

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

Ecole Nationale Polytechnique



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
Ecole Nationale Polytechnique

Département de Génie de l'Environnement
Unité de Recherche en Ingénierie et Environnement (URIE)

Projet de Fin d'Etudes
En vue de l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Génie de
l'Environnement

Présenté par:

Mr. BERRAHMA Rouchdi

Thème

**Isolement et caractérisation de souches
bactériennes dégradant le fénitrothion et le
malathion à partir des boues activées**

Soutenu le : 24/06/2015 devant le Jury composé de :

Mr. R.BOUARAB
Mr. M.DROUCHE
Mme N.ABDI
Mr. D.TAZDAÏT

Professeur (ENP)
Professeur (ENP)
Professeur (ENP)
Maître de Conférences B (UMMTO)

Président
Examinateur
Promotrice
Co-Promoteur

Promotion juin 2015

Dédicaces

A la mémoire de mon père .

Je dédie ce mémoire à ma mère , source de tendresse et d'affection .

Pour mon frère El-Mehdi et ma sœur Meriem , pour leur soutien et leurs encouragements .

Pour mes amis Abdelaziz , Oussama et Walid .

Toute mon affection et toute ma gratitude .

Rouchdi

Remerciements

Je tiens à remercier mes deux directeurs de mémoire, Pr. Nadia ABDI et Dr. Djaber TAZDAÏT, pour leur suivi durant la réalisation de ce travail.

J'adresse mes remerciements au Pr. Rabah BOUARAB, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance, et au Pr. Madani DROUCHE, pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Je remercie aussi tous les membres de l'URIE, pour leurs conseils, leur soutien et la chaleur familiale avec laquelle ils m'ont entouré.

Je tiens à remercier Melle Amel BERRANI, chef de service contrôle qualité d'ALPHYT, pour m'avoir fourni le malathion et le fénitrothion utilisés dans mon projet, ainsi que Mr. Abdesslam ELAHOUEL, chef de service exploitation de SEAAL Kolea, pour m'avoir fourni les boues activées.

Je tiens à remercier les microbiologistes du laboratoire de bactériologie médicale de l'Institut Pasteur de Dely Brahim, surtout Dr. Nawel AOUDIA, spécialiste en biologie clinique, d'avoir accepté d'analyser les échantillons fournis au laboratoire.

Merci

Abréviations :

ADN : acide désoxyribonucléique

ALPHYT : Algérienne des Phytosanitaires

APE : Agence de Protection de l'Environnement

CAG : Charbon Actif en Grain

CAP : Charbon Actif en Poudre

CIPAC : *Collaborative International Pesticides Analytical Council*

FAO : *Food and Agriculture Organization (en français : L'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)*

GST : Glutathione S-transferase

IUPAC : *The International Union of Pure and Applied Chemistry (enfrançais : L'Union internationale de chimie pure et appliquée)*

OMS : *Organisation mondiale de la santé*

PNPG : p-Nitrophenol-a-D-Glucopyranoside

POPs : Polluants organiques persistants

SEAAL : Société des Eaux et de l'Assainissement d'Alger

UV : Ultra Violet

Liste des figures :

Figure 1 - Processus et voies de dispersion des pesticides dans l'environnement.....	16
Figure 2 - Schéma simplifié du métabolisme et du co-métabolisme d'un produit phytosanitaire par les microorganismes.....	20
Figure 3 - Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par les estérases.....	22
Figure 4 - Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par la glutathion S-transférase (GST).....	23
Figure 5 - Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par les cytochromesP450.....	23
Figure 6 - Structure chimique du fénitrothion.....	25
Figure 7 - La dégradation thermique du fénitrothion.....	27
Figure 8 - La biodégradation du fénitrothion dans le sol	28
Figure 9 - Structure chimique du malathion.....	29
Figure 10 - Clivage enzymatique du malathion.....	32
Figure 11 - Bassin d'aération de la station d'épuration de Kolea.....	34

Figure 12- Agitateur-incubateur orbital utilisé.....	36
Figure 13 - Les étapes de la coloration de gram.....	40
Figure 14 - Mode opératoire du test a la catalase	41
Figure 15- Résultats du test de l'oxydase.....	46

Liste des tableaux :

Tableau 1 - Classification fonctionnelle et principaux principes actifs des pesticides	12
Tableau 2 - Quelques exemples de microorganismes impliqués dans la dégradation des pesticides.....	20
Tableau 3 - Propriétés physico-chimiques du fénitrothion.....	26
Tableau 4 - Propriétés physico-chimiques du malathion.....	30
Tableau 5 - Résultats de l'ensemencement sur les différents milieux sélectifs.....	43
Tableau 6 - Morphologie des souches bactériennes détectées.....	44
Tableau 7 - Les caractères biochimiques des différentes souches obtenus avec les galeries API 20NE.....	47
Tableau 8 - Résultats de l'identification des souches isolées.....	48

Sommaire :

Introduction générale :	1
Recherche bibliographique :	3
1.Généralités sur la pollution des eaux :	4
1.1.Définition :	4
1.2.Les causes de la pollution de l'eau :	4
1.3.Les sources de la pollution :	4
1.4.La pollution d'origine agricole :	5
1.4.1.Les fertilisants (ou engrais chimiques) :	6
1.4.2.Les pesticides :	6
1.5.Les conséquences de la pollution des eaux :	6
1.5.1.Sur la santé de l'Homme:	6
1.5.2.Sur la faune et la flore :	6
2.Généralités sur les pesticides :	8
2.1.Historique :	8
2.2.Définition :	9
2.3.Classification des pesticides :	10
2.3.1.Classification en fonction de l'agent parasite cible :	10
2.3.2.Classification en fonction de la structure chimique de la substance active :	11
2.4.Normes réglementaires régissant l'emploi des pesticides :	12
2.5.Les pesticides en Algérie :	13
2.6.Effets des pesticides sur la santé et sur l'environnement :	14
2.6.1.Effets sur la santé :	14
2.6.2.Effets sur l'environnement :	14
2.7.Le comportement et le transfert des pesticides dans l'environnement.....	15

2.7.1.La rétention des pesticides :.....	16
2.7.2.La dégradation des pesticides: :.....	17
2.7.3.La dissipation des pesticides :.....	18
2.8.La biodégradation des pesticides :.....	19
2.8.1.Définition:.....	19
2.8.2.Les micro-organismes impliqués dans la biodégradation des pesticides :.....	19
2.8.3.Les mécanismes de la biodégradation :.....	21
3.Généralités sur le fénitrothion et le malathion :.....	25
3.1.Le fénitrothion :.....	25
3.1.1.Définition :.....	25
3.1.2.Mode d'action :.....	26
3.1.3.Méthodes de traitement :.....	27
3.1.3.1. Méthodes physico-chimiques.....	27
3.1.3.2.Méthode biologique :.....	28
3.2.Le malathion :.....	29
3.2.1.Définition :.....	29
3.2.2.Mode d'action :.....	30
3.2.3.Méthodes de traitement :	31
3.2.3.1.Méthode physico-chimique :.....	31
3.2.3.2. Méthode biologique :.....	31
Partie expérimentale.....	33
4.Matériel et méthodes.....	34
4.1Matériel biologique.....	34
4.1.2.Entretien des boues activées.....	34
4.1.3..Composition du milieu de culture	35
4.2.Matériel non biologique.....	35

4.3.Procédures d'adaptation des boues activées aux pesticides.....	35
4.4.Isolement et identification des microorganismes	38
4.4.1.Isolement :.....	38
4.4.2.Identification :.....	38
4.4.2.1.Coloration de Gram :.....	39
4.4.2.2.Recherche de la catalase :.....	40
4.4.2.3.Recherche de l'oxydase :.....	41
4.4.2.4.La méthode d'identification par la galerie API 20 NE :.....	41
5.Résultats et discussion :.....	43
5.1.Résultats de l'ensemencement sur les différents milieux sélectifs:.....	43
5.2.Isolement et identification des souches bactériennes mises en évidence dans les différents milieux sélectifs :	44
5.2.1.Isolement et purification :.....	44
5.2.2.Identification :.....	44
5.2.2.1.Etude morphologique des colonies détectées :.....	44
5.2.2.2.Etude biochimique:.....	45
5.3.Discussion des résultats obtenus :.....	48
Conclusion et perspectives.....	51
Références bibliographiques:.....	54
Résumé , Abstract,ملخص,.....	69

Introduction générale

Le développement industriel et les activités humaines produisent une quantité très importante de polluants chimiques (colorants, intermédiaires de synthèse, produits phytosanitaires, médicaments, etc.). Parmi eux, les pesticides constituent une classe à part car ils sont délibérément introduits dans l'environnement. Il s'agit de substances destinées à lutter contre les parasites des cultures au sens large, c'est-à-dire contre des organismes jugés indésirables. La diffusion des pesticides dans la nature engendre une pollution des différents compartiments de la biosphère (eau, sol et atmosphère) et peut induire des effets toxiques aigus sur la biomasse terrestre et aquatique. Il est aujourd'hui démontré que certains pesticides sont des perturbateurs endocriniens et présentent en particulier des effets cancérogènes et mutagènes chez l'être humain [1].

La contamination des eaux par les pesticides constitue également l'un des principaux problèmes environnementaux associés aux activités industrielles et agricoles. C'est pourquoi l'élimination de ces produits devient un impératif absolu [2].

