane comme seule source de carbone et d'énergie (Nagata et al., 1999). Les souches de *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas mendocina* ont également une biodégradabilité élevée de la cyperméthrine et de la perméthrine, qui devrait être réduite jusqu'à 90 % en 15 jours (Mendoza et al., 2011).

Le pentachlorophénol ou PCP est un biocide organochloré qui était autrefois largement utilisé dans la préservation du bois, principalement comme fongicide. Il est également utilisé dans la fabrication du papier, la protection des tissus et comme bactéricide. Des études ont montré que les souches bactériennes peuvent prospérer sur le PCP, qui est la seule source de carbone et d'énergie. En conditions aérobies ou anaérobies, la biodégradation du pentachlorophénol est possible. La voie métabolique a été analysée en détail chez *Burkholderiacepacia* (pré-*Pseudomonas cepacia*) (Allister et al., 1996).

Les souches pseudomonas (respectivement *Pseudomonas sp. SW4* et *Pseudomonas sp. LW3*) peuvent être isolées dans des conditions de laboratoire et dégradent 85% du pyrisulfuron (100mg/l) en seulement 6 jours et en 30 jours, elles dégradent 61.3% du chlorimuron-méthyle (Huang et al., 2007).

Des bactéries appartenant aux genres *Pseudomonas* sont capables d'utiliser le carbofuran comme substrat de croissance (Figure 10), ils ont été isolés de sols avec une histoire antérieure de traitement avec carbofuran. Bon nombre des isolats décrits utilisent de la méthylamine, qui est libérée par les hydrolyses de la liaison ester N-méthylcarbamate du carbofuran comme seule source de carbone ou d'azote (Desaint, 2000).

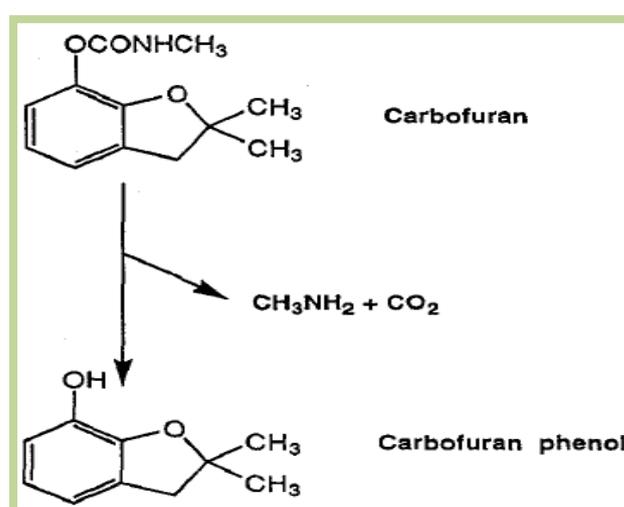


Figure 10. Réaction initiale dans la dégradation du carbofuran par les bactéries (Desaint, 2000).

II.1.6. *Comamonadaceae*

Une nouvelle souche bactérienne nommée LW1 de la famille *Comamonadaceae* utilise le 1-Chloro-4-nitrobenzène (1 C4NB) comme source de carbone d'azote et d'énergie (Figure 11). En condition anaérobie la souche LVV1 transforme le 1C4NB en 2-amino-5-chlorophénol. En présence d'oxygène et en absence de NAD, une importante transformation du 2-amino-5chlorophénol en acide 5-chloropicolinique et un autre produit absorbant à 306 nm a été constatée (Savadogo, 2014).

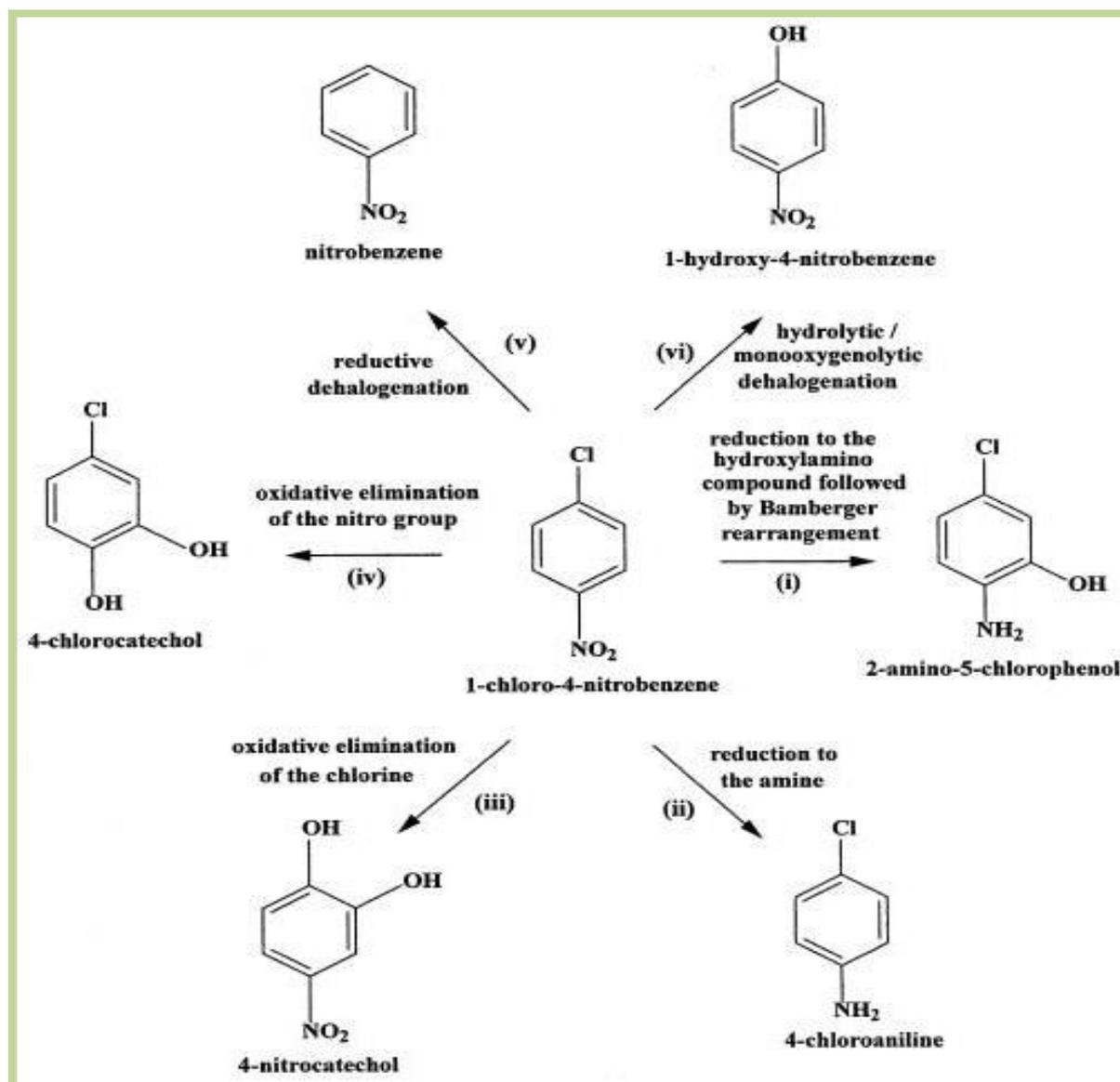


Figure 11. Voie proposée pour le catabolisme de 1C4NB par la souche bactérienne LW1 (Savadogo, 2014).

II.1.7. *Trichoderma viride*

Divers champignons du sol ont été testés pour leur capacité à dégrader l'insecticide photodieldrine. Des neuf espèces étudiées, *Trichoderma viride* était la seule qui a dégradé l'insecticide dans une mesure appréciable en composés hydrosolubles non insecticides en 4 à 5 semaines. Ces produits représentent 32 à 41 % du carbone radioactif appliqué au milieu de culture. La dégradation est fonction du mycélium vivant qui métabolise l'insecticide et excrète les composés hydrosolubles dans le milieu de culture (Tabet et Lichtenstein, 1976).

La dégradation de la photodieldrine par *T. viride* a été associée à une diminution continue des métabolites radioactifs solubles dans l'hexane et à une augmentation progressive des produits hydrosolubles dans les milieux fongiques au fil du temps et le contenu dans le mycélium est directement proportionnel à la masse du champignon (Tripathi et al., 2013).

II.2. Mécanisme de dégradation des pesticides

A l'intérieur et/ou à l'extérieur des microorganismes peuvent se dérouler les réactions de dégradation des pesticides, trois mécanismes sont considérés comme étant directement à l'origine de la dégradation microbienne des pesticides : ce sont le métabolisme direct, le cométabolisme (Figure 12) et la conjugaison (Domange, 2005).

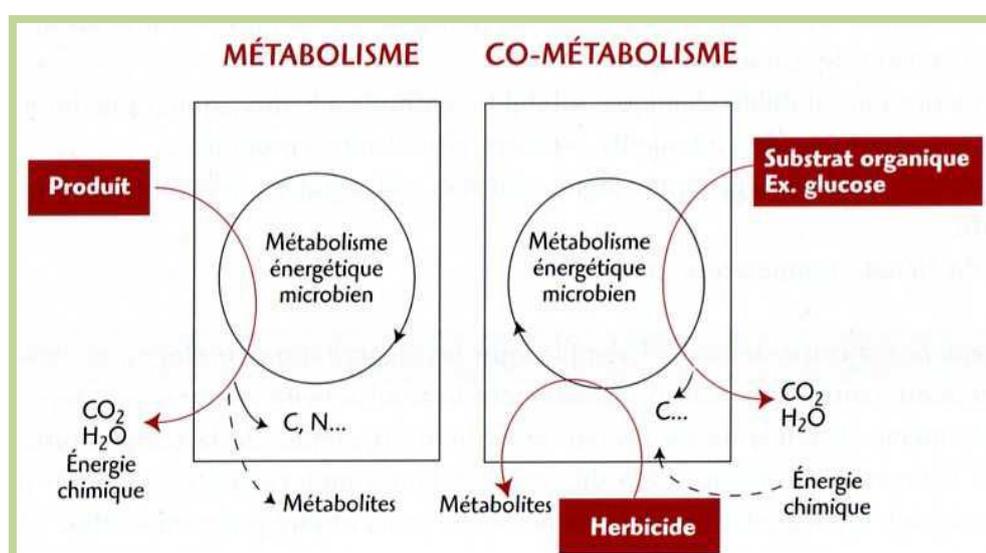


Figure 12. Schéma simplifié du métabolisme et du co-métabolisme d'un pesticide par les microorganismes (Domange, 2005).

II.2.1. Le métabolisme

Le métabolisme direct « la minéralisation » est la conséquence de l'utilisation des pesticides comme source d'énergie. De nombreux pesticides chimiques sont des analogues de composés naturels, qui peuvent être décomposés par des micro-organismes pour former des substances inorganiques, du dioxyde de carbone, exemple : l'atrazine (Figure 13) et de l'eau en tant que sources de nutriments microbiens. La minéralisation est le meilleur moyen de se dégrader. En effet, les pesticides sont complètement dégradés en matières inorganiques non toxiques (Ye, 2018).

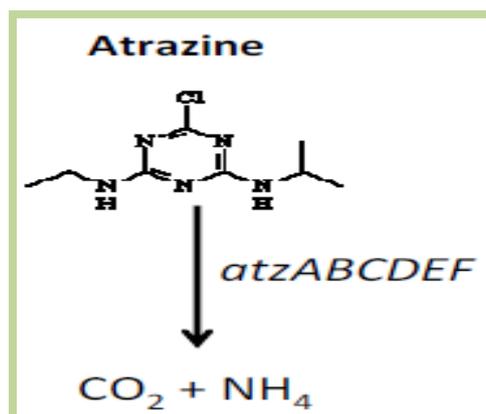


Figure 13. Métabolisme directe de l'atrazine (Laurent, 2015).

II.2.2. Co-métabolisme

Le Co-métabolisme est un processus dans lequel les micro-organismes assurent leur maintien et leur reproduction au détriment d'un substrat organique et en même temps décomposent les pesticides sans être pour eux de source de l'énergie et des nutriments, un métabolisme dont les réactions initiales sont catalysées par des enzymes non spécifiques (Benslama, 2014). Pendant environ 40 ans la dégradation de l'atrazine (Figure 14) était connue pour être co-métabolique (Laurent, 2015).

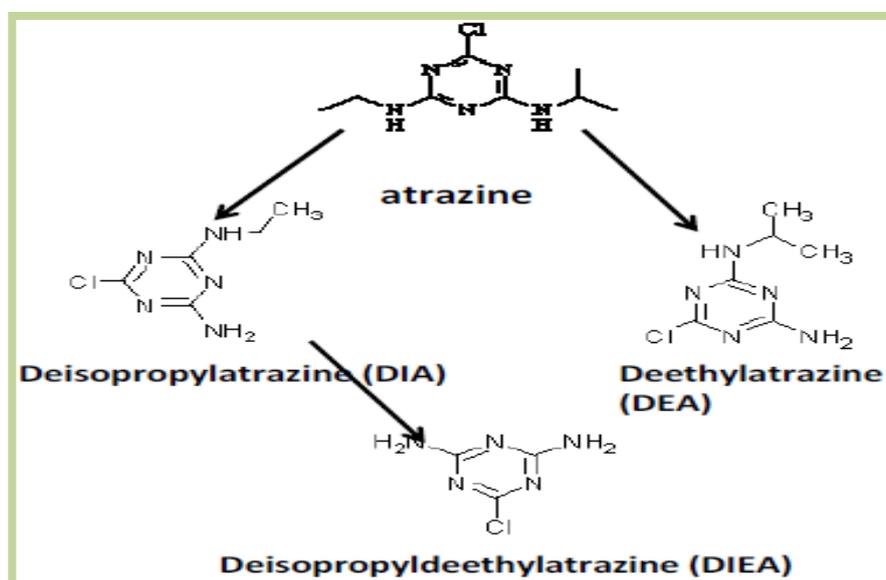


Figure 14. Co-métabolisme de l'atrazine (Laurent, 2015).

II.2.3. La Conjugaison et la condensation

II.2.3.1. La conjugaison

Elle conduit à l'union de deux molécules, la méthylation et l'acétylation sont deux réactions de conjugaison effectuées par la microflore du sol, comme la méthylation du pentachlorophenol par une culture de *Trichoderma viride* et l'acylation de dérivés de l'aniline, métabolisme fréquent de la dégradation des pesticides, par des cultures de *Talaromyces wortmani* et de *Fusarium oxysporium* ont été observées (Benslama, 2014).

II.2.3.2. La condensation

La condensation résulte en une combinaison de 2 à 5 molécules et des polycondensats de taille moléculaire importante lorsqu'un plus grand nombre de molécule se réunissent, les réactions de polycondensation induites par les microorganismes jouent un rôle important dans l'incorporation des pesticides dans les substances humiques du sol et contribuent à la formation des résidus liés (Benslama, 2014).

Une liste des microorganismes capables de dégrader divers composés de pesticides est présentée dans le Tableau 1.

II.3. Les facteurs influençant la dégradation

Pour être biodégradables avec succès, les micro-organismes doivent bénéficier des meilleures conditions de survie et ainsi permettre le bon déroulement de ce processus. Cependant, l'utilisation des technologies biologiques nécessite une période de temps très flexible et des conditions physico-chimiques très spécifiques, car le placement de cultures biologiques dans un environnement donné peut parfois être complexe (Aubertot, 2005).

II.3.1. Facteurs biologiques

Le sol est un milieu aéré et riche en nutriments qui peut assurer la survie de divers organismes. Son fonctionnement est basé sur les interactions biologiques qui s'établissent entre ces différents organismes, ainsi que sur les relations qu'entretiennent ces derniers avec les constituants organiques et minéraux du sol. Ces interactions résultent de la libération d'éléments nécessaires au fonctionnement du sol et l'enrichissent pour devenir un environnement propice à la survie d'autres organismes vivants (Djical, 2003).

Tableau 1. Micro-organismes isolés qui décomposent les composés organophosphorés (Benslama, 2014).

Composé	Microorganismes	Mode de dégradation
Chlorpyrifos	<i>Enterobactersp.</i>	Catabolique (C, P).
	<i>Flavobacteriumsp.</i>	Co-métabolisme.
	<i>Phanerochaetechrysosporium</i>	Catabolique (C).
	<i>Aspergillus sp.</i>	Catabolique (P).
Parathion	<i>Pseudomonas sp.</i>	Catabolisme(C, N).
	<i>Bacillus spp.</i>	Co-métabolisme.
Glyphosate	<i>Bacillus megaterium.</i>	Catabolisme (P).
	<i>Rhizobium sp.</i>	Catabolisme (P).
	<i>Penicillium citrium.</i>	Co-métabolisme.
	<i>Trichodermaviridae.</i>	Catabolisme (P).
Coumaphos	<i>Nocardiodessimplex.</i>	Co-métabolisme.
	<i>Nocardiastrain B-1.</i>	Catabolisme (C).
Monocrotophos	<i>Bacillus spp.</i>	Catabolisme (C).
	<i>Clavibactermichiganense.</i>	Catabolisme (P).
Fenitrothion	<i>Burkholderiasp.</i>	Catabolisme(C).
	<i>Arthrobacteriumsp.</i>	Co-métabolisme.