De nombreuses techniques existent pour traiter les eaux chargées en pesticides. Il s'agit le plus souvent de traitements physiques (adsorption sur charbon actif, la photolyse par les rayons ultraviolets et la nanofiltration) ou chimiques (procédés d'oxydation variés) [3, 4, 5]. Ces techniques qui sont relativement coûteuses, ne sont finalement que très peu mises en œuvre et des alternatives moins onéreuses ont été imaginées. Les traitements biologiques, notamment, répondent à cette contrainte; ils sont souvent simples et bon marché. Ce type de traitement entraîne la consommation par biodégradation ou minéralisation des substances polluantes par une biomasse capable d'utiliser le pesticide comme source nutritive.

La biodégradation des pesticides en aérobiose a été largement étudiée. Cette biodégradation est basée sur l'utilisation de ces composés essentiellement comme source de carbone et d'énergie, et ce, aussi bien par des cultures microbiennes mixtes que pures. C'est dans ce contexte que nous avons entrepris l'isolement et l'identification des souches microbiennes du microbiote des boues activées, prélevées à la station d'épuration de Kolea, impliquées dans la biodégradation de deux organophosphorés très largement utilisés en Algérie : le malathion et le fenitrothion.

Recherche bibliographique

1.Généralités sur la pollution des eaux

1.1.Définition

Selon Larousse, la pollution se définit comme : une dégradation de l'environnement par des déchets industriels ou des substances chimiques. Elle est principalement liée aux activités humaines [6].

La pollution de l'eau peut être définie comme étant la contamination des plans d'eau naturels par des substances chimiques microbiennes, physiques, radioactives ou pathogènes. Elle se produit lorsque les polluants sont rejetés directement ou indirectement dans les plans d'eau sans traitement adéquat pour éliminer les constituants nocifs[7].

1.2.Les causes de la pollution de l'eau

Quelles sont les causes de la pollution de l'eau? Cette question a beaucoup de réponses. Les humains participent à cette pollution, de même que les incendies de forêt, les inondations et autres phénomènes naturels. Une catastrophe telle que l'épave d'un pétrolier peut polluer nos eaux.

Certaines des causes les plus courantes de pollution de l'eau comprennent :

- les eaux de ruissellement ;
- les rejets domestiques ;
- les rejets industriels ;
- les déversements accidentels ;
- l'utilisation des structures de contrôle de l'eau comme les barrages [8].

1.3.Les sources de la pollution

Il existe deux formes de base de la pollution de l'eau :

- changement des types et des quantités de matières transportées par l'eau ;
- modification des caractéristiques physiques d'une masse d'eau [9].

Les pratiques agricoles peuvent contribuer à la pollution de l'eau des parcs d'engraissement, les pâturages et les terres cultivées. L'exploitation minière, le forage de pétrole, et les décharges peuvent également être des sources importantes de pollution d'eau. D'autres sources de pollution toujours liées à l'homme, tels que les égouts sanitaires et pluviaux, l'industrie et la construction, constituent également des sources potentielles de pollution [10].

Selon un rapport publié en 1990 par l'Agence de protection de l'environnement (APE), plus de 50% de la pollution de l'eau des ruisseaux et des rivières se produisent en raison de la lixiviation et le mélange de produits chimiques à partir des pratiques agricoles. La deuxième source la plus importante est les sources municipales (environ 12%) [10].

La pollution de l'eau se produit lorsqu'une masse d'eau est affectée en raison de l'ajout de grandes quantités de matériaux à l'eau. Les sources de pollution de l'eau sont classées comme étant des sources ponctuelles ou des sources non ponctuelles de pollution. Les sources ponctuelles de pollution se produisent lorsque la substance polluante est émise directement dans la voie navigable. Une source diffuse (non ponctuelle) se produit quand il ya ruissellement des polluants dans un cours d'eau, par exemple lorsque les engrais ou les pesticides sont introduits dans un flux par ruissellement. Une substance toxique est un polluant chimique qui n'est pas une substance naturellement présente dans les écosystèmes aquatiques. Les plus grands contributeurs à la pollution toxique sont les herbicides, les pesticides et les composés industriels [11].

1.4. La pollution d'origine agricole

La pollution agricole est la principale source de la pollution de l'eau. Elle provient des fermes, des élevages et des cultures. Elle se caractérise par de fortes teneurs en azote, phosphore et potassium. Les engrais chimiques et les pesticides qui sont employés en vue d'augmenter le rendement des cultures, sont les responsables majeurs de cette pollution. Ce type de pollution s'est intensifié depuis l'industrialisation de l'agriculture [12].

Les principaux contaminants de la pollution agricole sont :

1.4.1. Les fertilisants (ou engrais chimiques)

Ces composés chimiques sont utilisés pour accroître le rendement des végétaux cultivés. Les principaux fertilisants sont les engrais azotés et les phosphates. L'usage intense et extrême de ces produits peut contaminer aussi bien les eaux de surfaces que les nappes phréatiques [13].

1.4.2. Les pesticides

Ce sont des produits chimiques tels que les insecticides, les fongicides, les herbicides, etc., largement utilisés dans le monde pour augmenter le rendement des cultures et tuer les insectes parasites responsables de la transmission de diverses maladies. Cependant, plusieurs rapports ont démontré que ces produits peuvent avoir des impacts négatifs sur l'environnement, telle que la contamination des eaux notamment[14].

1.5. Les conséquences de la pollution des eaux

1.5.1. Sur la santé de l'Homme

L'altération de la qualité de l'eau est à l'origine de nombreuses maladies mortelles causant environ 50 millions de décès par an dans le monde, la plupart de ces décès concernent l'Afrique et l'Asie. En Chine, par exemple, environ 75 % de la population (soit environ 1,1 milliards de personnes) n'ont pas accès à une eau potable[15].

Ce problème est plus alarmant dans les pays en voie de développement qu'il ne l'est dans les pays industrialisés.

En plus des pesticides, des phénomènes naturels tels que l'activité volcanique, la prolifération des algues, les tempêtes et les tremblements de terre sont susceptibles de provoquer également des modifications majeures de la qualité de l'eau et de son état écologique[16].

1.5.2. Sur la faune et la flore

La pollution de l'eau affecte les plantes et les organismes vivant dans les biosphères. Dans presque tous les cas, l'effet est dommageable non seulement pour les espèces et

les populations individuelles, mais aussi pour les communautés biologiques naturelles. Par exemple l'eau polluée par les nutriments provoque la prolifération d'algues toxiques, qui à leurs tour induisent la mort de poissons. La contamination chimique de l'eau peut augmenter la susceptibilité aux maladies et affecter négativement le processus de reproduction et le développement des organismes marins. Les polluants organiques persistants peuvent entraîner des malformations[16].

2.Généralités sur les pesticides

2.1.Historique

Les pesticides ne sont pas nouveaux. Les Romains tuaient les insectes nuisibles par la combustion de soufre et les mauvaises herbes supprimées avec du sel. Dans les années 1600, les fourmis ont été contrôlées avec des mélanges de miel et de l'arsenic. A la fin du XIXe siècle, les agriculteurs américains utilisaient l'acétoarsénite de cuivre, l'arséniate de calcium, le sulfate de nicotine, afin de contrôler les insectes nuisibles dans les cultures de plein champ, mais souvent les résultats n'étaient pas satisfaisants en raison des méthodes d'application primitive [17].

L'émergence de l'utilisation des pesticides a commencé après la Seconde Guerre Mondiale avec l'introduction du DDT, du β -hexachlorocyclohexane, de l'aldrine, de la dieldrine, de l'endrine, et de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D). Ces nouveaux produits chimiques étaient peu coûteux, efficaces et extrêmement populaires. Le DDT a été particulièrement favorisé pour son large spectre d'action contre les insectes ravageurs de l'agriculture. Sous la pression chimique constante, certains ravageurs sont devenus génétiquement résistants aux pesticides, les plantes et les animaux non ciblés ont été blessés, et les résidus de pesticides sont apparus dans des endroits inattendus [17].

Avec la publication du livre de Rachel Carson, *Silent Spring* en 1962, la confiance du public dans l'utilisation des pesticides a été secouée. En effet, Carson a été la première à dévoiler les conséquences environnementales néfastes liées à l'utilisation des pesticides [18].

Dans les années 1960, de nouvelles familles très importantes de produits chimiques ont été développés comme les herbicides (par exemple, les triazines, les acétanilides et les dinitroanilines). Dans les années 1970 et 1980, les pyréthroïdes synthétiques ont remplacés une grande partie des insecticides développés au cours des 20 années précédentes [17].

Pendant les années 1990, de nouvelles familles de produits agrochimiques ont été introduites sur le marché comme le tricétone, le triazolopyrimidine et l'isoxazole. De nouveaux insecticides et fongicides ont permis une meilleure gestion de la résistance

et une meilleure sélectivité [19,20]. Cette période a également vu l'introduction de méthodes de formulations plus respectueuses de l'environnement [21].

Actuellement, on assiste à une consolidation du marché au niveau des familles les plus récemment découvertes avec la recherche de nouvelles propriétés. Dans le même temps, de nouvelles cibles physiologiques de l'animal ou du végétal sont explorées dans le but de développer des produits à modes d'action originaux, des produits issus de la biotechnologie ou des médiateurs chimiques [22].

Par conséquent, les pesticides sont aujourd'hui à l'origine d'une pollution diffuse qui contamine les cours d'eaux, les lacs, les eaux souterraines ainsi que les zones littorales. Mais une des sources importantes de contamination par des pesticides provient de la négligence: stockage dans de mauvaises conditions, techniques d'applications défectueuses, rejet sans précaution de résidus ou les pollutions accidentelles [22].

2.2.Définition

Les pesticides désignent tous les produits chimiques ou biologiques destinés à détruire des éléments vivants considérés comme nuisibles (microbes, animaux ou végétaux) ou destinés à s'opposer à leur développement, incluant les espèces non désirées de plantes ou d'animaux responsables de dommages durant la production, le traitement, l'entreposage ou la commercialisation des aliments, des denrées agricoles, et du bois[23].

Les pesticides désignent aussi bien la substance active, la spécialité commerciale ou préparation composée d'une ou plusieurs substances actives qu'un certain nombre d'adjuvants, solvants, ingrédients inertes, substances résiduelles et métabolites qui sont des molécules qui apparaissent au cours de la dégradation du produit [24].

Selon l'article 2 de la Loi n° 87-17 du 1er août 1987 relative à la protection phytosanitaire, un pesticide est désigné ainsi :

" Substance ou mélange de substances destiné à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles, en vue de la protection végétale. Le terme comprend les agents biologiques, les régulateurs de croissance, les correcteurs de carence, les défoliants, les agents de dessiccation, les agents d'éclaircissage ainsi que les substances appliquées

sur les cultures avant ou après récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport " [25].

2.3. Classification des pesticides

Pour différencier les pesticides, deux classifications sont utilisées : une classification en fonction de l'agent parasite cible et une autre en fonction de la structure chimique de la substance active (Tableau 1) [26,27].

2.3.1. Classification en fonction de l'agent parasite cible

Cette classification repose sur le parasite à contrôler. Il existe trois grandes familles de pesticides :

- Les herbicides : également connus sous le nom de désherbants, ce sont des pesticides utilisés pour éliminer les mauvaises herbes. Les herbicides sélectifs éliminent des adventices spécifiques indésirables, tout en laissant la culture désirée relativement indemne. Les herbicides sont largement utilisés dans la gestion des gazons agriculture et paysage. Aux États-Unis, ils représentent environ 70% de la consommation de pesticides agricoles [28].
- Les fongicides : ce sont des composés chimiques biocides utilisés pour éliminer des champignons. Les champignons peuvent causer de graves dommages dans l'agriculture, entraînant des pertes critiques de rendement, de qualité, et de profit. Les fongicides sont utilisés à la fois dans l'agriculture et pour combattre les infections fongiques chez les animaux. [29].
- Les insecticides : Ce sont des substances utilisées pour éliminer les insectes. Ils comprennent les ovicides et larvicides utilisés contre les œufs et larves d'insectes, respectivement. Les insecticides sont utilisés dans l'agriculture, la médecine, l'industrie et par les consommateurs. Les insecticides sont revendiqués comme étant un facteur important de l'augmentation de la productivité de l'agriculture du 20ème siècle. Presque tous les insecticides ont le potentiel de modifier de manière significative les écosystèmes; beaucoup sont toxiques pour les humains; certains se concentrent le long de la chaîne alimentaire [30].

Outre ces trois grandes familles, on peut citer :

- Les acaricides : action contre les acarides et les araignées rouges.
- Les rodenticides : action contre les rongeurs.
- Les nematicides : action contre les vers du groupe des nématodes .
- Les molluscicides : action contre les limaces et les escargots .
- Les corvicides : action contre les oiseaux ravageurs. [31].

2.3.2. Classification en fonction de la structure chimique de la substance active

Ce classement tient compte de la nature chimique de composants actifs des pesticides. Les principaux groupes chimiques comprennent les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les triazines[32] .

- Les organochlorés (DDT, lindane, chlordane, etc.),
- Les organophosphorés : esters phosphoriques, phosphoniques, phorothioniques (féntrothion , diazinon , dichlorovos , malathion, etc.),

Les pesticides organophosphorés forment le groupe le plus largement utilisé qui représente plus de 36% du marché mondial. Le plus utilisé d'entre eux est le méthyle parathion. Son accumulation présente des risques sur la santé [33].

Les organophosphorés possèdent une activité insecticide efficace, par ce qu'ils ont la capacité d'inhiber irréversiblement l'enzyme acétylcholinestérase du système nerveux des insectes et des mammifères. Chez l'homme, les organophosphorés sont absorbés par toutes les voies, pour atteindre des concentrations élevées dans les tissus adipeux, le foie, les reins, les glandes salivaires, la thyroïde, le pancréas, les poumons, l'estomac, les intestins et, avec des proportions plus petites, dans le système nerveux central et les muscles. Les organophosphorés sont facilement biotransformés dans le foie et ne s'accumulent pas dans l'organisme humain. L'excrétion de ces composés et de leurs métabolites est assez rapide, et se déroule principalement dans l'urine et, à de petites proportions, dans les selles, habituellement dans les 48 h. Les plus grands niveaux d'excrétion se produisent dans les 24 h après l'absorption[34, 35].

- Les carbamates formés par des sels ou esters d'acide carbamique (carbaryl, propoxur, etc.),

- Les triazines (atrazine, propazine, simazine, etc.),
- Les urées substituées incluant plusieurs groupes fonctionnels : phénylurées, sulfonurées, etc. [36, 37].

Tableau 1 : Classification fonctionnelle et principaux principes actifs des pesticides [38].

Insecticides	Herbicides	Fongicides	Rodenticides
organophosphorés	Composés chlorophenoxy	Benzènes substitués	inorganiques
carbamates	pentachlorophenol	organochlorés	Coumarines
Pyréthrine, pyrethoïde	Crésol, nitrophenols	carboximides	Cholécalciférols
Dérivés de l'arsenic et autres composés	Dérivés de l'arsenic et autres composés	anilinopyrimidine	convulsivants

2.4. Normes réglementaires régissant l'emploi des pesticides

Puisque les pesticides sont des substances chimiques toxiques et dangereuses, la loi doit déterminer à leur sujet des mesures réglementaires d'approbation, d'étiquetage, de fabrication, de formulation, d'emballage, d'utilisation et de destruction.

Les règlements varient d'un pays à l'autre. Certains aspects de la réglementation font l'objet de lois, avec des sanctions en cas de violation. D'autres aspects font l'objet de codes de pratique, ou même d'accords volontaires.

Une étude a indiquée qu'environ 25% des pays en voie développement manquent de lois régissant la distribution et l'utilisation des pesticides, et environ 80% ont des ressources insuffisantes pour faire respecter la législation en matière de pesticides existants [39].

La législation internationale s'occupe des polluants organiques persistants (connus également sous le nom de POPs), incluant les pesticides qui sont devenus nocifs d'un point de vue environnemental et sanitaire. Ces polluants sont définis à partir de leur toxicité élevée, persistance dans l'environnement, et leur bioaccumulation [40].

Au niveau mondial deux textes concernent la gestion des risques liés à ces composés :

- *La Convention de Stockholm*, est un accord international signé le 22 mai 2001 et entré en vigueur le 17 mai 2004, qui vise à interdire certains polluants organiques persistants (POPs) dont neuf pesticides : Aldrine, Chlordane, DDT, Dieldrine, Endrine, Heptachlore, Mirex, Toxaphène et Hexachlorobenzène. Plus de 150 pays ont signé cette convention, dont l'Algérie. Le chlordécone et le lindane ont été ajoutés à la liste des pesticides de la convention en 2005.[41, 42].

- *La Convention d'Aarhus*, est un accord international signé le 25 juin 1998 et entré en vigueur le 20 octobre 2001, est relatif à l'information environnementale. Les polluants visés par ce protocole sont les mêmes que ceux de la convention de Stockholm [43, 44].

En Algérie, la loi n° 87-17 du 1er août 1987 relative à la protection phytosanitaire a bien déterminé les mesures réglementaires relatives à la fabrication, l'étiquetage, l'entreposage, la distribution, la commercialisation et l'utilisation des produits phytosanitaires à usage agricole. Si le produit ne fait pas l'objet d'une homologation, il ne sera ni commercialisé, ni fabriqué, ni importé [25].

Les décrets exécutifs n° 95-405 du 2 décembre 1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole et le décret exécutif n° 10-69 du 31 janvier 2010 fixant les mesures applicables lors de l'importation et l'exportation des produits phytosanitaires à usage agricole, ont institué l'homologation des produits phytosanitaires [45].

2.5. Les pesticides en Algérie

Actuellement, en Algérie, l'usage des pesticides, surtout dans le domaine agricole ne cesse de se multiplier. Avec l'économie de marché, plusieurs entreprises spécialisées dans la fabrication des pesticides et autres produits phytosanitaires ont vu le jour. Parmi ces entreprises, on peut citer ALPHYT (Filiale du Groupe Industriel ASMIDAL), qui a pour vocation la formulation, la commercialisation et le développement des produits phytosanitaires à usage agricole et d'hygiène publique. L'entreprise met à la disposition de sa clientèle, une gamme de produits phytosanitaires diversifiée, répondant aux normes (FAO, OMS, CIPAC) et jouit ainsi d'une place privilégiée dans le marché des pesticides. En 2005, l'entreprise disposait

de capacités de production annuelles de 1.000.000 L de produits pour la lutte anti-acridienne, et de 3.528.000 Kg de pesticides en poudres [46].

2.6.Effets des pesticides sur la santé et sur l'environnement

2.6.1.Effets sur la santé

Les effets des pesticides sur la santé peuvent être aigus ou tardives pour les gens qui en sont exposés [47]. En 2007, une revue systématique a révélé que «la plupart des études sur la leucémie ont montré des associations positives avec l'exposition aux pesticides" et a conclu que l'utilisation des pesticides devrait être réduite. Des preuves accablantes existent aussi pour d'autres résultats négatifs de l'exposition aux pesticides, notamment des problèmes neurologiques, des malformations congénitales, de la mort fœtale et des troubles du développement neurologique [48, 49].