Le symbole entre parenthèses après le mode de dégradation représente le type de nutriment que le pesticide fournit aux micro-organismes dégradants. C, carbone ; N, azote ; P, phosphore.

II.3.1.1. Les interactions entre les bactéries

La dégradation de certains produits ou substrats dans le sol par des micro-organismes s'effectue souvent dans une chaîne de réactions, où chaque micro-organisme est

responsable d'une étape de dégradation ou différents micro-organismes rivalisent pour le même substrat pour obtenir des produits qui favorisent la survie et le développement d'autres microorganismes on parle d'interactions positives comme le commensalisme et le mutualisme. Par contre les microorganismes peuvent avoir un effet néfaste sur d'autres microorganismes, on note la production d'antibiotiques ou de composés toxiques. Parmi les interactions négatives on met en évidence l'antibiose, la compétition ou l'amensalisme (Djical, 2003).

II.3.1.2. Les interactions bactéries-plantes

Les bactéries peuvent également interagir avec d'autres organismes non microscopiques tels que les plantes. Ces interactions peuvent être symbiotiques ou non symbiotiques (Viollet, 2010).

a. Les interactions symbiotiques

Selon De Bary, l'interaction symbiotique entre les micro-organismes est une coexistence de deux espèces différentes, dont les deux espèces bénéficient ; la plus grande est appelée l'hôte et la plus petite est le symbiote. La formation de certains organes, appelés nodules, peut être le résultat de l'interaction entre la plante hôte et son symbiote (Bresson, 2013).

b. Les interactions non symbiotiques

Des nodules peuvent se former sans contact direct entre les plantes et les bactéries. Ces derniers colonisent la rhizosphère et produisent des composés organiques essentiels au développement du système racinaire des plantes. Elles peuvent recycler et dissoudre les éléments minéraux comme l'azote, le phosphore et le calcium ; elles peuvent également synthétiser des vitamines, des acides aminés et des auxines. De cette façon, ils peuvent aider à stimuler la croissance des plantes ou à inhiber les organismes pathogènes des plantes en sécrétant d'autres substances responsables de cela (Djical, 2003).

II.3.2. Facteurs physicochimiques

II.3.2.1. La température

La température est un facteur limitant pour la survie de la plupart des organismes vivants, elle affecte l'organisme directement ou indirectement, si nous parlons d'enzymes, leur activité augmente avec la température jusqu'à une limite de température optimale, à partir de laquelle se produisent des processus de dénaturation, qui réduisent par la suite les taux de croissance (Raby, 2013).

Une température relativement basse pourrait également ralentir le processus d'hydrolyse de certains herbicides adsorbés sur un matériau minéral argileux, compte tenu du pouvoir catalytique de ce dernier (Couture, 2009).

II.3.2.2. Le pH

Le pH est un paramètre important qui influence l'activité des systèmes de nettoyage biologique. Une plage de pH autour de 6 est idéale pour réduire l'inhibition par les contaminants organiques et inorganiques dans un système d'égout biologique (Raby, 2013). Conditions aux limites à la surface des minéraux argileux déshydratés (Couture, 2009).

II.3.2.3. Teneur en eau

La teneur en eau du sol peut déterminer la répartition du polluant dans les trois phases (solide, liquide, gazeuse) du sol (Boudouch, 2009). D'autre part, la quantité d'eau présente dans le sol est très importante pour le développement et le bon fonctionnement des réactions du sol, car sa présence en excès peut réduire l'acidité de surface du minéral, ce qui est nécessaire à la catalyse de la, et si la quantité est insuffisante, plusieurs réactions peuvent être bloquées (Couture, 2009).

II.3.2.4. La nature du sol, et de la matière organique

La structure et la nature du sol peut influencer la rétention des polluants (Boudouch, 2009). Les cycles biogéochimiques des éléments nutritifs peuvent être directement influencés par la quantité de polluants ou de matières organiques déversée dans le sol. La matière organique est essentielle pour maintenir le sol en bonne qualité et augmenter la productivité agricole, selon leur contenu en carbone et en azote, les microorganismes dégradent cette matière organique (Sithurain-Kende, 2010).

II.3.2.5. La porosité

Les agrégats du sol forment des pores, qui favorisent la circulation des gaz et des liquides dans les différents compartiments du sol. Les conditions d'aération du sol dépendent de la taille et de la forme des pores, de la présence d'organismes, du potentiel hydrique de l'eau (Djical, 2003). La porosité affecte également la teneur en oxygène du sol, qui est évidemment un facteur limitant pour la croissance et l'inhibition des microorganismes du sol (Djical, 2003).

II.4. Techniques d'isolement des souches dégradantes les pesticides

II.4.1. Enrichissement et isolement des souches bactériennes

Le protocole ci-dessous est proposé pour l'isolement des souches dégradantes les pesticides (Figure 15) à partir des échantillons provenant du site terrestre (Benslama, 2014):

-Les échantillons, prélevés des sols différents (agricoles, forestier, saharien), ont été broyés et tamisés à travers un tamis de 2 mm, puis est stockées à 4 C° pour l'isolement des bactéries dégradantes l'insecticide tel que le glyphosate.

- Pour chaque type de sol, deux échantillons de sol de 5g sont introduits dans des erlenmeyers de 250 ml contenant, respectivement 95ml de milieu minéral minimum 1(MMM1) et de milieu minéral minimum 2 (MMM2) (Annexe 01).

- Ensuite un volume de 120 µl de l'herbicide Rondup a été ajouté, après sa filtration stérilisante (0.22µm), à chaque erlenmeyers pour atteindre une concentration finale du glyphosate de 0.5g/l.

- Les cultures, ainsi obtenue, ont été incubées à une température de 30 C° sous une agitation de 150t/m pendant une semaine.

-Puis un volume de 5 ml de chaque culture a été transféré dans 95 ml de nouveaux milieux minimums stériles (MMM1 et MMM2) contenant, chacun, 1g/l de Glyphosate, incubées 7 jours a 30°C sous agitation 150 t/m.

-Trois autres transferts successifs ont été réalisés dans des nouveaux milieux minimums stériles contenant 3, 6 et 12 g/l de Glyphosate.

-A la fin, les dernières cultures des 2 milieux (MMM1 et MMM 2) ont été diluées etensemencées sur le milieu Plate Count Agar (PCA) (Annexe 01) additionné de 1g/l de Glyphosate. Les cultures sont, ensuite, incubées à 30°C pendant 24 heures, les colonies ont été prélevées et repiquées jusqu'à obtention de souches pures.

-Une fois les bactéries isolées, elles ont été cultivées sur la gélose Columbia (Annexe 01) et incubés à 37°C pour leur identification morphologique et physiologique.

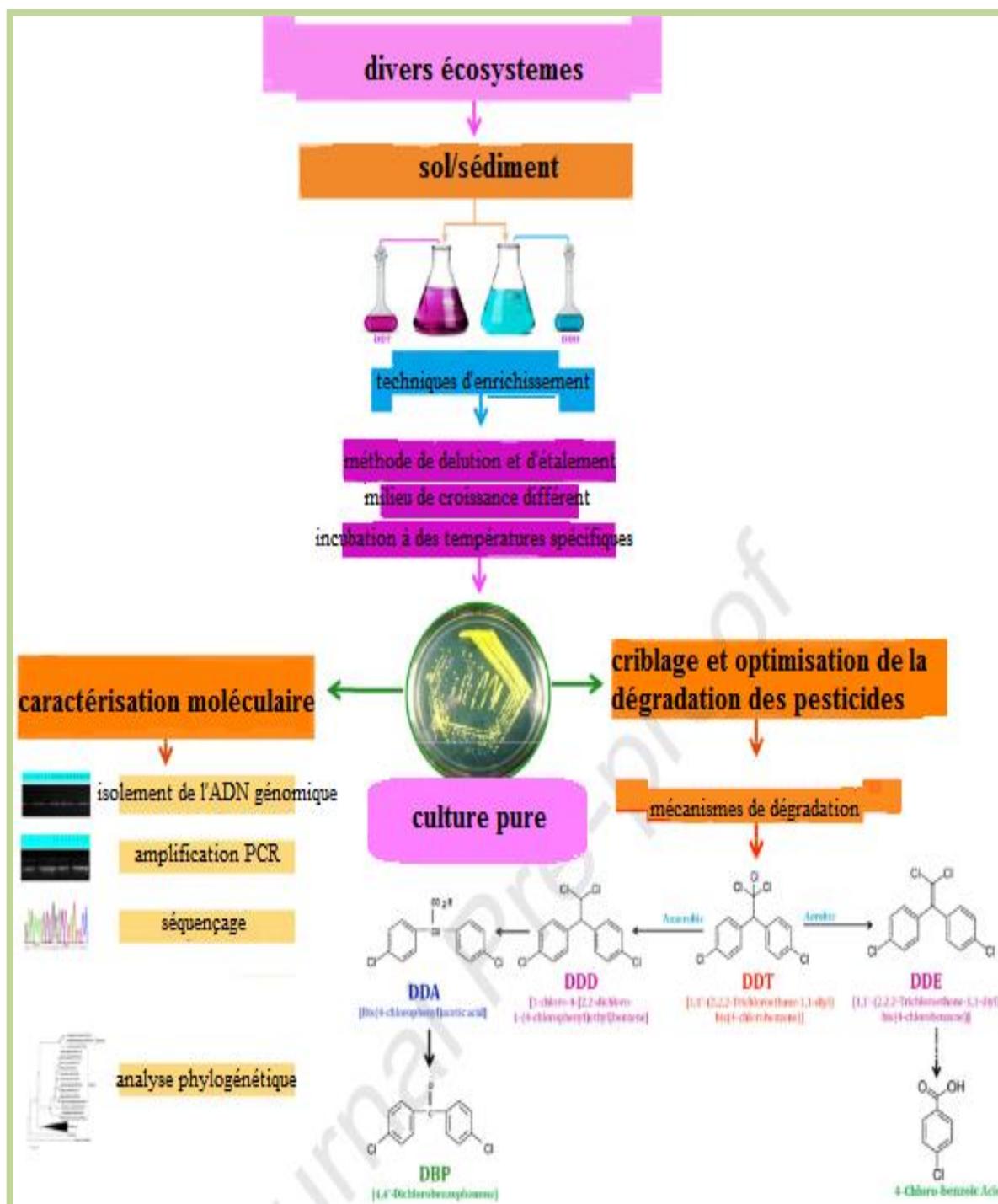


Figure 15. Diagramme représentant l'isolement et l'identification des bactéries dégradant les pesticides (Kumar et al., 2020)

II.4.2. Techniques d'identification des bactéries

II.4.2.1. Identification morphologique

L'incubation de colonies pures en milieu LuriaBertani(LB) solide, voir Annexe 01, est réalisée visuellement après une description macromorphologique (Figure 16) de la souche s'effectue visuellement, tels que la forme, le relief, la taille de la colonie, l'aspect de surface, les contours, transparence, la consistance et la couleur (Benslama, 2014).

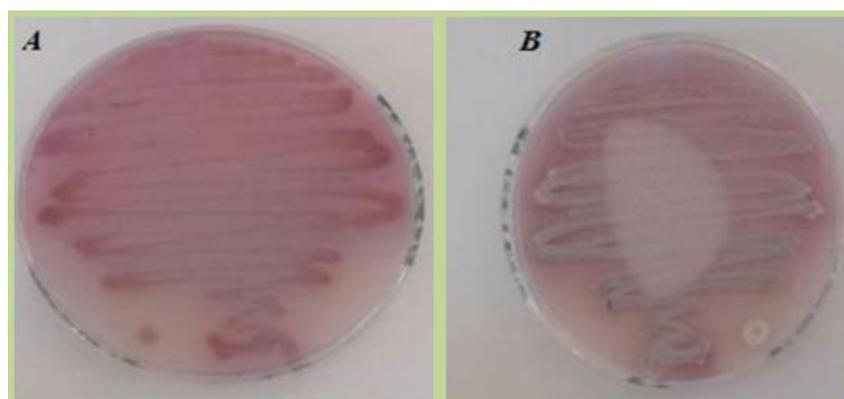


Figure 16.Aspect macroscopique des 2 souches représenté par l'apparition d'un mycélium de couleur marron (Benslama, 2014).

Les caractéristiques micromorphologiques, telles que la forme des cellules, le mode de groupement, la présence de spores et la mobilité, sont observés directement à l'état frais au microscope optique ($G \times 40$ a été utilisé et avec $G \times 100$ immersion), après application d'une goutte d'une culture bactérienne, en phase de croissance exponentielle, entre lames de microscope et lamelles, ou par coloration de Gram comme elle montre la Figure17 (Singleton, 1999).

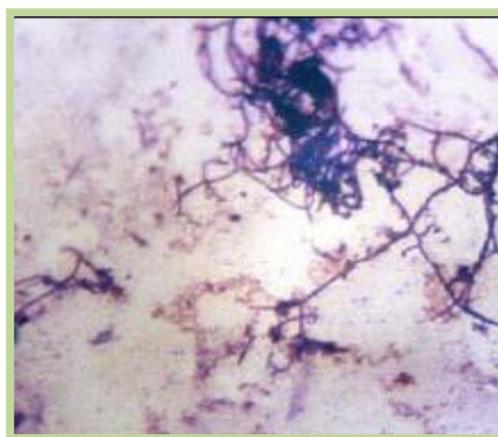


Figure 17.Aspect microscopique des isolats après coloration de Gram présentent un aspect mycélien (GX100) (Benslama, 2014).

Pour la mobilité de la souche, un test de confirmation de mobilité est réalisé dans des tubes en gélose mannitol mobilité en perçant la souche au centre sur ce milieu avec une pipette Pasteur (Figure 18). Elle est ensuite incubée pendant 24 heures à la température optimale (30°C) afin que les bactéries puissent synthétiser les flagelles nécessaires à leur déplacement. Lorsque les bactéries sont mobiles, elles se propagent à partir de la piqûre des graines et forment un nuage au milieu de l'arbre, sinon les bactéries restent immobiles (Hentati, 2018).

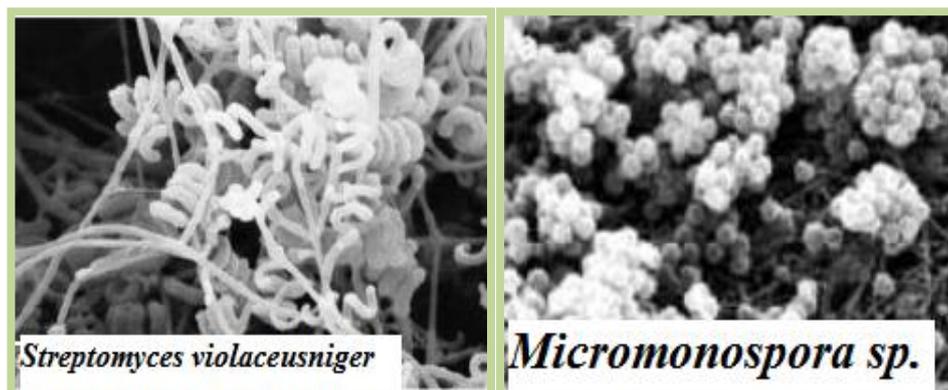


Figure 18. Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinomycètes non mobiles mono-sporulés (Hayakawa et al., 2004).

II.4.2.2. Identification biochimique

Les bactéries isolées ont été identifiées par différents tests biochimiques classiques : production d'oxydase, test de catalase, rouge de méthyle, test de Vogues Proskauer (MR-VP), utilisation de citrate, test de liquéfaction de la gélatine, test TSI (Tri SugarIron), fermentation glucidique, test de production d'indole, et Sensibilité aux antibiotiques (Yalaoui-Guellal, 2017).

a. Test de l'oxydase

Le test d'oxydase permet la détection de l'enzyme phénylène diamine oxydase (PDA) dans les bactéries. On dépose à l'aide d'une pipette pasteur une goutte de suspension bactérienne pure sur un disque de papier filtre ordinaire (disques oxydases) et on l'imbibe avec de la réactive oxydase N-diméthylparaphénylène diamine. L'apparition d'une tache violette après 30 secondes indique que le test est positif et que la bactérie contient du cytochrome oxydase (Figure 19), dans le cas contraire (test négatif) où les bactéries n'ont pas cet enzyme, il n'y a pas d'apparition de coloration (Singleton, 1999).

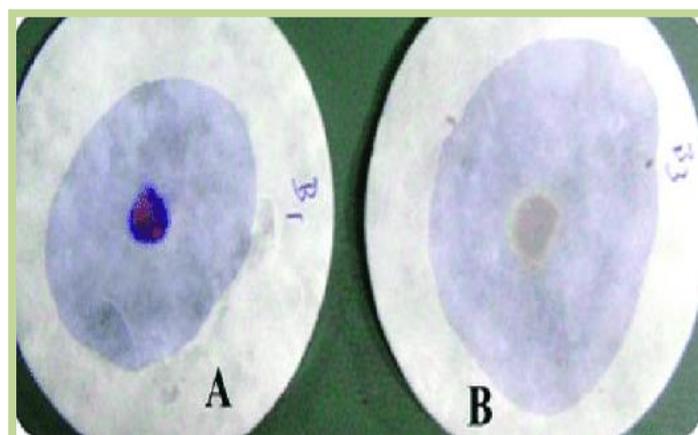


Figure 19. Test positif de l'oxydase (Meziani et Hamidechi, 2012).

b. Test de catalase

La catalase est une enzyme présent chez les bactéries aérobies strictes et les bactéries anaérobies facultatives. Une goutte de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) H_2O_2 est déposée sur une lame propre, puis, elle est mise en contact avec une colonie isolée sur milieu LB solide, prélevée directement avec une pipette pasteur boutonnée. La présence de la catalase se traduit par l'apparition des bulles qui indiquent la dégradation de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (Figure 20). Par contre, l'absence des bulles indique que la bactérie ne possède pas l'enzyme (Kannika, 2003).

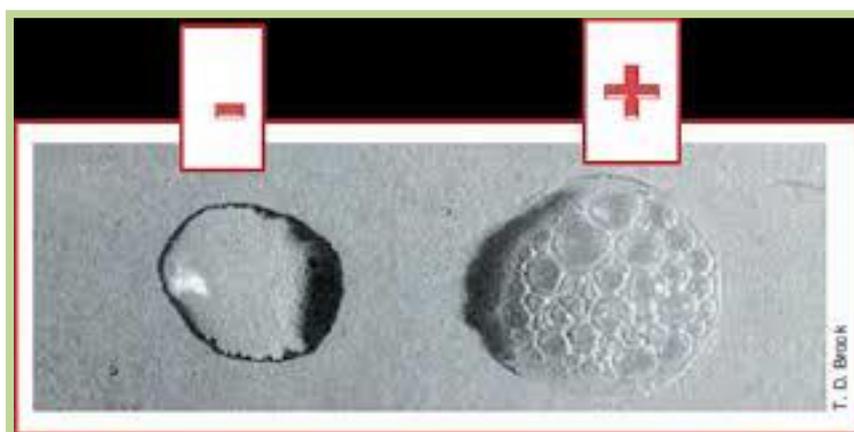


Figure 20. Test de la catalase (MezianietHamidechi, 2012).

c. Test de rouge de méthyle (RM)

Le milieu MethylRed-Voges Proskauer (R.M.V.P) (Annexe 01) a été ensemencé avec 0,1 ml de la culture. Après une période d'incubation à 37°C pendant 7 jours, 5 gouttes de la solution de rouge de méthyle (Annexe 02) sont ajoutées au milieu. L'apparition de la couleur rouge (Figure 21) ($pH \leq 5$) indique un résultat positif (RM +) (Marchal et Bourdon, 1982).

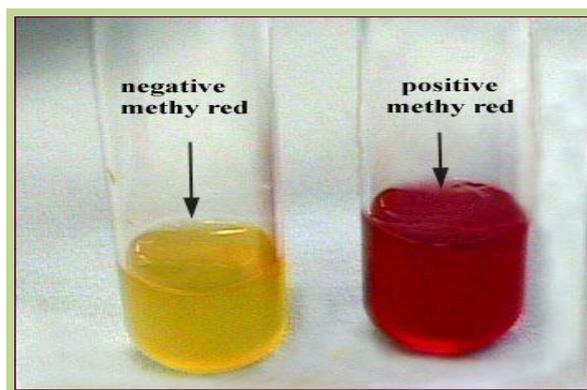


Figure 21. Aspect de Test de RM positif et négatif (Meziani et Hamidechi, 2012).

d. Test de Voges-Proskauer (VP)

A partir de la même culture préparée pour le test RM, 1 ml de culture a été transféré dans un tube à essai stérile, puis 0,6 ml de solution A (VP1) et 0,2 ml de solution B (VP2) ont été ajoutés l'un après l'autre (Annexe 02). Le tube est agité doucement pour exposer le milieu à l'oxygène de l'air puis le laisser intact. L'apparition de la couleur rouge au bout de 15 minutes (Figure 22), mais pas plus d'une heure après l'ajout du réactif, indique un résultat positif (Marchal et Bourdon, 1982).

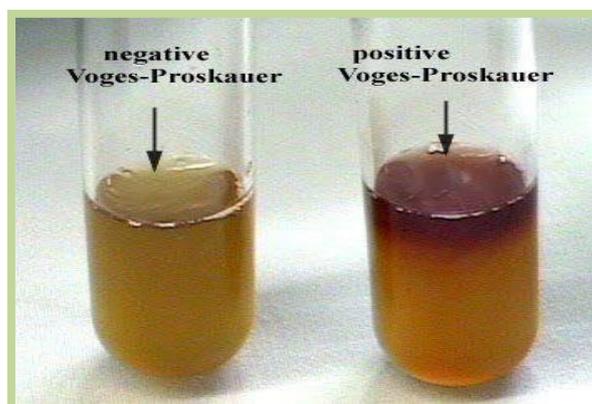


Figure 22. Aspect de test VP positif et négatif (Meziani et Hamidechi, 2012).

e. Dégradation de la gélatine

La souche à tester estensemencée dans une boîte de pétri avec un milieu à base de gélatine (Annexe 01). La gélatineensemencée est incubée à 37°C pendant 7 jours. L'hydrolyse de la gélatine (Figure 23) a été indiquée par la liquéfaction du milieu après que la boîte ait été maintenue à 4°C pendant 20 à 30 minutes (Kannika, 2003).

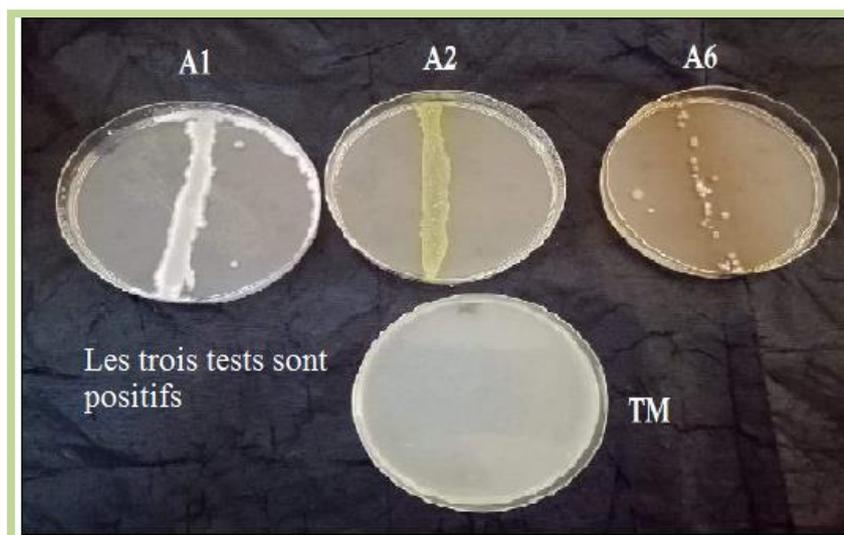


Figure 23. Test positif d'hydrolyse de la gélatine en présence des actinomycètes (Meziani et Hamidechi, 2012).

f. Utilisation de citrate

Le milieu Simmons au citrate est découpé sur une pente puis incubé à 28°C pendant 24 heures. L'utilisation de citrates (Figure 24) entraîne un changement de couleur du vert au bleu (Ali, 2011).

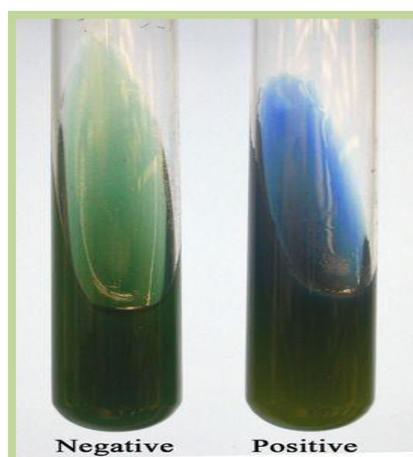


Figure 24. Test d'utilisation du citrate (Meziani et Hamidechi, 2012).

g. Test TSI

Ce test peut être utilisé pour vérifier l'utilisation de glucose et de lactose par la souche examinée. L'ensemencement du milieu Triple Sugar Iron (TSI) est réalisé en perçant le culot centralement et en stries à hauteur de la pente (Figure 25). Il est ensuite incubé à 28°C pendant 24 heures. La production de H₂S à partir d'acides aminés soufrés est indiquée par un

noircissement lors de la l'inoculation. Si le culot vire au jaune, le test de glucose est positif et si le culot reste rouge, le test est négatif. Si la pente vire au jaune, le test lactose est positif(Ali, 2011).



Figure 25. Aspect du milieu TSI (Meziani et Hamidechi, 2012).

h. Dégradation des glucides et dérivés

Test utilisé Pour déterminer la capacité des micro-organismes à utiliser un glucide comme seule source de carbone, en condition aérobie. 0,1mL de culture étalé à la surface de boîte. Puis l'ajoute ensuite les sources de carbone sous forme de disques contenant les sucres à tester tels que : glucose, maltose, saccharose, galactose, lactose, raffinose. On peut remplacer les disques par des puits formés sur la gélose à l'aide d'un emporte-pièce. Les disques comme les puits, doivent être distants d'au-moins 15 mm. Les boites sont incubées à 30°C pendant 24 à 48h.

Lecture : Lorsque le sucre est utilisé (Figure 26), il se forme une zone de croissance autour du disque ou du puits (Jeddy et al., 2012).



Figure 26. Test d'auxanogramme (Jeddy et al., 2012).

i. Formation de l'indole

4,5 ml d'eau physiologique contenant 4 gouttes de l'urée-indole sontensemencés par 0,5 ml de la souche. La lecture est effectuée après 24 heures incubation à 30°C. 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs (annexe 02) sont ajoutées à 1ml de la culture. Une réaction positive (Figure 27) se traduit par l'apparition d'un anneau rouge vermillon à la surface (Yalaoui-Guellalet Kecha, 2012).

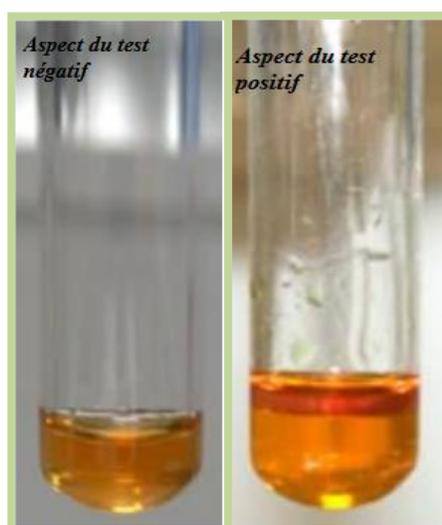


Figure 27. Test d'indole (Meziani et Hamidechi, 2012).

j. Production de sulfure d'hydrogène l'H₂S.

Les souches bactériennes sont ensemencées par pique centrale dans un tube à essai avec du milieu acétate de plomb (Annexe 02), de plus, on fait des stries sur toute la surface de la

surface de la pente. Les tubes sont incubés pendant 7 jours à 37°C. Un résultat positif (Figure 28) de couleur brunâtre est apparaît le long de la pique et sur toute la surface de la pente (Kannika, 2003).

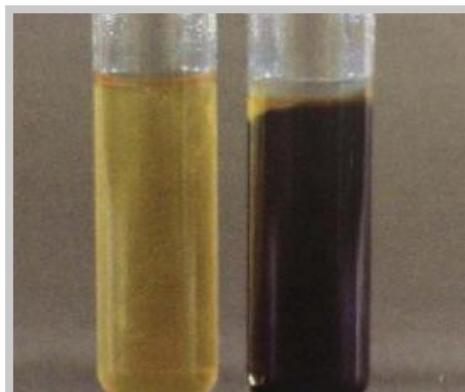


Figure 28. Test positif de production de sulfure d'hydrogène (Talaiekhosani et al., 2015).

k. Sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité des isolats aux antibiotiques est testée sur des antibiotiques de familles différentes (Figure 29) par la technique de diffusion sur milieu gélosé Mueller Hinton (MH) (Annexe 01). Une suspension bactérienne standardisée est appliquée à la surface du milieu de culture avec des écouvillons, les disques d'antibiotiques sont placés à équidistance, puis les boîtes sont conservées 1 à 2 heures. La lecture et l'interprétation des résultats sont réalisées après incubation à 37°C pendant 48 heures, en mesurant le diamètre de la zone translucide autour de chaque disque (Bauer et al., 1966 ; Yalaoui-Guellal, 2017).



Figure 29. Test d'antibiogramme (Meziani et Hamidechi, 2012).

II.4.2.3. Identification phylogénique par séquençage d'ARNr 16S

L'analyse phylogénétique des souches isolées est réalisée en comparant la séquence du gène qui code pour la sous-unité 16S de l'ARN ribosomique (ARNr 16S) avec les séquences stockées dans la GenBank. Plusieurs étapes sont nécessaires à cet examen phylogénétique présentant dans la Figure 30 (Hentati, 2018).

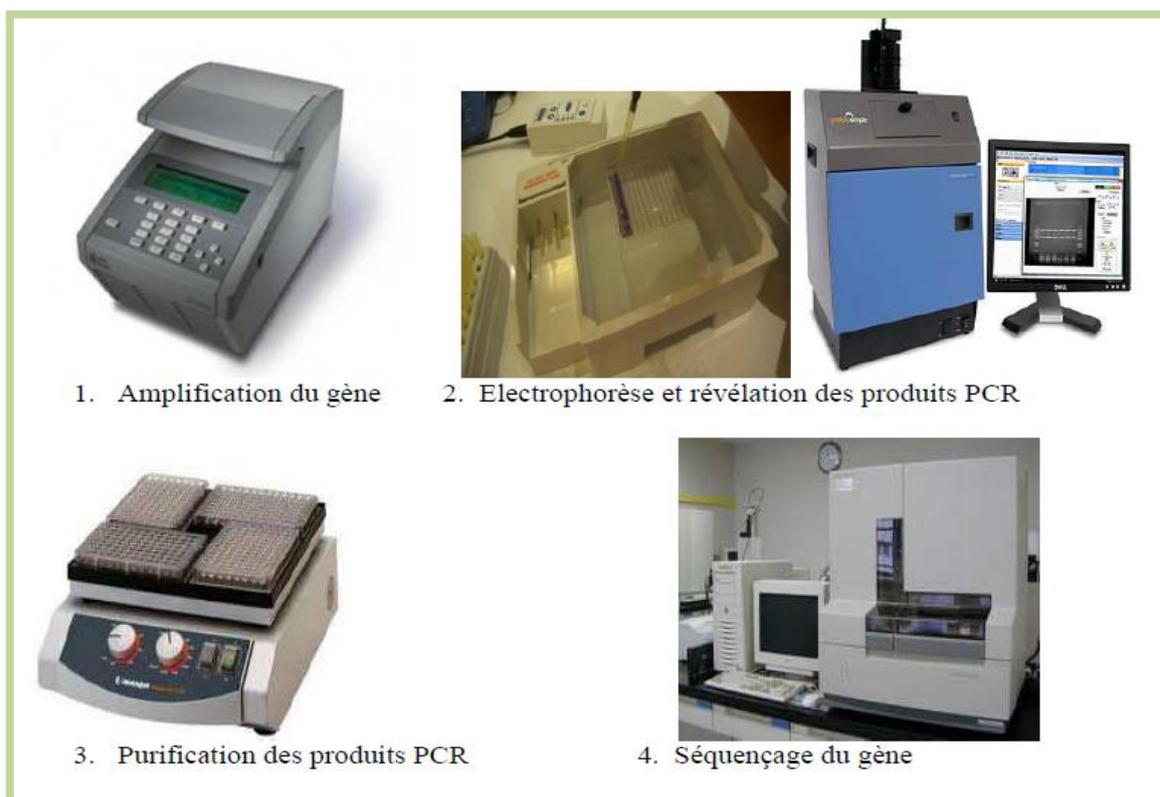


Figure 30. Etapes de l'identification phylogénique (Benslama, 2014).

a.Extraction de l'ADN génomique

D'après Gevers et collaborateurs, l'extraction de l'ADN génomique se fait par les étapes suivant (Gevers et al., 2001) :

-La centrifugation de 10 ml de la culture bactérienne en phase exponentielle de croissance à 12000 rpm pendant 5 min.