L'exposition aux pesticides peut engendrer des maladies chroniques telles que les cancers (cerveau, poumons, foie, estomac, etc.). Elle peut affecter le système de la reproduction . Elle peut également causer des troubles neuro-dégénératifs comme la maladie de Parkinson [50 , 51] .

Selon la Convention de Stockholm sur les POPs, 9 des 12 produits chimiques les plus dangereux et les plus persistants sont des pesticides [52].

2.6.2.Effets sur l'environnement

L'impact environnemental des pesticides comprend les effets des pesticides sur les espèces non cibles. Plus de 98% des insecticides pulvérisés et 95% des herbicides atteignent une destination autre que leurs espèces cibles, car ils sont pulvérisés ou étalés sur l'ensemble des champs [53]. Le ruissèlement agricole peut transporter les pesticides dans les milieux aquatiques, les zones de pâturage, les établissements humains et les zones non aménagées, affectant potentiellement d'autres espèces. D'autres problèmes émergent de pratiques de production, de transport et de stockage. Au fil du temps, l'application répétée augmente la résistance aux ravageurs, tandis que ses effets sur d'autres espèces peuvent faciliter la résurgence de la peste [54].

Les principaux impacts environnementaux sont multiples et vont de la simple éviction des plantes sauvages aux impacts à plus grande échelle tels que la réduction de la biodiversité en réduisant la disponibilité de nourriture des espèces indigènes, qui peuvent se propager à travers les chaînes alimentaires. L'utilisation de produits chimiques agricoles tels que les engrais et les pesticides peut augmenter ces impacts. Si les progrès de l'agrochimie ont réduit ces impacts, ils restent toujours importants. Ces effets sont amplifiés par l'utilisation de produits chimiques plus anciens et les mauvaises pratiques de gestion [52].

2.7. Le comportement et le transfert des pesticides dans l'environnement

Seulement 0,3% des pesticides épanchés atteignent la cible visée, tandis que 99,7% se dispersent dans l'environnement. Le devenir de ces toxiques, une fois introduits dans le milieu, est pratiquement incontrôlable. Leur comportement va conditionner leur persistance et leur dispersion vers d'autres compartiments de l'environnement (Figure 1). Plusieurs mécanismes gouvernent ce devenir, ils peuvent se classer en trois types :

- La rétention dans le sol.
- La dégradation (abiotique et biotique).
- La dissipation[55, 56, 57].

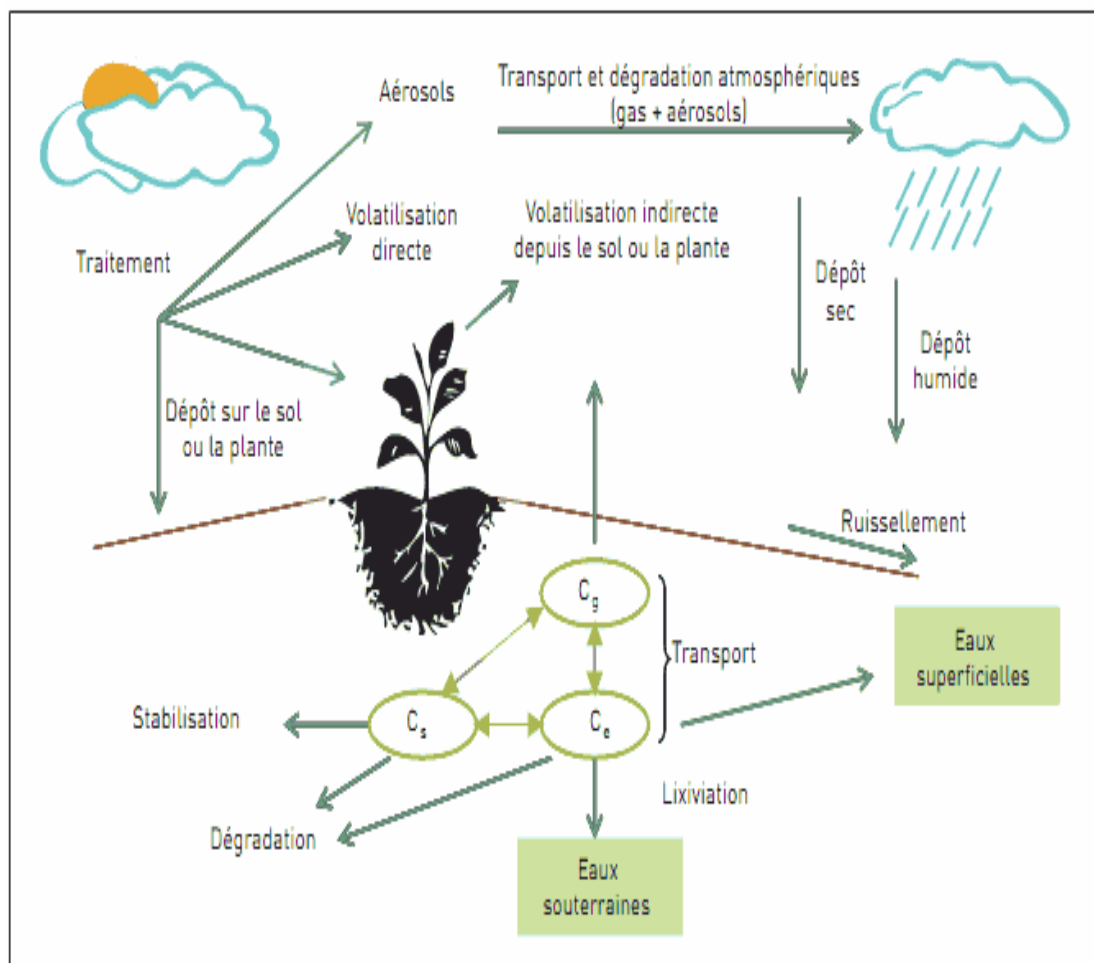


Figure 1: Processus et voies de dispersion des pesticides dans l'environnement.[58].

2.7.1. La rétention des pesticides

La rétention de pesticides dans les sols est essentiellement due à l'adsorption, qui est le passage d'un soluté à partir d'une phase aqueuse à la surface d'un adsorbant solide[59]. Les adsorbants solides sont les différents constituants du sol. Selon les propriétés des pesticides et des adsorbants, plusieurs mécanismes d'adsorption sont envisageables: les liaisons d'hydrogène, les échanges ioniques, les interactions avec des cations métalliques, les interactions polaires, le transfert de charge [31]. Comme les constituants du sol contiennent des groupes polaires et ionisables, l'adsorption des pesticides possédant des groupes polaires et non polaires peut impliquer plusieurs de ces mécanismes. Le processus inverse de l'adsorption est la désorption [60]. En général, la désorption est inversement proportionnelle à l'adsorption, étant faible

lorsque l'adsorption est grande, et inversement. Par exemple, l'adsorption de l'atrazine est entièrement réversible ; tandis qu'elle est irréversible pour le fénitrothion [61, 62].

2.7.2. La dégradation des pesticides

La dégradation des pesticides est le processus par lequel un pesticide est transformé en une substance bénigne qui est compatible avec l'environnement à l'emplacement auquel il a été appliqué [63]. Elle résulte de l'action du milieu naturel sur la matière active de la formulation chimique [64].

La persistance des pesticides dans l'environnement est conditionnée par leur réactivité vis-à-vis des processus abiotique ou biotique [65].

- Dégradation abiotique:

La dégradation abiotique concerne les réactions qui se développent dans la solution du sol ou sur la surface des colloïdes. Elle s'effectue sur le sol sous l'effet des rayons solaires (réactions photochimique) ou dans l'eau par des réactions d'hydrolyse. La dégradation abiotique contribue à la perte du pouvoir biocide spécifique de la matière active et à l'introduction dans le milieu de nouvelles structures chimiques [65, 66].

Parmi les méthodes utilisées pour le traitement abiotique des pesticides, on peut citer :

- Adsorption sur Charbon Actif en Poudre (CAP)
- Adsorption sur Charbon Actif en Grain (CAG)
- Ozonation
- La nanofiltration
- La photodégradation

- Dégradation biotique :

La dégradation biotique est la décomposition des matières organiques par des micro-organismes tels que les bactéries et les algues. Cette dégradation est liée à l'activité enzymatique des micro-organismes dans le sol. Une bonne aération du sol,

une teneur en matière organique élevée ainsi que l'humidité favorise le développement des microorganismes et donc accélèrent ce processus[67].

Parmi les altérations biotiques, deux situations se différencient : dans le premier cas, le pesticide est dégradé en produits inorganiques (CO₂, H₂O, Cl⁻, etc.), cette dégradation s'appelle la minéralisation. Dans le deuxième cas, le pesticide est partiellement dégradé en molécules organiques [68], c'est la biotransformation.

2.7.3. La dissipation des pesticides

La dissipation permet de déterminer la durée de résidence des pesticides (dont dépendent en grande partie leurs effets biologiques) ainsi que le potentiel de pollution de l'air et des eaux. Il y a trois types principaux de dissipation : dissipation par dispersion, dissipation par formation de résidus non extractibles, et dissipation et prélèvement par les plantes[69].

Dissipation par dispersion :

Le pesticide est susceptible d'être soumis au processus de volatilisation, de lessivage et du ruissèlement.

La volatilisation est le processus par lequel un composé s'évapore vers l'atmosphère.

Le lessivage est le processus de transfert des solutés en profondeur jusqu'aux nappes d'eaux souterraines tandis que le ruissèlement concerne le transfert vers les eaux de surface[70].

Dissipation par formation de résidus non extractibles:

Correspond aux résidus liés aux constituants du sol par des liaisons stables et qui sont devenus des résidus liés ou résidus non extractibles [71].

Dissipation et prélèvement par les plantes:

Le prélèvement par la plante est conditionné par la disponibilité des résidus, l'accessibilité, la solubilité dans l'eau et les constituants lipidiques racinaires et par les

paramètres qui définissent l'activité biologique de la plante (capacité d'absorption, température et humidité)[71].

2.8.La biodégradation des pesticides

2.8.1.Définition

Selon la définition de l'IUPAC (Union internationale de chimie pure et appliquée), la biodégradation est " la décomposition d'une substance catalysée par des enzymes *in vitro* ou *in vivo* "[72] .

La dégradation biologique des composés chimiques dans l'environnement est une voie importante pour leur élimination. La biodégradation des pesticides, est souvent complexe et implique une série de réactions biochimiques.

2.8.2.Les micro-organismes impliqués dans la biodégradation des pesticides

Différents systèmes biologiques, comme des micro-organismes, ont été utilisés pour biotransformer des pesticides (Tableau 2). Le sol peut développer rapidement la capacité de dégrader certains pesticides, quand ils sont continuellement appliqués au sol. Ces produits chimiques constituent la source de carbone et d'électrons donneurs appropriés pour certains micro-organismes du sol, établissant un moyen pour le traitement de sites contaminés par des pesticides [73, 74].

Les micro-organismes isolés qui sont capables de dégrader les pesticides, peuvent être utilisés pour la bioremédiation d'autres composés chimiques[75]. Toutefois, la transformation de ces composés dépend non seulement de la présence de microorganismes appropriés avec des enzymes dégradantes, mais également d'une large gamme de paramètres environnementaux [76]. En outre, certains aspects physiologiques, écologiques, biochimiques et moléculaires jouent un rôle important dans la transformation microbienne des polluants [77, 78].

Le progrès dans la biotechnologie de biodégradation s'appuie sur la microbiologie environnementale et la géochimie analytique. Des découvertes récentes sur la biodégradation (en général) et la biodégradation des hydrocarbures aromatiques (en particulier) se sont appuyés sur la caractérisation des micro-organismes: en culture pure isolée, en cultures d'enrichissement de laboratoire, et dans les sites contaminés.

De nouveaux outils d'analyses moléculaires (séquençage de l'ADN des microorganismes) ont approfondi nos connaissances sur les micro-organismes et les mécanismes de la biodégradation [79].

Dans la littérature, il ya quelques exemples de la biodégradation des pesticides, parmi eux, ont peut mentionner :

Le genre *Pseudomonas*, est le plus efficace pour la dégradation de composés toxiques. La capacité de ces bactéries à dégrader ces composés, est en relation avec le temps de contact avec le composé, les conditions d'environnement dans lequel ils se développent et leur polyvalence physiologique [80]. Ainsi, l'évaluation de la biodégradation de l'herbicide Aroclor 1242 par trois espèces de *Pseudomonas*, montre que ces bactéries ont une grande capacité de dégradation , selon leur pourcentage de dégradation, 99,8%, 89,4% et 98,4% respectivement[81].

D'autres études ont mis en évidence l'efficacité de la bactérie *Pseudomonas sp.* à dégrader l'atrazine [82, 83].

Une équipe de scientifiques est parvenue à isoler diverses espèces de champignons à partir de sols algériens contaminés par des pesticides. Ils ont constaté que les espèces isolées les plus fréquentes étaient *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Absidia* et *Rhizopus microsporus*. Dans ce rapport, 53 des espèces isolées présentaient des capacités à dégrader l'herbicide métribuzine en milieu liquide [84].

Tableau 2 : Quelques exemples de microorganismes impliqués dans la dégradation des pesticides[85].

Pesticides	Micro-organismes
<ul style="list-style-type: none"> • Pentachlorophenol(PCP) • Conservateur du bois, biocide agricole et industriel 	<ul style="list-style-type: none"> • Arthrobacter, • Mycobacterium, Flavobacterium, • Pseudomonas, • Phanerochaete chrysosporium
<ul style="list-style-type: none"> • S-triazines • Dérivés azotés hétérocycliques, herbicides dont métribuzine 	<ul style="list-style-type: none"> • Rhodococcus, • klebsiella, Pseudomonas, Acinetobacter • Cunninghamella echinulata.
<ul style="list-style-type: none"> • Carbamates, • Esters d'acide carbamique, • N-substitué (méthyle carbates, thiocarbates phénylcarbamates et dithiocarbates). 	<ul style="list-style-type: none"> • Pseudomonas, Achromobacter
<ul style="list-style-type: none"> • Organophosphorés, • (parathion, méthyl parathion, diazinon ; fenitrothion ; couphamos, gliocladium, virens malathion), pesticides agricoles 	<ul style="list-style-type: none"> • Pseudomonas, Flavobacterium

2.8.3. Les mécanismes de la biodégradation

Les micro-organismes ont la capacité d'interagir, à la fois chimiquement et physiquement, avec des substances conduisant à des changements structuraux ou à la dégradation complète de la molécule cible. Parmi les communautés microbiennes, les bactéries, les champignons, les actinomycètes sont les principaux microorganismes dégradant les pesticides[86]. Les champignons transforment généralement les pesticides en introduisant des changements structuraux mineurs à la molécule, la rendant non toxique. Le pesticide biotransformé est libéré dans l'environnement, où il est susceptible d'être dégradé par des bactéries[87].

Les micro-organismes peuvent être impliqués dans la dégradation des pesticides selon trois principaux mécanismes d'action (Figure 2) :

- Le métabolisme direct qui fait des pesticides une source d'énergie utilisée pour leur croissance.
- Le co-métabolisme : il induit une transformation chimique des pesticides sans que ceux-ci ne servent de source d'énergie.
- La conjugaison : ce sont des réactions chimiques catalysées par des enzymes exocellulaires, entre les pesticides eux-mêmes ou avec d'autres molécules présentes dans la solution du sol.

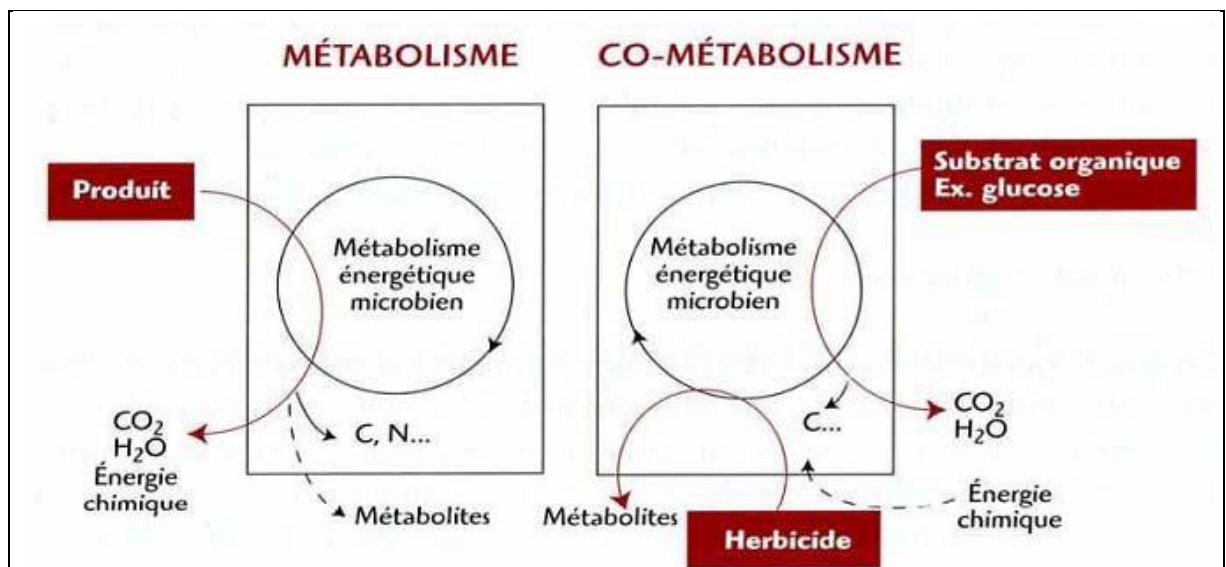


Figure 2 : Schéma simplifié du métabolisme et du co-métabolisme d'un produit phytosanitaire par les microorganismes.

Toutes les réactions chimiques qui rentrent dans le mécanisme de la biodégradation des pesticides sont catalysées par des enzymes, généralement intracellulaires. Les principales réactions sont la réaction d'hydrolyse, la réaction d'oxydation et la réaction de réduction [88].

Les champignons et les bactéries sont considérés comme des micro-organismes producteurs d'enzymes extracellulaires. La pourriture blanche des champignons a été proposée comme agent de biorestauration, en particulier pour les composés pas facilement dégradables par les bactéries. Cette capacité résulte de la production d'enzymes extracellulaires qui agissent sur une large gamme de composés organiques. Certaines de ces enzymes extracellulaires sont impliqués dans la dégradation de la lignine, comme la lignine peroxydase, la manganèse peroxydase, la laccase et les oxydases. Plusieurs bactéries qui dégradent les pesticides ont été isolées et la liste est en pleine expansion. Les trois grandes familles d'enzymes impliquées dans la dégradation sont les estérases, les glutathion S-transférases (GST) et les cytochromes P450[89].