-Le culot est dissous dans 487 µl de tampon Tris-EDTA (TE), Annexe 02, et 40 µl de lysozyme (pour détruire la paroi cellulaire) à une concentration de 20 mg/ml, puis incubé à 37°C pendant 1 heure.

-Ajouter par la suite 30 μ l de Dodecyl Sulfate de Sodium (SDS 10%) qui est un détergent qui détruit les membranes de la cellule et du noyau, supprime les liaisons non-covalentes de la protéine, permettant la dénaturation de la protéine, la molécule perd donc à terme sa conformation initiale et permet de dissocier l'ADN des protéines et 5 μ l de protéinase K à 20 mg/ml. Le mélange est incubé 1 h à 50 °C.

-Puis mélanger 100 μ l du NaCl (5 M) avec 800 μ l CTAB/NaCl (10% de CetylTriméthyl Ammonium Bromide (CTAB) dans une solution NaCl (0,7 M), et incubé 10 min à 65°C.

-Afin de séparer l'ADN des protéines, on mélange vigoureusement 750 μ l du chloroforme/alcool isoamylique dans les proportions 24:1 (v/v), et on centrifuge à 14000 rpm pendant 5 min. Le surnageant obtenu est transféré dans un tube Eppendorf de 1,5 ml.

-L'ajout de 300 μ l de phénol et de 300 μ l de chloroforme/alcool isoamylique (24:1 (v/v) est suivi d'une centrifugation 5 min à 14000 rpm. Le surnageant est transféré dans un nouveau tube.

-Pour précipiter l'ADN, on ajoute 600 μ l d'isopropanol froid et on incube les tubes dans la glace pendant 30 min. Après la centrifugation à 14000 rpm pendant 10 min, le culot obtenu est lavé avec 500 μ l d'éthanol à 70%. Après avoir recentrifugé, le culot est séché sous vide pour enlever toute trace d'alcool.

-Pour dégrader les ARNs, le culot obtenu est resuspendu dans 200 μ l de tampon TE (Tris-EDTA) contenant 1 μ l RNase (20 mg/ml) et le tube est incubé pendant 1 h à 37 °C.

-Ensuite on rajoute des volumes identiques (300 μ l) de phénol et chloroforme/alcool isoamylique et on centrifuge à 14000 rpm pendant 5 min.

-Le surnageant obtenu est précipité avec 600 μ l d'isopropanol. Après incubation dans la glace pendant 30 min, on effectue la centrifugation.

-Le culot résultant est mis en suspension dans 20 l d'eau stérile, et l'ADN génomique extrait est stocké à -20°C ([Hentati, 2018](#)).

b. Electrophorèse de l'ADN

L'électrophorèse sur gel d'agarose est la méthode la plus efficace de séparer des fragments d'ADN de différentes tailles allant de 100 Pb à 25 kb. Le tamisage moléculaire est déterminé par la taille des pores générés par les faisceaux d'agarose dans la matrice de gel. En général, plus la concentration d'agarose est élevée, plus la taille des pores est petite

Pour analyser l'ADN génomique extrait, une électrophorèse sur gel d'agarose 1% (w/) en tampon TAE1X (annexe 02 est réalisée. Contient 4 μ l / 25 ml de bromure d'éthidium (BET bromure d'éthidium qui est un agent intercalant entre les bases des acides nucléiques et émis une fluorescence orange sous illumination par UV).

Pour suivre la migration des échantillons d'ADN sur le gel, l'agarose sera verser sur les supports d'une cuve horizontale et placez un peigne approprié dans le moule de gel pour créer des puits, puis il refroidit à température ambiante puis retirer le peigne. Dans chaque puits du gel (figure 31), déposer le mélange de : 6 μ l d'extrait d'ADN + 4 μ l de Bleu de Bromophéol (Hentati, 2018).

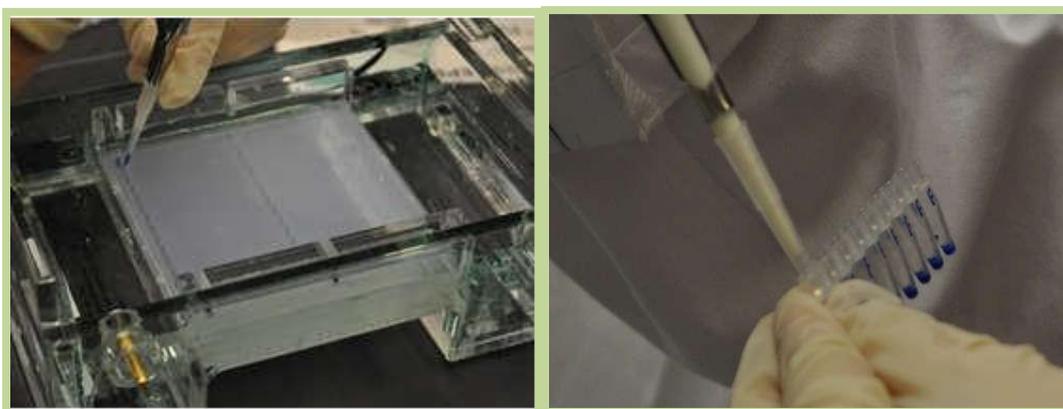


Figure 31. Chargement de l'échantillon d'ADN dans un puits dans le gel (Lee et al., 2012).

Le marqueur de taille utilisé est le Lambda Hind III, dont la taille de bande varie de 1000 bp à environ 23 000 bp (Figure 32). Cette étape permet d'optimiser les dilutions à réaliser de l'ADN génomique pour amplifier le gène de l'ARN ribosomal 16S (Hentati, 2018).

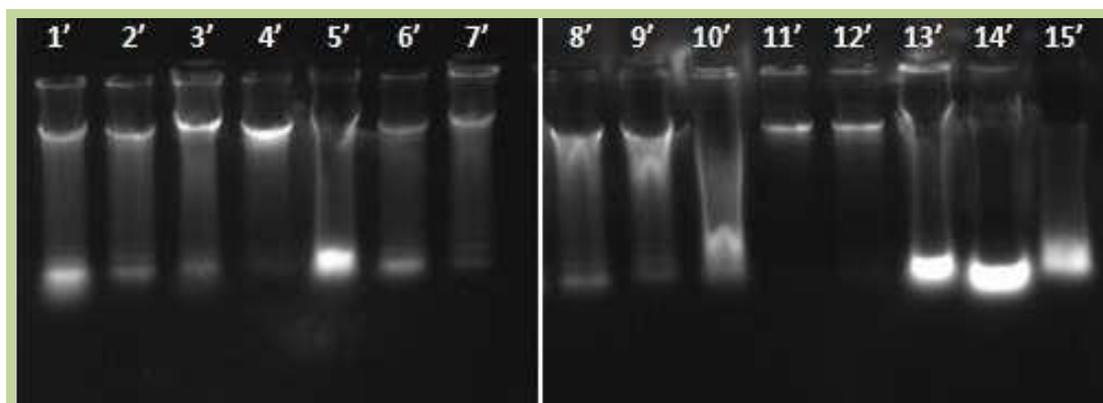


Figure 32. Photographie de profil électrophorétique de l'ADN extrait par CTAB. Une électrophorèse sur gel d'agarose (0,8%) d'ADN après coloration au BET et visualisation sur UV (Lee et al., 2012)

c. Amplification par Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) du gène codant pour l'ARNr 16 S

Le gène codant pour l'ARNr 16S de la souche performante a été amplifié par la réaction en chaîne par polymérase (PCR), en utilisant un système de PCR Stratagene (gradient Robocycler 96) avec de l'ADN polymérase GoTaq. Les deux amorces universelles Fd1 et Rd1 (Fd1, 5' 'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; Rd1, 5'-AAGGAGG-TGATCCAGCC-3') ont été utilisées pour obtenir un produit de PCR de taille suffisante en pb (Winker et Woese, 1991).

Un fragment d'environ 1500 pb du gène de l'ARNr 16S a été amplifié à partir de l'ADN génomique de la souche, cloné dans le vecteur pGEM-T Easy et séquencé sur les deux brins pour fournir une aide supplémentaire dans l'identification de la souche. Les positions de séquence et l'ambiguïté d'alignement ont été omises dans une première étape. Les recherches de similarité entre la séquence du gène codant pour l'ARNr 16S et les séquences disponibles dans la DNA Séquence Bank (GenBank) sont effectuées à l'aide du programme BLAST disponible sur le site Internet du NCBI sous l'adresse : www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/ (Singleton, 2001).

Exemple : Le résultat de l'analyse de la séquence de l'ADNr 16S a montré que l'isolat Bisglu partage une similarité de 99,3% avec *S. marcescens* (GenBank Accession No. gb | JQ308606.1) et *S. marcescens* (GenBank Accession No. gb | JQ308604.1) et 98,9% avec *S. marcescens* (GenBank No. dbj | AB594756.1). La séquence partielle de 1233 pb du gène de l'ARNr 16S de l'isolat a été déposée dans GenBank sous le numéro d'accès KC582302. L'analyse phylogénétique de l'ADNr 16S regroupe l'isolat avec des souches de l'espèce *S. marcescens* comme le montre Figure 33 (Benslama, 2014).

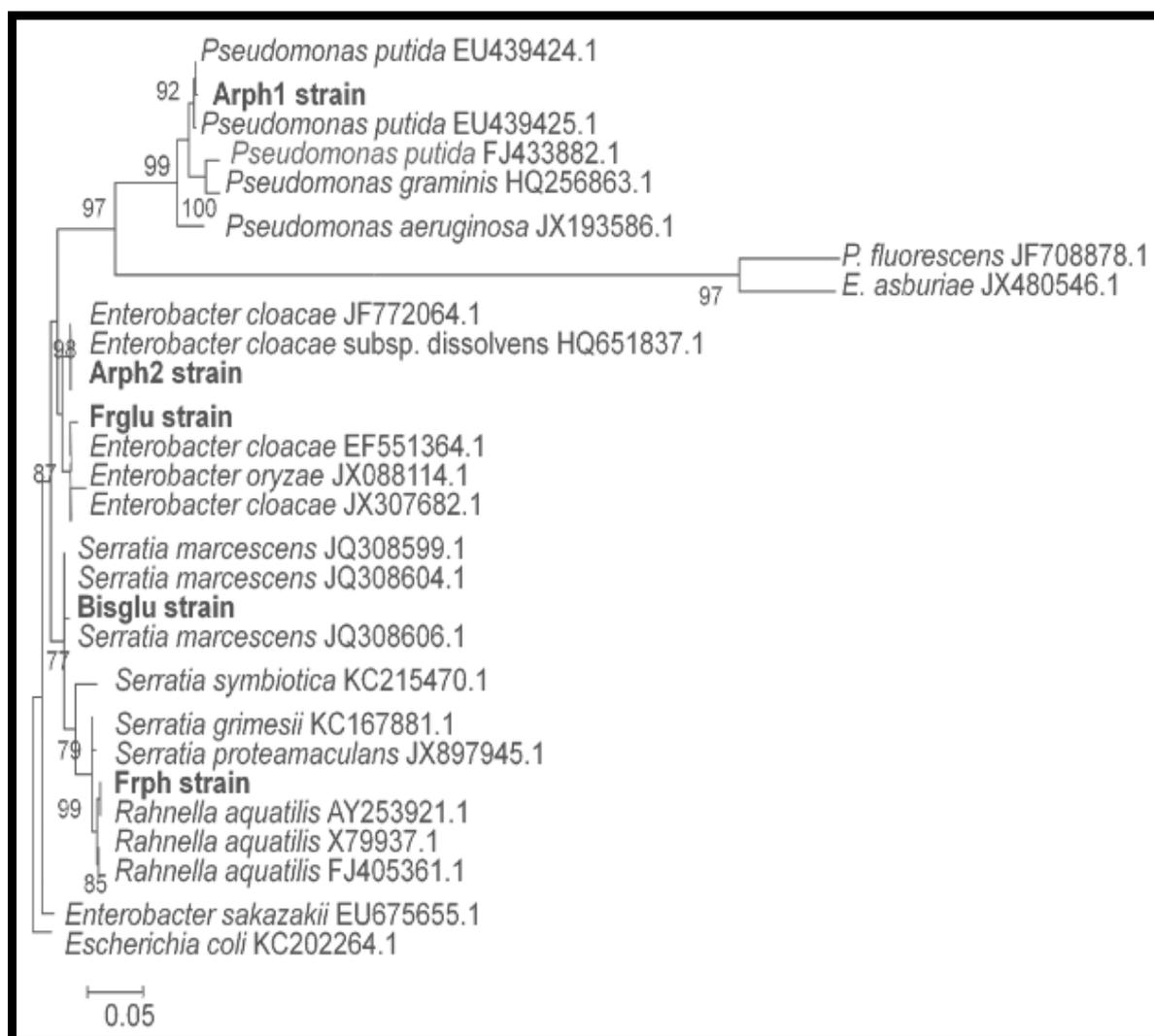


Figure 33. Arbre phylogénique de type Neighbor-joining basé sur des séquences du gène de l'ARN 16S de différentes souches d'*Enterobacteriaceae* pour examiner la validité de l'arbre NJ, 1000 répliques bootstrap ont été utilisées. L'échelle 0.05 représente le nombre de substitution par position de nucléotide et estime la divergence des séquences (Benslama, 2014).

II.4.2.4. Identification par l'étude Métagénomiques

Les limitations imposées par la culture de ces microorganismes *in vitro* ont permis le développement d'approches mutagénomiques. Depuis 1990, l'étude des bactéries pour leur ADN extrait directement de l'environnement a imposé une plus grande précision sur leur rôle environnemental. Le sol total prélevé sur des échantillons environnementaux peut être analysé pour caractériser la structure d'une communauté bactérienne complexe. Récemment, des chercheurs ont réussi à construire d'énormes bases de données de séquences basées sur de

nouvelles techniques de séquençage de l'ADN, même des bactéries non cultivées (Fuagier, 2010).

Le génome bactérien peut facilement être influencé par des mutations ponctuelles dont le taux peut varier en fonction des conditions environnementales et conduire à des acquisitions, des délétions voire des réarrangements d'informations génétiques. Ces mutations peuvent aider certaines bactéries à s'adapter facilement à des conditions changeantes (Fuagier, 2010). Les différents protocoles suivent approximativement le même schéma de principe :

- Lyse cellulaire ou homogénéisation,
- Précipitation des protéines,
- Précipitation de l'ADN,
- Dissolution de l'ADN.

II.4.2.5. Identification par la spectrométrie de masse par Désorption-ionisation laser assistée par matrice-Temps de vol (MALDI-TOF MS)

L'identification MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser-Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry) est réalisée sur les colonies d'intérêt isolées à partir des milieux de culture. La colonie à identifier est prélevée à l'aide d'un cône et déposée sur une plaque en métal ou en plastique (comprenant plusieurs emplacements, appelés spots). Le dépôt, fin et régulier, est ensuite séché. Le processus du test et de la technologie MALDI-TOF MS sont présentés dans la Figure 34 (Benslama, 2014).

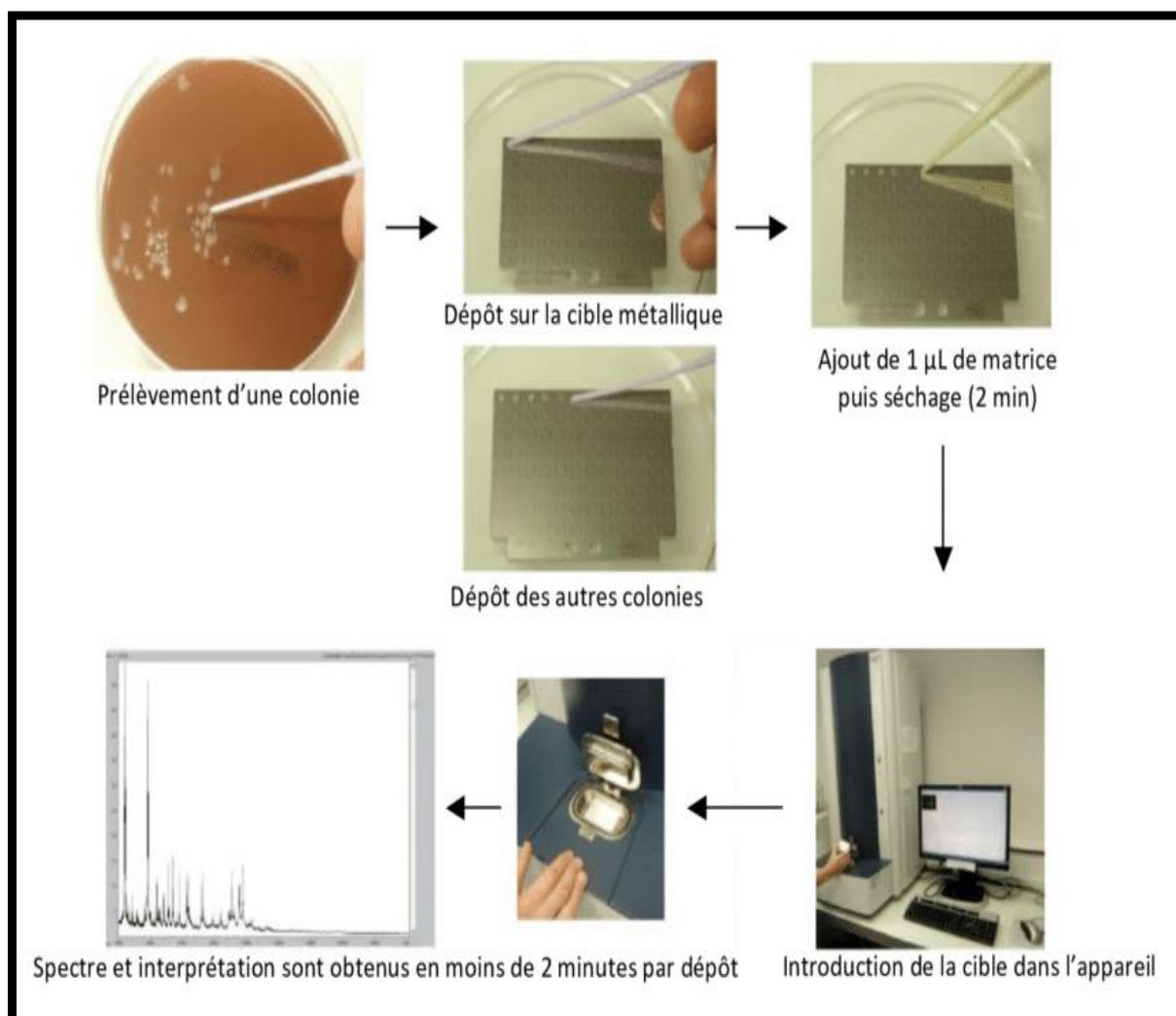


Figure 34. Étapes d'identification par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF à partir d'une colonie bactérienne (Benslama, 2014).

L'analyse directe des profils protéiques des différents isolats par MALDI-TOF a été effectuée comme décrit par (Seng *et al.*, 2009) :

-Une colonie bactérienne bien isolée a été prélevée à partir d'une gélose et étalée en couche mince sur une plaque cible MALDI-TOF.

-Onze dépôts distincts ont été effectués pour les différents isolats à partir de onze colonies différentes.

-Chaque frottis a été recouvert de 2µl de la solution matrice (solution saturée d'acide alpha-cyano-4-hydroxycinnamique dans 50% d'acétonitrile, 2,5% d'acide trifluoroacétique) et laissé sécher pendant cinq minutes.

-Les mesures ont été effectuées avec un spectromètre Microflex (Bruker). Les spectres ont été enregistrés en mode linéaire positif pour la gamme de masse de 2000 à 20000 Da (paramètres : source d'ions 1 (IS1), 20 kV; IS2, 18,5 kV; lentille, 7 kV).

Exemple : L'analyse par MALDI-TOF d'une souche a donné un score de 2,5 correspondant à l'espèce *Pseudomonas putida*. Le spectre de la souche est représenté dans la figure 35.

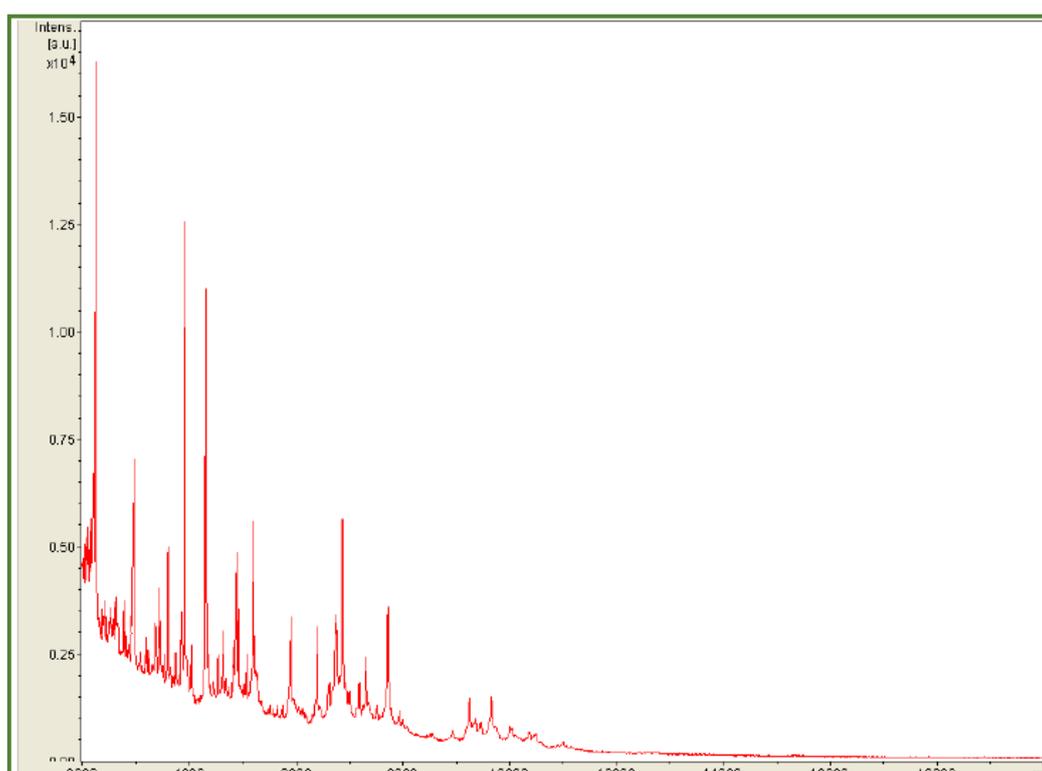


Figure 35. Les spectres obtenus ont été comparés et un spectre de référence a été généré (Benslama, 2014).

Un spectre a été obtenu après 675 tirs par un laser de puissance variable. Le temps d'acquisition est compris entre 30 secondes et 1 minute par point. Les spectres des isolats ont été importés dans le logiciel MALDI Biotyper (version 2.0, Bruker) et comparés avec les 6 213 spectres de bactéries enregistrés dans la base de données Biotyper. Un exemple sur les niveaux de confiance pour les identifications des souches par MALDI- TOF/MS est représenté dans le tableau 02 (Benslama, 2014).

Tableau 02 : Tableau interprétatif des scores de corrélation (Nocon, 2013).

Score	Description
2,300 ... 3,000	Forte probabilité d'identification à l'espèce
2,000 ... 2,299	Identification du genre sécurisée, identification probable à l'espèce
1,700 ... 1,999	Identification probable au genre
0,000 ... 1,699	Degré de confiance insuffisant pour l'identification

II.5. Application des microorganismes dégradant les pesticides dans la bioremédiation du sol

Les polluants organiques tels que les pesticides persistent dans l'environnement même des décennies après leur utilisation et leur fabrication dans le monde développé. Dans les pays en développement, certains pesticides nocifs continuent d'être utilisés, et ceux-ci peuvent atteindre le monde développé par le biais du transport atmosphérique sur de longues distances. Pour éviter une exposition humaine continue, un site contaminé par des pesticides peut être traité de manière sûre et économique par bioremédiation (Ray,2014).

La biorestauration d'un site peut être accomplie avec succès en tenant compte des micro-organismes qui peuvent dégrader les contaminants le plus efficacement, des facteurs qui affectent le taux de biodégradation, de la structure chimique des contaminants et des réactions biologiques possibles qui peuvent se produire (Ray,2014).

II.5.1. Bioremédiation des pesticides

La présence de pesticides provoque plusieurs impacts sur l'homme et l'environnement, et par conséquent, des technologies de remédiation sont nécessaires. La bioremédiation est l'un des outils biotechnologiques pour diminuer la toxicité et la concentration des pesticides. Il est suggéré comme technique moins coûteuse et sans danger pour l'environnement pour assainir les sites environnementaux contaminés par des pesticides, la méthode la plus favorisée par rapport aux autres méthodes physiques et chimiques pour l'assainissement des pesticides(Odukkathil et Vasudevan, 2013).

Les techniques de bioremédiation utilisent des micro-organismes pour l'élimination ou la conversion des pesticides en substances moins toxiques par des mécanismes tels que la

dégradation, la biotransformation et le confinement de l'environnement. Le taux d'assainissement des pesticides dépend de l'accessibilité des pesticides, de la limite des micro-organismes pour absorber les pesticides, de la vitesse à laquelle l'enzyme dégrade les pesticides et de la vitesse à laquelle les organismes se développent en utilisant les pesticides comme source d'énergie (Odukkathil et Vasudevan, 2013).

L'efficacité de la bioremédiation est calculée à partir des résultats de la sorption, de la dégradation et de la volatilisation. Le taux satisfaisant du processus de bioremédiation peut être obtenu lorsque le pesticide et ses métabolites atteignent le niveau acceptable en un temps limité. La voie métabolique impliquée dans la dégradation des pesticides est basée sur la transformation oxydative, la transformation hydrolytique, la transformation réductrice, la réaction de conjugaison et la déshalogénéation réductrice (Odukkathil et Vasudevan, 2013). Certains contaminants présents dans le site pollué sont résistants aux attaques microbiennes ; au lieu de cela, ils se dégradent lentement (Kumar et al., 2018).

La recherche en microbiologie est basée sur la séparation et la caractérisation des espèces présentes dans les sols contaminés et dont qu'elles sont capables de dégrader les polluants. *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas* et les mycobactéries sont des exemples connus, et elles ont la capacité de dégrader certains polluants tels que les pesticides, les alcanes, les hydrocarbures et les composés chimiques d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (Abdelly, 2007).

II.5.2. Processus de bioremédiation

La dissipation des pesticides, par la bioremédiation, résulte, majoritairement, de l'activité des microorganismes qui les dégradent partiellement ou totalement, ces derniers sont employés pour dépolluer les compartiments environnementaux touchés. Deux classes principales de processus de bioremédiation (Figure 36) sont les processus *in situ* et *ex situ* (Kumar et al., 2018).

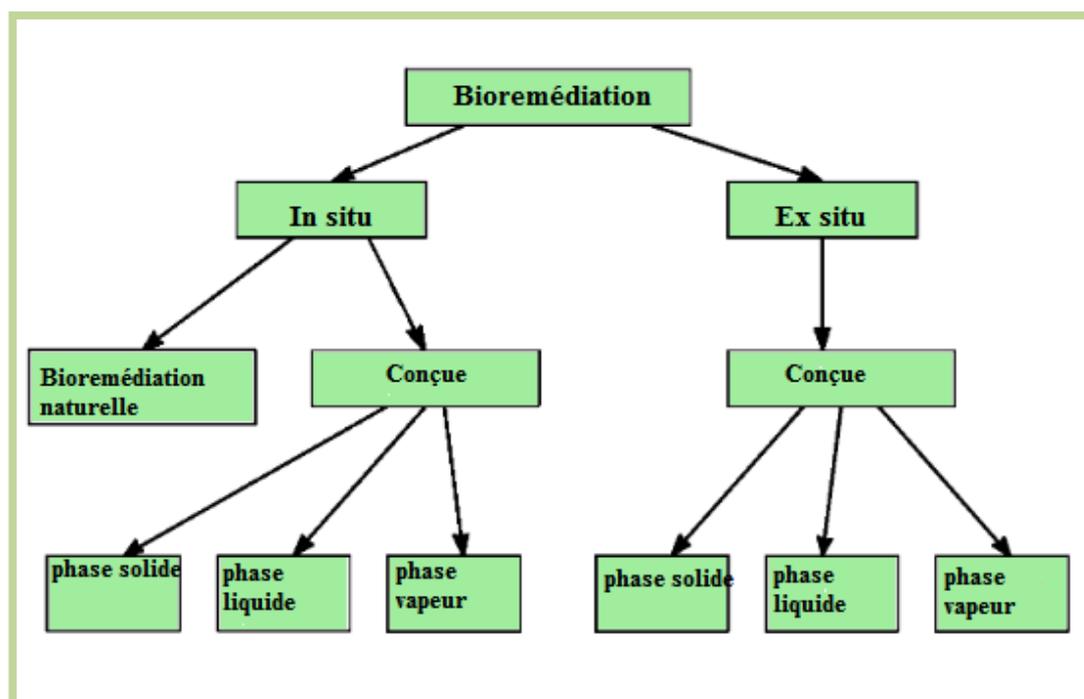


Figure 36. Classification des options de bioremédiation (Gavrilescu, 2005).

a. Bioremédiation *in situ*

La bioremédiation *in situ* est un processus d'ajout de nutriments à la surface du sol (Figure 37), aux réservoirs d'eau et à d'autres plans d'eau pour que les organismes dégradent les polluants. Initialement, la bioremédiation *in situ* a été générée comme une méthode moins coûteuse pour la déclinaison des polluants organiques, inorganiques, métaux toxiques, etc., sur différents sites contaminés. Il met en évidence les circonstances favorables telles que de faibles dépenses de travail, un faible risque pour les ouvriers travaillant sur des sites contaminés et une destruction totale des polluants (Verardoet al., 2017).

C'est une technique préférable car une moindre répartition des contaminants évite le transport des polluants d'une zone à une autre. Ce processus fournit les relations ambiguës entre la biomasse et les polluants et donne les actions pertinentes entre eux. De plus, il renforce également la dégradation microbienne des composants organiques au niveau de la zone contaminée. La capacité de bioremédiation *in situ* est basée sur divers facteurs tels que les conditions biogéochimiques et hydrogéologiques qui régulent le processus de biodégradation (Verardoet al., 2017).

L'avantage majeur du procédé *in situ* est qu'il n'est pas nécessaire d'enlever ou de transférer le site pollué. Mais l'efficacité est inférieure au processus de médiation *ex situ* et la

profondeur du sol ne peut pas être traitée correctement par une méthode *in situ* (Kumar et al., 2018).

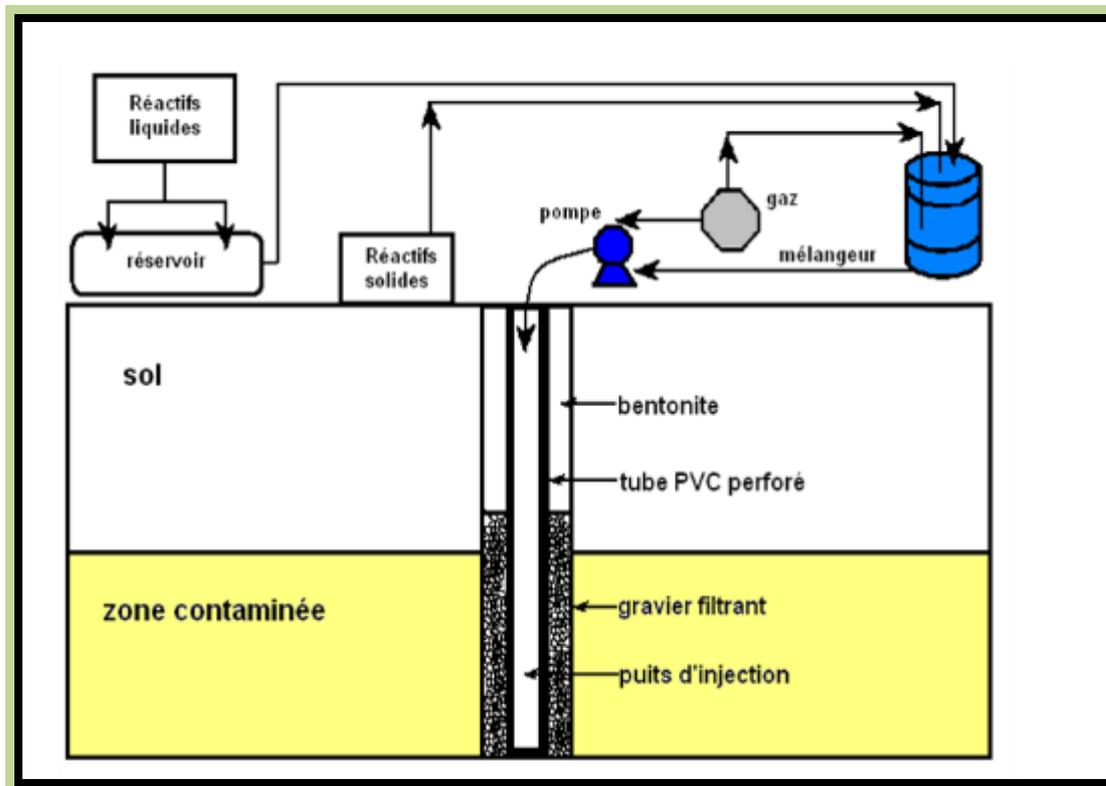


Figure 37. Installation de système de bioremédiation *in situ* (Dufresne, 2013).

b. Bioremédiation *ex situ*

La biorestauration *ex situ* (figure 38) est un processus naturel qui transfère les médias d'un site à un autre et gère les polluants à l'endroit particulier. En raison de son utilisation probable dans l'environnement, de sa facilité et de son accord avec les réglementations gouvernementales, cette stratégie est utilisée pour l'assainissement des sols. Les défauts comme la mauvaise régulation des conditions de fonctionnement et les longs délais de remédiation peuvent être vaincus par cette méthodologie (Tomei et al., 2013).