Les réactions générales de chacune de ces classes d'enzymes sont montrées dans les figures 3,4,et 5 respectivement.

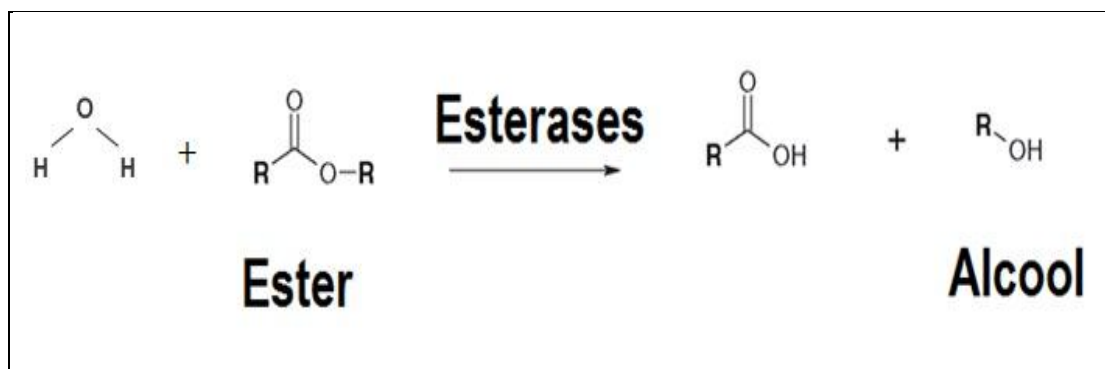


Figure 3 - Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par les estérases

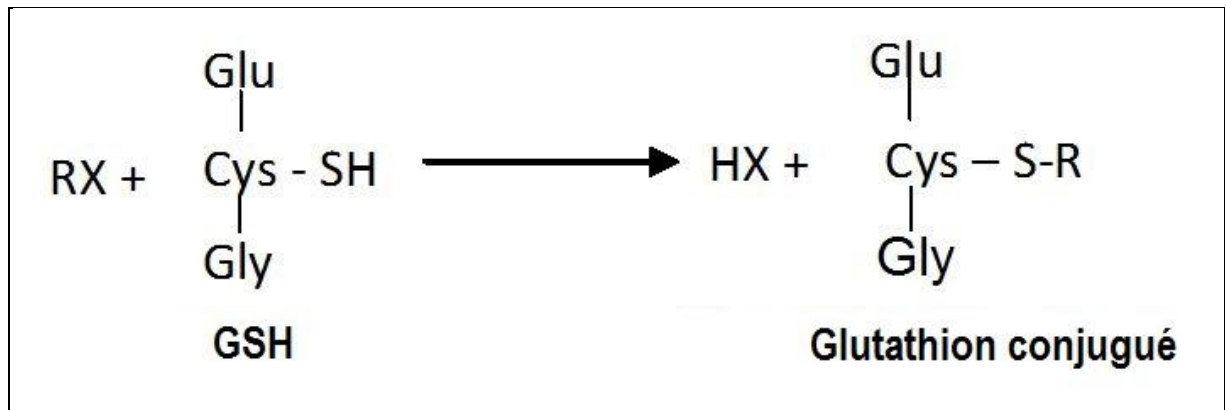


Figure 4 - Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par la glutathion S-transférase (GST)

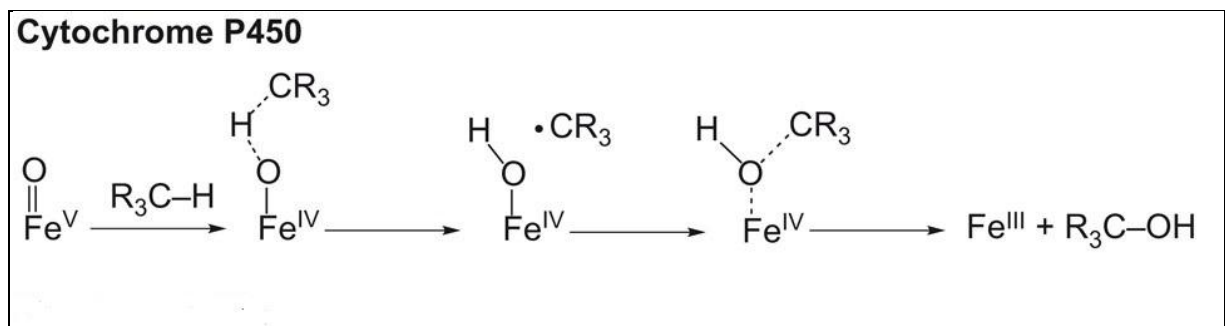


Figure 5 - Représentation de la réaction de conjugaison, catalysée par les cytochromes P450

L'application des enzymes pour transformer ou dégrader les pesticides est une méthode de traitement innovante pour l'élimination de ces produits chimiques dans les milieux pollués. La dégradation catalysée par une enzyme d'un pesticide peut être plus efficace que les procédés chimiques existants. Les enzymes sont au cœur du mode d'action de nombreux pesticides: certains pesticides sont activés *in situ* par action enzymatique. Les enzymes sont également impliqués dans la dégradation des composés pesticides, à la fois dans l'organisme cible, grâce à des mécanismes de détoxification intrinsèques et une résistance métabolique évoluée, et dans l'environnement, par l'intermédiaire de la biodégradation par les micro-organismes du sol et de l'eau [90].

Le métabolisme des pesticides organophosphorés chez les microorganismes peut impliquer un processus en trois phases. Dans la première phase du métabolisme, les propriétés initiales du pesticide sont transformées par oxydation, réduction, ou hydrolyse en un produit généralement soluble dans l'eau et moins toxique que le

produit parent. La deuxième phase comprend la conjugaison d'un pesticide à un métabolite de sucre ou d'acide aminé, ce qui augmente sa solubilité dans l'eau et réduit sa toxicité par rapport au pesticide parent. La troisième phase implique la conversion des métabolites de la phase II en conjugués secondaires, qui sont aussi non-toxiques.

Dans ces procédés les champignons et les bactéries sont impliquées agissent en produisant des enzymes intracellulaire et extracellulaires (les hydrolases, les peroxydases, les oxygénases, etc.)[91].

3. Généralités sur le fénitrothion et le malathion

3.1. Le fénitrothion

3.1.1. Définition

Le fénitrothion est un insecticide de contact. Il appartient à la famille des organophosphorés (Figure 6). Il est efficace contre un large éventail d'organismes nuisibles, tels que les mouches, les moustiques et les cafards. Son efficacité en tant qu'agent de contrôle du vecteur du paludisme est confirmée par l'OMS[92, 93]. En Algérie, le fénitrothion est commercialisé sous le nom de Fenitol 10 E.C où il est utilisé comme insecticide en hygiène publique [46].

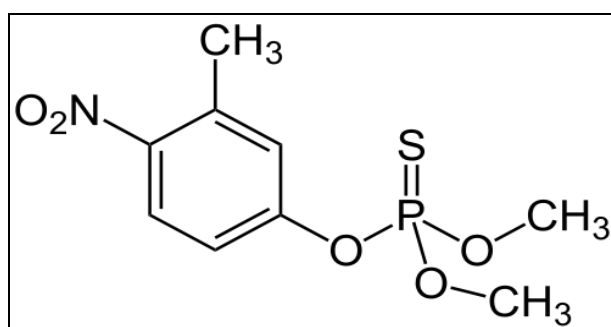


Figure 6: Structure chimique du fénitrothion.

Le fénitrothion a été introduit sur le marché en 1959 par Sumitomo Chemical Company et Bayer. Il est fortement utilisé dans tous les pays du monde, même aux Antilles (contre les vecteurs du chikungunya)[94]. Ses principales caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le Tableau 3.

Tableau 3: Propriétés physico-chimiques du fénitrothion[95].

ISO	Fénitrothion
IUPAC	<i>O,O</i> -Diméthyl <i>O</i> -(3-méthyl-4-nitrophenyl) phosphorothioate
Numéro CAS	122 - 14 - 5
Formule moléculaire	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS
Poids moléculaire	277,2
Couleur	Liquide jaune brun
Odeur	Caractéristique, désagréable
Densité	1,33 Kg/l à 20 °C
Stabilité	Reste stable pendant 3 ans conservé dans son emballage d'origine dans des conditions normales de température et d'humidité
Point d'ébullition	> 140 °C
Pression de vapeur	18 mPa (20°C)
Solubilité dans les solvants	Très solubles dans les solvants organiques
Solubilité dans l'acétone	> 99,5 % (matières insolubles < 0,5 %)
Solubilité dans l'eau	Non
Coefficient de partage (eau / octanol)	3,43 (20 °C)

3.1.2.Mode d'action

Le fénitrothion est un insecticide non systémique neurotoxique pour les invertébrés à sang froid. Il agit par contact en ciblant le site estérasique de l'acétylcholinestérase (l'enzymes qui catalysent, en temps normal, l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine) [94].

3.1.3.Méthodes de traitement

3.1.3.1.Méthodes physico-chimiques

- *Dégradation thermique*

La stabilité thermique du fénitrothion est faible. Il subit une réaction d'isomérisation à une température supérieure à 100 °C, et dans certaines conditions , il peut même se décomposer violemment [96]. La dégradation thermique du fénitrothion est montrée dans la figure 7.