L'inconvénient du processus *ex situ* est l'excavation de sites contaminés nécessaires au processus de traitement, ce qui entraîne des coûts élevés et des risques pour la santé des individus. Cette technique peut être observée très facilement, et la plupart du temps, le temps requis est faible dans ce processus pour nettoyer les contaminants (Kumar et al., 2018).

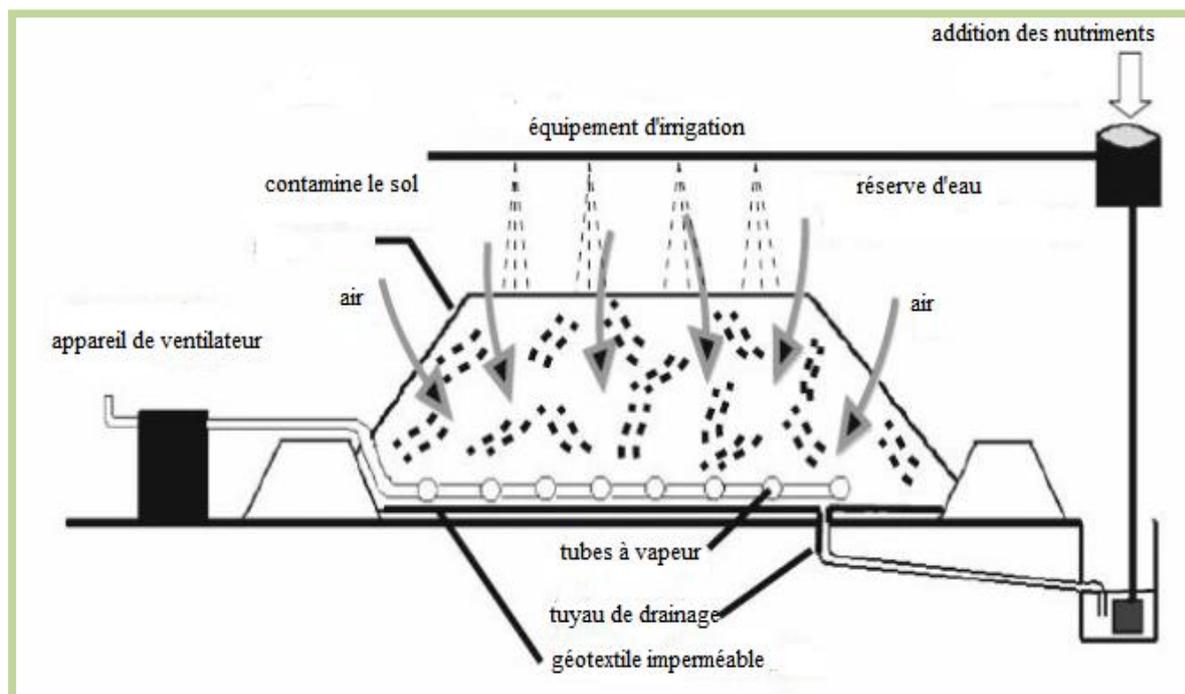


Figure 38. L'installation de système de bioremédiation *ex situ* (Sur et al., 2017).

II.5.2. Les systèmes de bioremédiation

a. Le Biobed

Les biobed (avec machines-outils) sont originaires de Suède, ils sont répondus à la demande de méthodes simples et efficaces pour minimiser la pollution de l'environnement causée par l'utilisation de pesticides est principalement causée par l'équipement de pulvérisation de remplissage, c'est une source typique de pollution ponctuelle (Castillo et al., 2008).

Ils se composent d'une fosse remplie d'une matrice (Figure 39) capable de retenir les matières actives dans l'effluent contaminé, et les décomposer grâce à l'action enzymatique des micro-organismes existants dans ce substrat. Le biobed est divisé en trois composantes, la première couche d'argile est de 10 cm de profondeur au fond, la deuxième couche est de 50 cm de profondeur est un mélange de paille, de tourbe et de terre (50:25:25 vol%), et la dernière couche est couverte d'herbe à la surface. Le lit bio est également équipé de rampe pour la formation et le positionnement des pulvérisateurs sur l'herbe (Castillo et al., 2008).

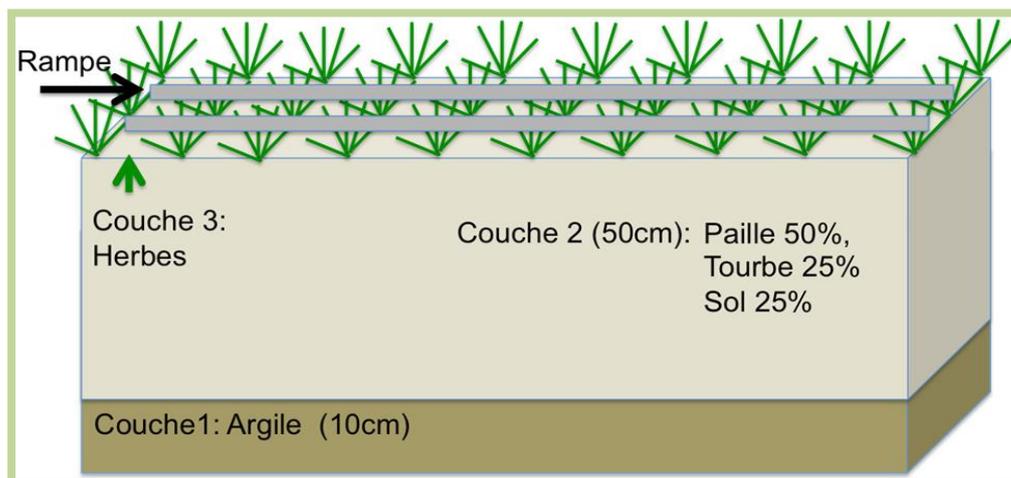


Figure 39. Schéma simplifié d'un Biobed (Castillo et al., 2008).

b. Phytobac

Comme son nom l'indique, Phytobac est un réservoir d'eau dans lequel les eaux usées sont introduites régulièrement un mélange de terre et de paille dont la hauteur n'est pas Après tassement, il ne peut pas excéder 60 cm et la superficie est comprise entre 2,5 et 5 mètres carrés (Figure 40). Chaque litre d'eaux usées généré chaque année par les opérations. Ce dernier est calculé en fonction de la quantité d'eaux usées générée, exploitée et distribuée mensuelles et en fonction des conditions climatiques (Codis, 2009).

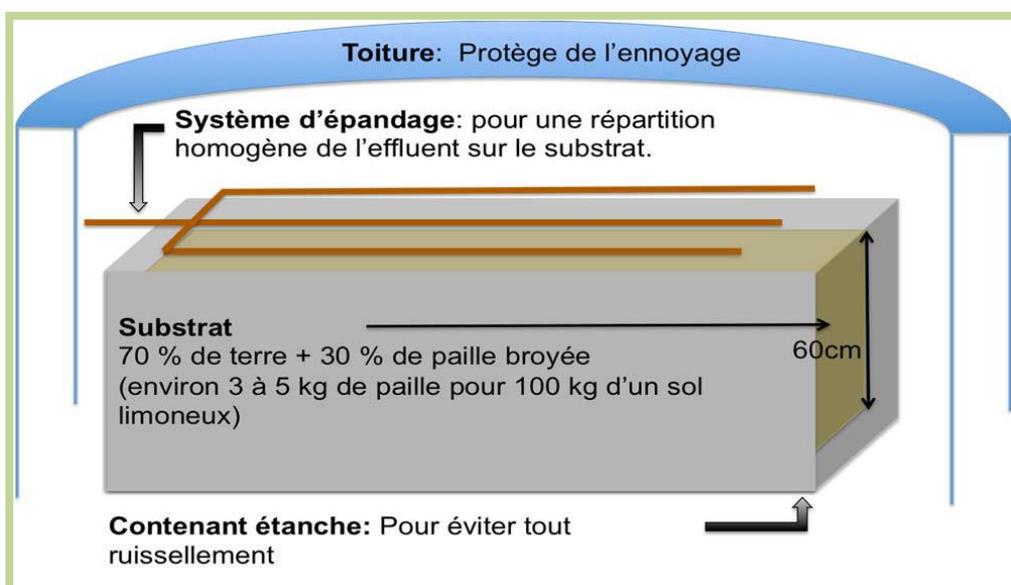


Figure 40. Schéma simplifié d'un Phytobac (Chambres d'Agriculture, 2006).

c. Biofiltre

Les biofiltres sont un exemple de filtres utilisés pour produire de l'eau potable. Le fonctionnement est basé sur la combinaison de processus physiques et biologiques. Ils sont constitués d'un matériau fixe et non dégradé, sur lequel les bactéries responsables de la dégradation des polluants organiques se nichent et se développent. Son principe se base sur la séparation solide/liquide puis la dégradation des polluants biodégradables (Samie, 2009).

Les filtres biologiques traditionnels nécessitent moins d'espace et sont nettement plus faciles à utiliser que les systèmes à boues activées, c'est pour cette raison qu'ils sont largement utilisés dans le traitement des eaux usées. D'autre part, les biofiltres percolateurs nécessitent un lit garni arrosé continuellement. Lorsqu'on parle d'un lit filtrant, ce dernier doit être aussi composé de biomasse fixe sauf qu'il nécessite un arrosage continu par un liquide enrichi de la biomasse capable de dégrader les polluants (Raby, 2013).

Le système de filtration biologique se compose généralement de trois étapes de base (Figure 41), la phase liquide est l'effluent ou les eaux usées à traiter et doit être riche en nutriments nécessaires au développement microbien (C, N, P). Ce dernier a besoin d'oxygène, il doit donc être bien ventilé pour survivre (phase gazeuse), puis phase solide supportant le développement de ces micro-organismes (Raby, 2013).

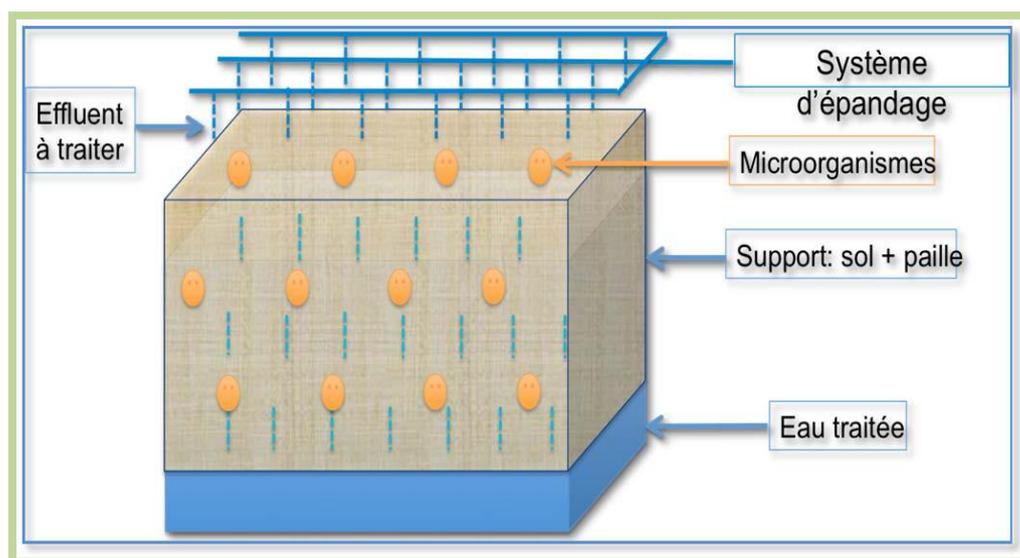


Figure 41. Schéma simplifié du Biofiltre (Raby, 2013).

Les chercheurs ont tendance à développer ce processus naturel lorsque l'environnement est gravement pollué, ce qu'on appelle la bioremédiation biostimulation, bioaugmentation,

bioventilation ou élevage en terre. Tableau 3 représente les différentes méthodes et principes de la bioremédiation microbienne.

Tableau 3 : Les techniques de bioremédiation microbienne

Approche	Principe
Bioaugmentation	L'addition de microorganismes qui ont le potentiel de la biodégradation d'un polluant, au réacteur de boue biologique, sachant que les réacteurs (ou systèmes) utilisés en bioremédiation sont nombreux (Nasseri et al., 2010).
Biostimulation	Stimulation et ajustement de certains facteurs physiques et chimiques (Température du sol, valeur du pH, teneur en humidité, teneur du sol en nutriments, etc.) pour augmenter la rentabilité des microorganismes natifs de la zone touchée (Surajudeen et Adaji, 2009).
Landfarming (Phytoremediation ou Agroremédiation)	Le principe est d'épandre le sol contaminé excavé sur un lit bas. Surfaces épaisses et larges jusqu'à ce que les contaminants se dégradent. L'objectif est d'aider et de favoriser la dégradation aérobie des polluants grâce à des micro-organismes indigènes. D'une manière générale, cette technique convient à traiter 10 à 35 cm de terre végétale (Surajudeen et Adaji, 2009).
Bioventing (Bioventilation)	La ventilation biologique ou extraction par décompression est basée sur le contrôle de la teneur en oxygène du sol et du sous-sol pour améliorer les conditions aérobies des micro-organismes aérobies, la circulation de l'air favorise la volatilisation des composés organiques à travers le sol volatil, pour que le sol soit aussi propice au développement des micro-organismes responsables de la biodégradation des composés organiques moins volatils (Boudouch, 2009).

Conclusion

Cette étude est un travail de synthèses de différents travaux de recherche sur les pesticides qui sont des substances le plus souvent chimique visant à détruire une ou plusieurs espèces d'êtres vivants. Les plus répandus sont les herbicides tels que le cyanure de calcium, $\text{Ca}(\text{CN})_2$, ou le sulfate de fer, FeSO_4 contre les mauvaises herbes, les insecticides tels que Carbaryl ,Propoxur, Méthomyl et thiodicarbe contre les insectes et les fongicides contre les champignons (Aubertot et al., 2005).

Les dangers des pesticides sont nombreux, en plus de tuer l'espèce visée, ils peuvent aussi contaminer et tuer les autres acteurs de la chaîne alimentaire, l'air que nous respirons, et peut être les réserves d'eau au point de rendre cette dernière non potable, ils peuvent avoir aussi des graves conséquences sur l'organisme (Sarwar, 2015).

Il est difficile de quantifier avec exactitude tous les méfaits des pesticides sur la santé, mais beaucoup de dangers sont déjà connus. Même avec une faible exposition, les pesticides peuvent avoir de graves conséquences sur l'organisme, comme provoquer l'infertilité masculine, des cancers, mais aussi atteindre gravement les fœtus. De nombreux cas d'intoxication aiguë aux pesticides, parfois mortels, ont aussi déjà été décelés en milieu agricole, où l'exposition aux pesticides est la plus importante (Sarwar, 2015).

A cause de ces dommages sur l'environnement entier un système de bioremediation a été mis en oeuvre qui fournit un nouvel outil ou un tel processus. La bioremédiation fournit une méthode écologique, économique et efficace pour la détoxification des pesticides. Cette technologie a prouvé à maintes reprises son potentiel à dégrader non seulement les pesticides mais aussi les divers composés organiques. Il est donc le temps d'utiliser cette technologie respectueuse de l'environnement pour un avenir meilleur et sûr (Karlen, 2014).

Les microorganismes tels que *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *phanerochaetechrysosporium* peuvent être classés en microorganismes indigènes qui sont déjà présents dans la zone à traiter et qui sont capables de dégrader les polluants existant, ou des microorganismes exogènes qui sont ajoutés au milieu pollué au besoin, ou encore être isolés d'un échantillon du site contaminé, cultivés et identifiés au laboratoire puis réintroduits dans le sol et c'est ce qu'on appelle la bioaugmentation.(Abdelly, 2007).

Dans un premier temps, il est important d'avoir une idée concernant l'isolement des microorganismes dégradants les pesticides jusqu'à l'obtention des souches pures par les techniques d'enrichissement. Différents tests sont utilisés pour l'identification des souches

dégradantes les pesticides tels que le test d'oxydase, le test de catalase, le test d'indole...etc. En effet, plusieurs techniques ont été exploitées pour la caractérisation des souches pures. Comme l'électrophorèse de l'ADN sur gel d'agarose et la technique de MALDI-TOF.

La bioremédiation des sols peut être divisée en deux catégories, selon la stratégie de base «*in situ* » et «*ex-situ* ». La première méthode nécessite un traitement qui n'implique pas l'excavation de sol contaminé alors que la deuxième l'oblige. (Hatzinger et al., 2002)

A la lumière de ce travail, il est souhaitable de compléter cette étude par des expérimentations et des approches plus approfondies, plusieurs perspectives peuvent être dégagées à savoir :

- Isolement et identification des microorganismes dégradants les pesticides ;
- Une approche moléculaire de nos souches isolées aiderait à déterminer le gène codant la dégradation des pesticides et l'étude des différents mécanismes de cette biodégradation ;
- Détermination des facteurs affectant la biodégradation des pesticides par les souches isolées et identifiées en utilisant le logiciel d'optimisation ;
- Application de ces souches isolées dans la bioremédiation des zones contaminées par des pesticides, surtout lors d'une contamination ponctuelle ;
- Confirmation *ex situ* la capacité de ces microorganismes à dégrader les pesticides et *in situ* en les inoculant sur des filtres biologique ;
- Enfin, il est souhaitable d'étudier d'autres systèmes de bioremédiation, hors que le Biobed, le Phytobac et le Biofiltre

*Références
bibliographiques*

-A-

- Abdelly, C. (2006).** Bioremédiation / Phytoremédiation. Institut Supérieur de l'éducation et de la formation continue. Université de Tunis. Tunisie.32p.
- ACTA : Association de Coordination Technique Agricole. (2006).** Index phytosanitaire. Activation of chlorotoluron in soil and wheat. Geoderma. 146: 344-352.
- Ali, A. (2011)** .Essai de réhabilitation d'un sol contaminé par les hydrocarbures à l'aide de tensioactifs obtenus par voie biologique. Thèse de magistère. École nationale supérieure agronomique. Algérie. 99p.
- Alix, A., Barriuso, E., Bedos, C., Bonicelli, B., Caquet, T., Dubus, I. et Voltz, M. (2005).** Devenir et transfert des pesticides dans l'environnement et impacts biologiques. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'Expertise scientifique collective, INRA et CEMAGREF. France. 219p.
- Aloui, N.(2020).** Etude de la biodégradation de quelques pesticides par des bactéries isolées de différentes niches écologiques de la wilaya de Ouargla. Thèse de doctorat. Université de Ghardaia. Algérie. 148p.
- Amara, A. (2013).** Évaluation de la toxicité de pesticides sur quatre niveaux trophiques marins : microalgues, échinoderme, bivalves et poisson. Thèse de doctorat. Sciences agricoles. Université de Bretagne occidentale. Brest. France. 214p.
- Aubertot, J. N., Clerjeau, M., David, C., Debaeke, P., Jeuffroy, M. H. et Lucas. P.(2005).** Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective. Synthèse du rapport. INRA et CEMAGREF. France. 64p.

-B-

- Baldi, I., Cordier, S., Coumoul, X., Elbaz, A., Gamet-Payrastre, L., Lebailly, P. et Van Maele-Fabry, G. (2013).** Pesticides : effets sur la santé. Thèse de doctorat. Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM).Paris. France. 1014p.
- Barnett, E. A., Fletcher M R., Hunter K. et Sharp, E. A. (2003).** Pesticide poisoning of animals: Investigations of suspected incidents in the United Kingdom Central. Science

- Laboratory. Rapport. Department for Environment. Food and Rural Affairs. Sand Hutton. York. United Kingdom. 60p.
- Barry, M. J., O'Halloran, K., Logan, D. C., Ahokas, J. T. et Holdway, D. A. (1995).** Sublethal effects of esfenvalerate pulse-exposure on spawning and non-spawning Australian crimson-spotted rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 28(4) : 459-463.
- Batsch, D. (2011).** L'impact des pesticides sur la santé humaine. Sciences pharmaceutiques. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré. Nancy 1.185p.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. et Turck, M. (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standard single disc method. American Journal of Clinical Pathology. 45: 493- 496.
- Beigel, C. et Di Pietro, L. (1999)** .Transport of triticoconazole in homogeneous soil columns: Influence of non-equilibrium sorption. Soil Science Society of American Journal. 63: 1077–1086.
- Bencheikh, S. (2010).** Les pesticides: définition, classification et données de toxico-vigilance. Société Empreintes Edition. 4 : 1-16.
- Benslama, O. (2014).** Isolement et caractérisation des bactéries capables de dégrader l'herbicide Glyphosate et optimisation des conditions de culture pour une dégradation plus efficace. Thèse de doctorat. Université de Constantine 1. Algérie. 157p.
- Beresford, N., Jobling, S., Williams, R. et Sumpter, J.P. (2004).** Endocrine disruption in juvenile roach from English rivers: a preliminary study. Journal of Fish Biology. 64: 580-586
- Bettiche, F. (2017).** Usages des produits phytosanitaires dans les cultures sous serres des Ziban (Algérie) et évaluation des conséquences environnementales possibles. Thèse de doctorat. Université Mohamed Kheider-Biskra. Algérie. 327p.
- Boudouch, O. (2009).** Etude de la dépollution des sols par extraction sous pression réduite. Application au traitement des COV thèse de doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon. France. 199p.
- Bresson, J. (2013).** Interaction plante-microorganismes : Implication de la rhizobactérie *Phyllobacterium brassicacearum* dans les réponses d'*Arabidopsis thaliana* au stress

hydrique. Thèse de doctorat. Université Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc. France. 257p.

-C-

Calvet, R., Tercé, M. et Arvieu, J. C. (1980). Bibliographical review. Adsorption of pesticides by soils and their constituents. I. Description of the phenomenon of adsorption. In *Annales Agronomiques*. 31(1): 33-62.

Calvet, R. (2005). Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales. Editions. France Agricole. 641p.

Castillo, M. D. P., Torstensson, L. et Stenström, J. (2008). Biobeds for Environmental Protection from Pesticide Use A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(15) : 6206-6219.

Chambres d'Agriculture, (2006). Gestion des effluents phytosanitaires Comment concevoir son lit biologique. 6p.

Chaussod, R., Nicolardot, B. et Catroux, G. (1986). Mesure en routine de la biomasse microbienne des sols par la méthode de fumigation au chloroforme. *Science du sol France*. 2: 201-211.

Chenikhar, H. (2018). Etude de la toxicité de deux pesticides et l'effet protecteur des huiles essentielles d'une plante médicinale. Toxicologie cellulaires. Thèse de doctorat. Université Larbi Tébessi-Tébessa. Algérie. 180p.

Circaete, J-B. et Malausa, J.C.(2002). Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable. UIPP. 4^{ème} trimestre. 861p.

Couture, G.(2009). Étude de l'hydrolyse acide des herbicides atrazine, simazine et diuron en solution dans l'eau et à la surface de minéraux argileux déshydratés à l'air libre, au voisinage de 0 et 22 C. Thèse de doctorat. Université Laval. Québec. 267p.

Codis, S. (2009). Zoom sur le Phytobac, procédé de dégradation biologique des effluents phytosanitaires sur substrat. Thèse de doctorat. Université Laval. Québec. 267p.

Cruz, M. I. (1968). Adsorption of 3-aminotriazole by montmorillonite. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 16(1) : 21-24.

-D-

- Debbab, M. (2014).** Contribution à l'étude de résidus d'une formulation de cyperméthrine (insecticide) dans certains légumes et leurs effets sur l'activité antioxydante de ces denrées. Thèse de doctorat. Université Mohammed V- Agdal. Rabat. Maroc. 169p.
- Desaint, S. (2000).** Description des populations bactériennes telluriques dégradant le carbofuran: diversité génétique et flux de gènes. Thèse de doctorat. Dijon. France. 263p.
- Devault, D. A. (2007).** Approche spatio-temporelle de la contamination par les herbicides de prélevée du biotope de la Garonne Moyenne. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse. France. 208p.
- Djical, D. (2003).** Interactions entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactéricivores: effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop. Dakar. 166p.
- Domange, N. (2005).** Etude des transferts de produits phytosanitaires à l'échelle de la parcelle et du bassin versant viticole (Rouffach, Haut-Rhin). Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur-Strasbourg I. France. 329p.
- Dufresne, M. (2013).** Les technologies de traitement des sols contaminés : Lesquelles sont durables? .thèse de doctorat. Centre universitaire de formation en environnement en vue de l'obtention du grade de maître en environnement. Université de Sherbrooke. Québec. 69p.

-E-

- El Mrabet, K., Charlet, P. et Lalere, B. (2008).** Les pesticides. Rapport de Laboratoire National De Métrologie et d'essai-Paris. France. 2-7.
- Eneida, R. P. (2009).** Chimie multiphasique des pesticides dans l'air: distribution et photoréactivité. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg. 123p.

-F-

- Faugier, A. (2010).** Diversité bactérienne des sols: accès aux populations à effectifs minoritaires. The rare biosphere. Ecole Centrale de Lyon. France. 175p.
- Fillatre, Y. (2011).** Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat. Université d'Angers. France. 289p.
- Foubert, A. (1986).** Biodiversité : Victime silencieuse des pesticides. World Wide For Nature. Synthèse Paris. France. 82p.
- Fournier, J., Auberlet-Dellevedove, A. et Morin, C. (2002).** Formulation des produits phytosanitaires In: Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Paris. France. ACTA : 473-495.
- Fuentes, M. S., Benimeli, C. S., Cuozzo, S. A. et Amoroso, M. J. (2010).** Isolation of pesticide-degrading actinomycetes from a contaminated site: bacterial growth, removal and dechlorination of organochlorine pesticides. International Biodeterioration & Biodegradation. 64(6):434-441.

-G-

- Gamble, D. S. et Khan, S. U. (1985).** Atrazine hydrolysis in soils: Catalysis by the acidic functional groups of fulvic acid. Canadian Journal of Soil Science. 65(3): 435-443.
- Gavrilescu, M. (2005).** Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. Engineering in life sciences. 5(6): 497-526.
- Giroux, I., Roy, N. et Lamontagne, C. (2010).** Présence de pesticides dans l'eau souterraine en milieu agricole: Étude pilote du bassin versant de la Rivière Châteauguay. Canadian Water Resources Journal. 35(4) : 527-542.
- Grimfeld, A. (2001).** Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Comité de la prévention et de la précaution CPP. Paris. France: 25-45.

Guitart, R., Sachana, M., Caloni, F., Croubels, S., Vandebroucke, V. et Berny, P. (2010). Animal poisoning in Europe. Part 3: wildlife. *The Veterinary Journal*. 183(3): 260-265.

-H-

Hatzinger, P. B., Whittier, M. C., Arkins, M. D., Bryan, C. W. et Guarini, W. J. (2002). In-situ and ex-situ bioremediation options for treating perchlorate in groundwater. *Remediation Journal*. 12(2): 69-86.

Hayakawa, M., Yoshida, Y. et Imura, Y. (2004). Selective isolation of bioactive soil actinomycetes belonging to the *Streptomyces violaceusniger* phenotypic cluster. *Journal of Applied Microbiology*. 96(5) : 973-981.

Hentati, D. (2018). Isolement et caractérisation des bactéries marines hydrocarbonoclastes, production des biosurfactants et étude de la biodiversité microbienne au sein de trois ports de Sfax. Tunisie. Thèse de doctorat. Université Montpellier. Université de Sfax. Tunisie. 349p.

Horvath, R. S. et Alexander, M. (1970). Cometabolism of m-chlorobenzoate by an *Arthrobacter*. *Applied Microbiology*. 20(2): 254-258.

Huang, X., He, J., Sun, J., Pan, J., Sun, X. et Li, S. (2007). Isolation and characterization of a metsulfuron-methyl degrading bacterium *Methylopila* sp. S113. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 60(3): 152-158.

Hussain, A., Asi, M. R., Iqbal, Z. et Chaudhry, J. A. (2001). Impact of heavy repeated longterm pesticide applications on soil properties in a cotton agroecosystem. *Nuclear Institute for Agriculture and Biology (NIAB)*. Faisalabad: 58-143.

-I-

IFEN : Institut français del'environnement (2002). Les pesticides dans les eaux bilan annuel. *Etudes et Travaux*. France : 36: 25.

INVS : Institut de veille sanitaire (2013). Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. France. 20:180

-J-

- Jacquot, M.(2013).** Usage des rodenticides anticoagulants et conséquences en termes d'exposition et d'impact pour les populations de renards roux. Thèse de doctorat. Université de Franche Comté. France. 208p.
- Jahn, T., Hötter, H., Oppermann, R., Bleil, R. et Vele, L. (2014).** Protection of biodiversity of freeliving birds and mammals in respect of the effects of pesticides.Julius-Kühn-Archiv. 442: 91-92.
- Jeddy, N., Ranganathan, K. et Uma Devi, E. J. (2011).** A study of antifungal drug sensitivity of Candida isolated from human immunodeficiency virus infected patients in Chennai, South India. Journal of oral and maxillofacial pathology. JOMFP.15(2) : 182.
- Jeroen, B. (2004).** Les pesticides: composition, utilisation et risqué. FondationAgromisa.124p.
- Juricek, L. et Coumoul, X. (2014).** Alimentation, pesticides et pathologies neurologiques. Cahiers de Nutrition et de Diététique. 49(2) : 74-80.

-K-

- Kannika, C. (2003).** Diversity of halophilic bacteria in saline soil at nong bo reservoir,Maharakham Province, Thailand. Thèse de doctorat.University of Technology.Thailand. 20-56.
- Karlen, S. (2014).**La bioremédiation, ange ou démon? Décryptage des risques émanant de la dépollution d'un environnement contaminé, illustré par la remédiation biologique de l'arsenic.Thèse de doctorat. University of Geneva. Suisse. 45p.
- Kegley, S., Neumeister, L., Martin, T. et Network, P. A. (1999).** Disrupting the balance. Ecological impacts of pesticides in California. Pesticide Action Network. 99.
- Kheddam-Benadjal, N. (2012).**Enquête sur la gestion des pesticides en Algérie et recherche d'une méthode de lutte alternative contre *Meloidogyneincognita* (Nematoda: *Meloidogynidae*).Thèse de doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique. El-Harrach-Alger.81p.

Kumar, P. S., Carolin, C. F. et Varjani, S. J. (2018). Pesticides bioremediation. In *Bioremediation: Applications for Environmental Protection and Management* : 197-222.

-L-

Laurent, F. M. (2015). Ecologie microbienne au service de la compréhension et de la maîtrise de fonctions écosystémiques des sols. In *Séance à l'Académie d'Agriculture de France, Génie écologique: Maîtrise de l'Écologie Microbienne et ses applications- Acquis et perspectives.* 29p.

Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y. et Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *Journal of Visualized Experiments.* 62: e3923.

Li, H., Lee, L. S., Jafvert, C. T. et Gravel, J. G. (2000). Effect of substitution on irreversible binding and transformation of aromatic amines with soils in aqueous systems. *Environmental science & technology.* 34 (17): 3674-3680.

Li, H., Lee, L. S., Schulze, D. G. et Guest, C. A. (2003). Role of soil manganese in the oxidation of aromatic amines. *Environmental science & technology.* 37(12):2686-2693.

Lichiheb, N., Bedos, C., Personne, E. et Barriuso, E. (2015). Synthèse des connaissances sur le transfert des pesticides vers l'atmosphère par volatilisation depuis les plantes. 2268-3798.

-M-

Ma, J. P., Wang, Z., Lu, P., Wang, H. J., Waseem Ali, S., Li, S. P. et Huang, X. (2009). Biodegradation of the sulfonylurea herbicide chlorimuron-ethyl by the strain *Pseudomonas* LW3. *FEMS microbiology letters.* 296(2) : 203-209.

Marchal, N., Bourdon, J. L. et Richard, C. (1982). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed Doin. Paris. 89p.

MATEE : Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement du Maroc (2006). Rapport final sur la consultation sous-régionale pour les pays de l'Afrique du Nord: Algérie. Maroc et Tunisie sur la Convention de Rotterdam. 55p.