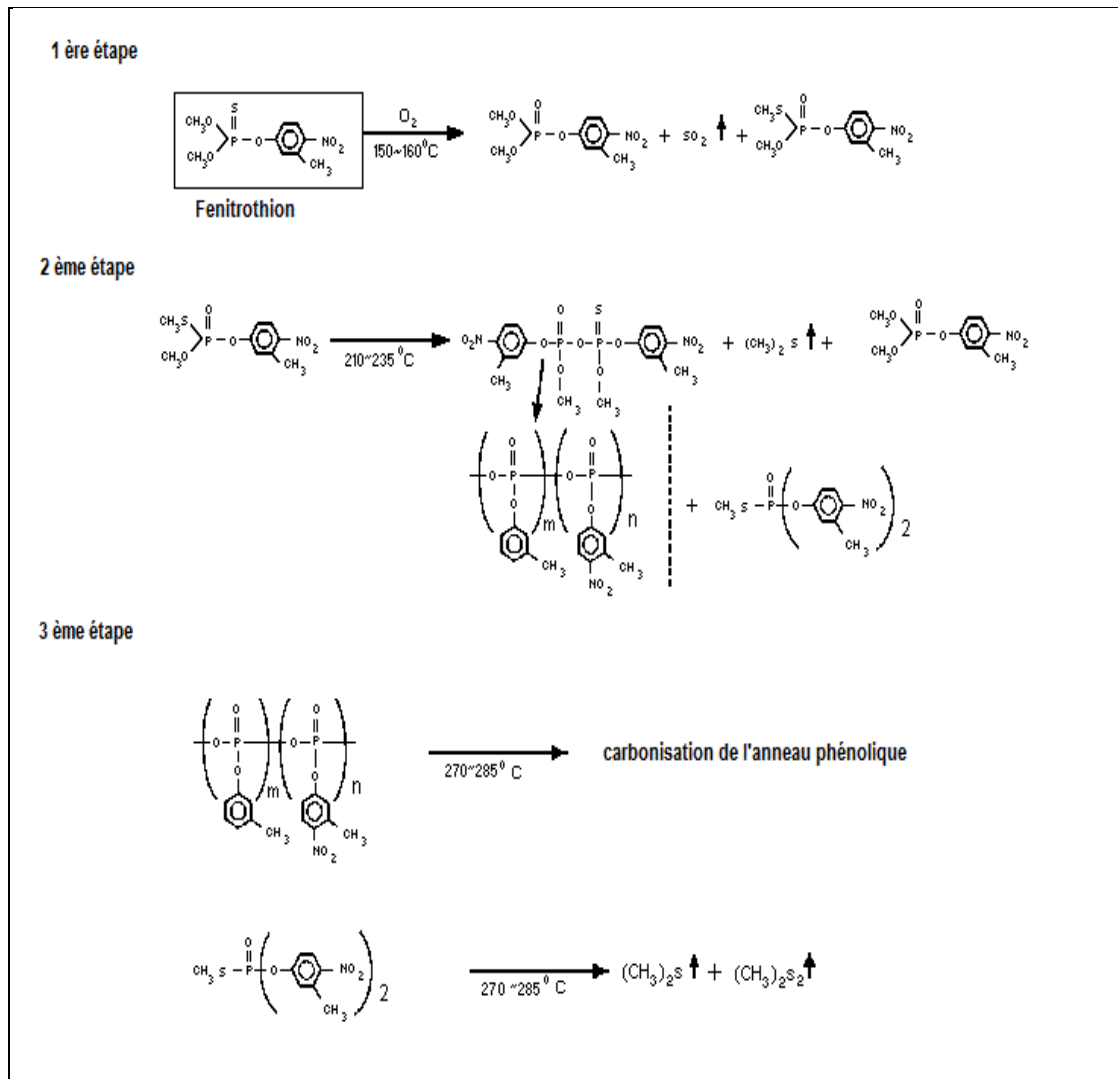


Figure 7- La dégradation thermique du fénitrothion[97]

- *Bioaccumulation*

Trois types d'algues, *Chlorella vulgaris*, *Nitzschia Closterium* et *Anabaena flosaquae*, ont rapidement absorbés le fénitrothion avec des ratios maximaux de bioaccumulation de 44, 105 et 53, respectivement [99].

3.2. Le malathion

3.2.1. Définition

Le malathion est un parasymphomimétique organophosphoré qui se lie irréversiblement à la cholinestérase (Figure 9). Le malathion est un insecticide de toxicité relativement faible pour l'homme. Dans l'ex-URSS, il était connu comme Carbophos, en Nouvelle-Zélande et en Australie comme Maldison et en Afrique du Sud comme Mercaptothion [100]. En Algérie, le malathion est commercialisé sous le nom de Malatox 50 où il est essentiellement utilisé comme insecticide foudroyant pour la lutte anti acridienne [46].

Le malathion est un pesticide qui est largement utilisé dans l'agriculture, l'aménagement paysager résidentiel, des aires de loisirs publiques, et dans les programmes publics de lutte contre les insectes tels que les moustiques. Aux États-Unis, il est l'insecticide organophosphoré le plus couramment utilisé [101]. Ses principales caractéristiques physico-chimiques sont présentées dans le Tableau 4.

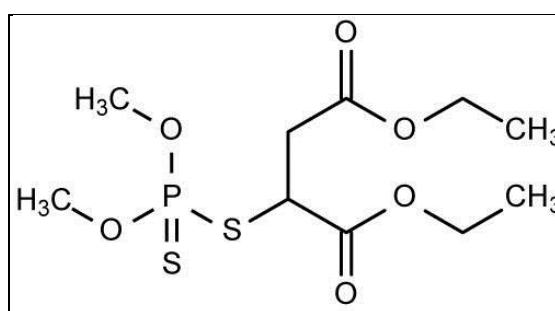


Figure 9: Structure chimique du malathion.

Tableau 4: Propriétés physico-chimiques du malathion [102 , 103 , 104].

ISO	Malathion
IUPAC	Phosphorodithioate de S-[1,2-bis(éthoxycarbonyl) éthyle] et de O,O-diméthyle
Numéro CAS	121 - 75 - 5
Formule moléculaire	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂
Poids moléculaire	330,36 g / mol
Couleur	liquide limpide , incolore (en fonction de la pureté)
Odeur	Caractéristique , désagréable
Densité	1,23 Kg/l à 20 °C
Stabilité	Reste stable pendant 3 ans conservé dans son emballage d'origine dans des conditions normales de température et d'humidité
Point d'ébullition	> 156 °C
Pression de vapeur	53 mPa(30°C)
Solubilité dans les solvants	Très solubles dans les solvants organiques
Solubilité dans l'acétone	> 99.5 % (matières insolubles < 0.5 %)
Solubilité dans l'eau	145 mg / L
Coefficient de partage (eau / octanol)	2.36 (20 °C)

3.2.2.Mode d'action

Le malathion est un neurotoxine. Il agit par contact, ingestion et inhalation sur de nombreux insectes piqueurs et suceurs ravageurs des cultures. Il attaque le système nerveux central (inhibition de l'acétylcholinestérase)[105].

3.2.3.Méthodes de traitement

3.2.3.1.Méthode physico-chimique

- *Dégradation thermique*

Le malathion a été étudié intensivement en laboratoire par rapport à sa rupture pyrolytique. Plusieurs chercheurs ont étudié la stabilité thermique du malathion et ont conclu que le chauffage dans un tube à essai à environ 132 °C donne lieu à la dégradation chimique et la production de SO₂[106]. D'autres ont déterminé que la destruction de malathion requiert une température > 371 °C [107].

- *Hydrolyse*

Le malathion est fixé modérément par le sol où il est fortement biodégradé et hydrolysé; on ne s'attend pas à ce qu'il soit lixivié jusqu'à la nappe phréatique. Le taux de disparition signalé après une semaine dans le sol va de 75 à 100 pour cent. Dans les milieux aquatiques, sa vitesse d'hydrolyse varie en fonction du pH; d'après les valeurs publiées, sa demi-vie va de 2 semaine à un pH de 8 à 21 semaines à un pH de 6,0[108 , 109] .

3.2.3.2.Méthode biologique

- *Biodégradation*

La dégradation microbienne est considérée comme un facteur majeur dans la détermination du devenir du malathion dans l'environnement. Elle joue un rôle important dans l'élimination du malathion des eaux naturelles. Dans l'eau, le malathion a tendance à se dégrader plus rapidement que les autres insecticides organophosphorés [110].

Plusieurs études ont examiné la dégradation du malathion par des microbes, et la plupart de ces études ont été réalisées en utilisant des cultures pures [111, 112, 113]. Il a été également rapporté que plusieurs isolats de bactéries et de champignons, obtenu

à partir du sol et des eaux usées, sont également capables de dégrader le malathion [114, 115].

L'hydrolyse du malathion conduit à une perte importante de sa toxicité [31]. Elle fait intervenir des enzymes comme les estérases, les phosphatases, les lyases et les carboxyestérases. Les pesticides qui contiennent des groupes esters, éthers, et amides peuvent être hydrolysés et donner généralement des métabolites moins toxiques [116]. La digestion enzymatique (ou clivage enzymatique) par hydrolyse du malathion est montrée sur la figure 10.