Mawussi, G. (2008). Bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, café et cacao au Togo et recherche d'alternatives par l'évaluation

- du pouvoir insecticide d'extraits de plantes locales contre le scolyte du café (*HypothenemushampeiFerrari*). Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse. France. 207p.
- McAllister, K. A., Lee, H. et Trevors, J. T. (1996).** Microbial degradation of pentachlorophenol. *Biodegradation*. 7(1) : 1-40.
- Megadi, V. B., Tallur, P. N., Mulla, S. I. et Ninnekar, H. Z. (2010).** Bacterial degradation of fungicide captan. *Journal of agricultural and food chemistry*. 58(24): 12863-12868.
- Meikle, R. W. et Youngson, C. R. (1978).** The hydrolysis rate of chlorpyrifos, OO-diethyl O-(3, 5, 6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate, and its dimethyl analog, chlorpyrifos-methyl, in dilute aqueous solution. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 7(1): 13-22.
- Mendoza, J. C., Perea, Y. et Salvador, J. A. (2011).**Bacterial biodegradation of permethrin and cipermetrin pesticides in a culture assemblage. *Avances en Ciencias e Ingenieria*. 2(3) : 45-55.
- Merhi, M. (2008).** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses: caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse. France. 249p.
- Meziani, M. et Hamidechi, M. A.(2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques. Thèse de doctorat.Université Mentouri Constantine. Algérie. 96p.
- Miettinen, I., Martikainen, P., Vartiainen, T. et Lötjönen, S. (1993).** Biochemical and chemical degradation of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2 (5H)-furanone (MX) in surface and drinking water. *Chemosphere*.27(9): 1707-1718.
- Millot, F., Decors, A., Mastain, O., Quintaine, T., Berny, P., Vey, D. et Bro, E. (2017).** Field evidence of bird poisonings by imidacloprid-treated seeds: a review of incidents reported by the French SAGIR network from 1995 to 2014. *Environmental Science and Pollution Research*. 24(6): 5469-5485.
- Mortland, M. M. (1970).** Clay-organic complexes and interactions. In *Advances in agronomy*. Academic Press. 22: 75-117.

Muir, D.(1991). Dissipation and transformation of pesticides in water and sediment. Environmental Chemistry of Herbicides. CRCP. Inc. 1-87.

-N-

Nasseri, S., Kalantary, R., Nourieh, N., Naddafi, K., Mahvi, A. et Baradaran, N. (2010).Influence of bioaugmentation in biodegradation of PAHs-contaminated soil in bio-slurry phase reactor. Journal of Environmental Health Science & Engineering. 7(3) : 199-208.

Nocon, C. (2013). Évaluation des performances du spectromètre de masse MALDI TOF Microflex LT Bruker comparées à celles du spectromètre Vitek MS Biomérieux et démarche d'accréditation.Thèse de doctorat.Université du droit et de la santé. Lille.149p.

-O-

Ouattara, B., Savadogo, O. W., Traore, O., Koulibali, B., Sedogo, M. P. et Traore, A. S. (2010). Effet des pesticides sur l'activité microbienne d'un sol ferrugineux tropical du Burkina Faso. Cameroon Journal of Experimental Biology: 6(1): 11-20.

Odukkathil, G. et Vasudevan, N. (2013).Toxicity and bioremediation of pesticides in agricultural soil. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. 12(4): 421-444.

-P-

Perdana, M. D. J. (2019). The Implementation of Prior Informed Consent in the Rotterdam Convention in Indonesia to Protect the Right to Health (Case Study of Pesticide Import). Thèse de doctorat. Université Islam. Indonésie. 94p.

Philogène, B. J. (1985). Utilisation et réglementation des pesticides dans le Tiers Monde: problèmes et perspectives en Afrique. Canadian Journal of Development Studies. Revue canadienne d'études du développement. 6(2) : 275-288.

-R-

- Raby, K. (2013).** Élimination de l'azote contenu dans un lisier de porc synthétique à l'aide d'un biofiltre percolateur. Thèse de doctorat. Université de Sherbrooke. Québec. 98p.
- Ray, S. (2014).** Bioremediation of pesticides: A case study. In *Microbial Biodegradation and Bioremediation*. 511-518.
- Robinson, R. et Sutherland, W. (2002).** Post-war Changes in Arable Farming and Biodiversity in Great Britain. *Journal of Applied Ecology*. 39:157–176.
- Rokade, K. B. et Mali, G. V. (2013).** Biodegradation of chlorpyrifos by *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 4(2): 609-616.

-S-

- Sanchez-Camazano, M. et Sanchez-Martin, M. J. (1991).** Hydrolysis of azinphosmethyl induced by the surface of smectites. *Clays and Clay Minerals*. 39(6): 609-613.
- Sarwar, M. (2015).** The dangers of pesticides associated with public health and preventing of the risks. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering*. 1(2): 130-136.
- Savadogo, P. W. (2014).** Etude de la biodegradation anaerobie des pesticides utilisés en agriculture au Burkina Faso: cas particuliers du Decis de l'Ultracide et du Sumithion. Thèse de doctorat. [Université de Ouagadougou](#). Burkina Faso. 114p.
- Scheyer, A. (2004).** Développement d'une méthode d'analyse par CPG/MS/MS de 27 pesticides identifiés dans les phases gazeuses, particulaire et liquide de l'atmosphère: Application à l'étude des variations spatio-temporelles des concentrations dans l'air et dans les eaux de pluie. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur. Strasbourg. France. 236p.
- Schrijver, A. D. et Mot, R. D. (1999).** Degradation of pesticides by actinomycetes. *Critical Reviews in Microbiology*. 25(2): 85-119.
- Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., La Scola, B., Fournier, P. E., Rolain, J. M. et Raoult, D. (2009).** Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria

- by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*. 49(4) : 543-551.
- Serra, A.A. (2015).** Réponses échophysologiques et moléculaires des plantes aux stress xénobiotiques complexes de faible intensité: implication dans les capacités de protection environnementale des bandes enherbes. Thèse de doctorat. Université de Rennes 1.France. 306p.
- Sethunathan, N. et Yoshida, T. (1973).**A *Flavobacterium* sp. that degrades diazinon and parathion. *Canadian Journal of Microbiology*. 19(7): 873-875.
- Sharmila, M., Ramanand, K. et Sethunathan, N. (1989).** Effect of yeast extract on the degradation of organophosphorus insecticides by soil enrichment and bacterial cultures. *Canadian Journal of Microbiology*. 35(12): 1105-1110.
- Singh, B. K. et Walker, A. (2006).** Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS microbiology reviews*. 30(3): 428-471.
- Singleton, D.R. (1999).** Bactériologie. Edition Duonod 4ème édition. Paris. 415p.
- Singleton, D.R., Furlong, M.A., Rathbun, S.L. et Whitman, W.B. (2001).** Quantitative comparisons of 16S RNA gene sequence libraries from environmental sample. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 4374-4376.
- Smolen, J. M. et Stone, A. T. (1998).** Metal (Hydr) oxide Surface-Catalyzed Hydrolysis of Chlorpyrifos-Methyl, Chlorpyrifos-Methyl Oxon, and Paraoxon. *Soil Science Society of America Journal*. 62(3) : 636-643.
- Steeve, H. T., Pascal, R. et Guy, L.(2013),** Neurotoxicité des pesticides Quel impact sur les maladies neurodégénératives?. *médecine/sciences*. 29 : 273-8
- Sur, I. M., Micle, V., Boroş, M. N. et Rogozan, G. C. (2017).** The conception of an experimental model for ex situ bioremediation of soils contaminated with petroleum hydrocarbons. *Advances in Environmental Sciences*. 9(1): 72-76.

-T-

- Tabet, J. C. K. et Lichtenstein, E. P. (1976).**Degradation of [14C] photodieldrin by *Trichoderma viride* as affected by other insecticides. *Canadian journal of microbiology*. 22(9): 1345-1356.

- Talaiekhosani, A., Alaei, S. et Ponraj, M. (2015).** Guidelines for quick application of biochemical tests to identify unknown bacteria. *Accounts of Biotechnology Research*. 2(2) : 65-82.
- Tomé, H. V. V., Martins, G. F., Lima, M. A. P., Campos, L. A. O. et Guedes, R. N. C. (2012).** Imidacloprid-induced impairment of mushroom bodies and behavior of the native stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. 1-9.
- Tomei, M. C., Angelucci, D. M., Annesini, M. C. et Daugulis, A. J. (2013).** Ex situ remediation of polluted soils by absorptive polymers, and a comparison of slurry and two-phase partitioning bioreactors for ultimate contaminant degradation. *Journal of hazardous materials*. 262: 31-37.
- Tomlin, C. (1995).** The pesticide manual, 10th ed. The British Crop Protection Council & The Royal Society of Chemistry. Incorporating the agrochemicals handbook. Farnham, Surrey: British Crop Protection Council.
- Tripathi, P., Singh, P. C., Mishra, A., Chauhan, P. S., Dwivedi, S., Bais, R. T. et Tripathi, R. D. (2013).** Trichoderma: a potential bioremediator for environmental cleanup. *Clean Technologies and Environmental Policy*. 15(4): 541-550.

-V-

- Verardo, E., Atteia, O. et Prommer, H. (2017).** Elucidating the fate of a mixed toluene, DHM, methanol, and i-propanol plume during in situ bioremediation. *Journal of contaminant hydrology*. 201 : 6-18.
- Viollet, A. (2010).** Influence du système de sécrétion de type III bactérien dans les interactions plante-*Pseudomonas* spp. Fluorescents non pathogènes. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne. France. 364p.

-W-

- Winker, S. et Woese, C. R. (1991).** A definition of the domains Archaea, Bacteria and Eucarya in terms of small subunit ribosomal RNA characteristics. *Systematic and applied microbiology*. 14(4): 305-310.

-Y-

Yalaoui-Guellal, D. et Kecha, M. E. (2012). Criblage d'actionomycètes productrices d'antibiotique et d'antifongique à partir de sédiments marins fluviaux. Mémoire de magistère. Université A Mira-Bejaia. Algérie. 98p.

Yalaoui-Guellal, D. (2017). Production des biosurfactants par des souches hydrocarbonoclastes isolées des sédiments du bassin versant de la Soummam de Bejaia, Algérie. Thèse de doctorat. Université A Mira-Bejaia. Algérie. 126p.

Ye, X., Dong, F., et Lei, X. (2018). Microbial resources and ecology-microbial degradation of pesticides. *Natural Resources Conservation and Research*. 1(1):1-7.

-Z-

Zeinat Kamal, M., Nashwa, A. H., Mohamed, A. I. et Sherif, E. N. (2008). Biodegradation and detoxification of malathion by of *Bacillusthuringiensis* MOS-5. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2(3): 724-732.

Zhang, H., Chen, W. R. et Huang, C. H. (2008). Kinetic modeling of oxidation of antibacterial agents by manganese oxide. *Environmental Science & Technology*. 42(15): 5548-5554.

Zhang, W., Jiang, F. et Ou, J. (2011). Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. *Proceedings of the international academy of ecology and environmental sciences*. 1(2): 125.

Sites web

Pour plus de détails sur les décrets, consulter l'index phytosanitaire des produitsphytosanitaire2015:http://www.minagri.dz/pdf/Dpvct/INDEX_PRODUIITS_PH YTO_2015.pdf.

Annexes

Annexe 01 : Milieux de culture**1. Milieu minérale minimum 1 (MMM1) (g/l)**

KH_2PO_4 (1,5g), Na_2HPO_4 (0,6g), NaCl (0,5g), NH_4SO_4 (2g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2g), CaCl_2 (0,01g) et $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,001g), pH (7,0- 7,2) à 25°C°.

2. Milieu minéral minimum 2 (MMM2) (g/l)

Tampon tris (12g), Glucose (10g), NaCl (0,5g), KCl (0,5g) NH_4SO_4 (2g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2g) CaCl_2 (0,01g) et $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,001g), pH (7,0 -7,2) à 25°C°.

3. Milieu Plat Count Agar (PCA) (g/l)

Peptone (5g), Extrait de levure (2,5g), Glucose (1g), Agar (15g), pH (7,0 ± 0,2) à 25°C°.

4. Gélose Columbia (g/l)

Polypeptone (17g), Peptone pancréatique de cœur (3g), Extrait autolytique de levure (3g), Amidon de maïs (1g), Chlorure de sodium (5g), Colistine (10g), Acide nalidixique (15g), Agar bactériologique (14g), PH (7,3 ± 0,2) à 25°C°.

5. Milieu LuriaBertani (LB) (g/l)

Peptone (10g), extrait de levure (5g), NaCl (10g), pH (7,0 ± 0,2) à 25°C°.

6. R.M.V.P. (Rouge de Méthyl + VogesProkauer) (g/l)

Peptone (5,0g), Glucose(5,0g), Di-potassiumphosphate (5,0g), NaCl (200g), pH=7.5 ± 0.2 à 25°C.

7. Milieu à base de gélatine (g/l)

Gélatine (240g), Extraitdeviande (3,0g), Peptone (5,0g), NaCl (200g), pH=6.8 ± 0.2 à 25°C.

8. Milieu Mueller-Hinton (MH) (g/l)

Hydrolysatedecaséine (17,5g), Extraitdeviande (2,0g), Amidon (1,5g), NaCl (200g), Agar (17,0g), pH=7.3 ± 0.2 à 25°C.

Annexe 02 : Réactifs chimiques

1. Rouge de méthyl

Rougedeméthyl (0,1g), Ethanol (95% 300ml), Eaudistillée (500ml).

2. Voges-Proskauer A

α -Naphthol (10,0g), Ethanolà0.95 (100ml).

3. Voges-Proskauer B

KOH (20,0g), Ethanolà0.95 (100ml).

4. Acétate deplomb

Anhydre (3,25g), Trihydrate (2,55g), Décahydrate (1,69g), Eaudistilléeqsp (1000ml).

5. Kovacs

Diméthyl-amino-4benzaldéhyde (50,0g), Acidechlorhydrique (250g), PentanolII (750ml).

6. Tampon Tri-EDTA (TE)

Tris base (242g), Acide acétique glacial 100% (57,1 ml), EDTA 0,5M (100 ml), pH (8).

Résumé : Dans le cadre de cette étude, nous avons traité des informations sur les pesticides qui sont des substances chimiques et toxiques sur l'environnement et la santé humaine. Nous avons mentionnés quelques microorganismes tels que les actinomycètes, les *Bacillus*, et *Flavobacterium* qui ont capable de dégrader les pesticides par différents mécanismes, le métabolisme direct, le cométabolisme et la conjugaison. L'isolement de souches bactériennes dégradantes les pesticides est souvent réalisés par la technique d'enrichissement sur le milieu minéral minimum (MMM). L'identification de ces bactéries se fait généralement par des techniques classiques (morphologique, biochimique) et avancées comme la technique de MALDI-TOF/MS. La bioremédiation est l'une des outils biotechnologiques utilisés pour diminuer la toxicité et la concentration des pesticides via des micro-organismes qui utilisent ces polluants soit comme source de carbone et d'énergie pour l'élimination ou bien par sa conversion en substances moins toxiques par des mécanismes tels que la biodégradation.

Mots clés : Pesticides, Technique d'enrichissement, Techniques d'identification, Bioremédiation.

Abstract : As part of this study, we have dealt with information on pesticides, which are chemical and toxic substances on the environment and human health. We have mentioned some microorganisms such as actinomycetes, *Bacillus*, and *Flavobacterium*, which are able to degrade pesticides by different mechanisms, direct metabolism, cométabolisme and conjugation. The isolation of bacterial strains degrading pesticides is often achieved by enrichment technique on the minimum mineral medium (MMM). The identification of these bacteria is generally done by classical methods (morphological, biochemical) and advanced analysis techniques such as the MALDI-TOF / MS methods. Bioremediation is one of the biotechnological tools used to decrease the toxicity and the concentration of pesticides through microorganisms that use these pollutants either as a source of carbon and energy for elimination or by its conversion into less toxic substances by biodegradation mechanism.

Keywords : Pesticides, Enrichment technique, Identification methods, Bioremediation.

ملخص : كجزء من هذه الدراسة، تناولنا معلومات عن مبيدات الآفات وهي مواد كيميائية وسامة على البيئة وصحة الإنسان. لقد ذكرنا بعض الكائنات الحية الدقيقة مثل الفطريات الشعاعية، العسوية، والفلافوباكتريريوم القادرة على تحلل المبيدات الحشرية بآليات مختلفة، والتمثيل الغذائي المباشر، والمذنبات، والاقتران. غالبًا ما يتم عزل السلالات البكتيرية المهينة لمبيدات الآفات عن طريق تقنية التخصيب على الحد الأدنى من الوسط المعدني (MMM). يتم تحديد هذه البكتيريا بشكل عام من خلال التقنيات الكلاسيكية (المورفولوجية والكيميائية الحيوية) والمتقدمة مثل تقنية MALDI-TOF / MS. المعالجة الحيوية هي إحدى أدوات التكنولوجيا الحيوية المستخدمة لتقليل سمية وتركيز المبيدات عن طريق الكائنات الحية الدقيقة التي تستخدم هذه الملوثات إما كمصدر للكربون والطاقة للتخلص منها أو بتحويلها إلى مواد أقل سمية بواسطة آليات مثل التحلل البيولوجي.

الكلمات المفتاحية: مبيدات الآفات، تقنية الإثراء، تقنيات التعريف، المعالجة الحيوية.