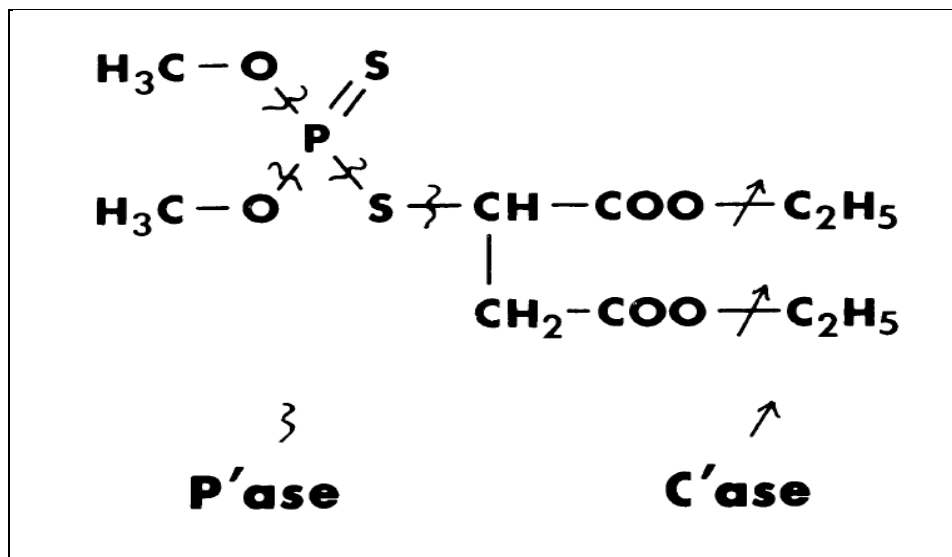


Figure 10 : Clivage enzymatique du malathion (P'ase: phosphatase ; C'ase: carboxyestérase) [117].

Partie expérimentale

4. Matériel et méthodes

4.1 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans le cadre de ce travail provient des prélèvements de boues activées utilisées de la station d'épuration de la ville de Kolea (SEAL de Kolea, Tipaza). La station est implantée dans la partie la plus basse de la ville, à proximité de l'Oued Mazafran. Elle s'étend sur un terrain d'une surface de 27000 m². Elle est conçue pour 60000 habitants qui correspond à la population totale de la ville.

Les boues activées ont été prélevées à partir de l'un des trois bassins d'aération de la station d'épuration d'un volume de 3200 m³, équipé de 4 turbines d'aération d'une puissance de 45 kW qui assurent l'oxygénation et le brassage de la liqueur mixte (Figure 11).



Figure 11 - Bassin d'aération de la station d'épuration de Kolea.

4.1.2. Entretien des boues activées

Avant l'entame des essais, nous avons entrepris l'entretien des boues activées prélevées. Cet entretien consiste en une alimentation régulière en oxygène et en nutriments visant à maintenir les microorganismes en vie. L'entretien a été réalisé

dans un bioréacteur de 4 litres et aéré contenant un milieu de culture dont la composition est détaillée dans le paragraphe ci-après. L'aération a été assurée par un diffuseur et l'incubation a été effectuée à température ambiante (25°C).

4.1.3..Composition du milieu de culture

La composition du milieu de culture ayant servi à l'entretien des boues activées a la composition suivante : glucose 2 g/L, KH_2PO_4 1g/L et l'urée 1 g/L. L'alimentation du bioréacteur avec ces éléments nutritifs est effectuée tous les trois jours avec ajustement du volume total avec de l'eau du robinet, si nécessaire.

4.2.Matériel non biologique

Les pesticides qui font l'objet de la présente étude (fénirothion et le malathion) nous ont été fournis par l'EPE ALPHYT SPA (Algérienne des Phytosanitaires) de Baraki, Alger. D'après la fiche technique du fournisseur (CIE EU REALISATION ANTIPARISITAIRES, CERA S.A.S - France), ces deux pesticides contiennent 95 % de matière active, fabriqués en décembre 2014 , et demeurent stables pendant 3 ans conservés dans leurs emballages d'origine et dans des conditions normales de température et d'humidité.

Les deux pesticides ont été conservés dans des flacons en verre, et mis au réfrigérateur.

4.3.Procédures d'adaptation des boues activées aux pesticides

Le but de cette procédure est de permettre aux microorganismes de s'adapter à leur nouvel environnement (présence de malathion ou fénirothion) en leur permettant de synthétiser ou de réactiver les enzymes nécessaires à la dégradation du pesticide. Ce processus a consisté en la culture des boues activées sur un milieu minéral contenant deux sources de carbone (glucose et malathion ou fénirothion).

Le milieu de culture utilisé pour la phase d'adaptation a la composition suivante :

Pour un litre d'eau distillée : K_2HPO_4 : 1,6g ; KH_2PO_4 : 0,4g ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,2g ; NaCl : 15g ; $CaCl_2$: 0,02g ; NH_4NO_3 : 3g ; Zn SO_4 : 0,01g ; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,05g ; $MnSO_4 \cdot H_2O$: 0,008g ; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$: 0,004 g ; $Co(NO_3)_2$: 0,0026g et le glucose : 3g. Le pH est ajusté à 7 avec des solutions de NaOH et de HCl. Le milieu minéral ainsi constitué est stérilisé par autoclavage à 121°C pendant 20 min.

L'acclimatation a été menée dans deux Erlenmayer de 250 mL (un pour le malathion et l'autre pour le fénitrothion) dans lesquels ont été introduits 5% (v/v) de boue activée (soit 12,5 ml), 10 mg de pesticide (dilué dans 2 ml de méthanol pur), et le reste du volume avec le milieu de culture.

Les Erlenmayersont été incubés dans un agitateur-incubateur orbital de marque Stuart (Orbital Incubator SI 500) à une température de 30°C et avec une vitesse d'agitation de 115 tr/min pendant 4 jours (Figure 12).



Figure 12 - Agitateur-incubateur orbital utilisé.

Afin de parvenir à isoler les souches microbiennes susceptibles de métaboliser les deux pesticides testés , différents milieux de culture liquides ont été préparés permettant la sélection de souches microbiennes susceptibles d'utiliser les pesticides testés comme :

- unique source de carbone ou bien comme unique source de phosphore pour le malathion ;

- unique source de carbone, unique source de phosphore ou comme unique source d'azote pour le fénitrothion.

Pour ce faire, cinq Erlenmeyers contenant cinq milieux de culture différents ont été préparés :

a) Sélection des souches utilisant le malathion comme source de carbone

Cet essai a consisté en la culture des microorganismes (boues activées) sur le milieu minéral cité précédemment contenant deux sources de carbone (glucose et malathion). La concentration du glucose a été réduite progressivement de 3000 mg/l jusqu'à la valeur de zéro parallèlement à l'augmentation progressive de la concentration du malathion (de 400 mg/l jusqu'à 2000 mg/l).

b) Sélection des souches utilisant le malathion comme source de phosphore

Dans cet essai le malathion a été substitué progressivement aux deux sources de phosphore du milieu minéral utilisé qui sont le KH_2PO_4 et le K_2HPO_4 . La concentration du KH_2PO_4 , K_2HPO_4 ont été réduites progressivement de 400mg/l et 800mg/l jusqu'à la valeur de 0 et ont été remplacés par une quantité équimolaire de KCl (de 780 mg/l jusqu'à 1570 mg/l). La concentration du malathion est passée de 320 mg/l à 600 mg/l.

c) Sélection des souches utilisant le fénitrothion comme source de carbone

La concentration du fénitrothion a passée de 400 mg/l à 2000 mg/l parallèlement à la réduction de la concentration du glucose de 3000 mg/l jusqu'à atteindre la valeur de zéro.

d) Sélection des souches utilisant le fénitrothion comme source de phosphore

La concentration du fénitrothion est passée de 320 mg/l jusqu'à 600 mg/l tandis que celles du KH_2PO_4 , et du K_2HPO_4 ont été réduites respectivement de 400mg/l et 800mg/l jusqu'à la valeur de 0 et ont été remplacés par une quantité équimolaire de KCl (de 780 mg/l jusqu'à 1570 mg/l).

e) Sélection des souches utilisant le fénitrothion comme source d'azote :

L'utilisation du fénitrothion comme unique source d'azote est valable uniquement pour le fénitrothion parce que le malathion ne contient pas d'atome d'azote dans sa structure chimique.

Le milieu minéral utilisé contient deux sources d'azote (NH_4NO_3 , $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$). La concentration du NH_4NO_3 , $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ont été réduites progressivement de 500 mg/l et 13 mg/l jusqu'à la valeur de 0 et ont été remplacés par une quantité équimolaire de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (de 16 mg/l jusqu'à 33 mg/l). La concentration du fénitrothion est passée de 320 mg/l à 600 mg/l.

L'ensemble des essais ont été incubés à une température de 30 °C et une vitesse de 115 tr/min pendant une durée de 22 jours.

4.4. Isolement et identification des microorganismes

Le but de cette partie du travail est d'isoler et d'identifier les souches microbiennes aptes à dégrader le malathion ou le fénitrothion et ceci en l'utilisant comme source de carbone, de phosphore ou d'azote pour le fénitrothion.

4.4.1. Isolement

L'isolement des souches microbiennes est effectué sur des milieux de culture synthétiques solides, et incubés à 37°C pendant 72 h. Ces milieux ont la même composition que les milieux liquides de la phase d'isolement mais additionnés d'agar noble à 2 % (p/v). Avant de procéder à leur identification, les différentes colonies mises en évidence dans chaque milieu sont ensuite repiquées individuellement sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées à 35 °C.

4.4.2. Identification

L'identification des souches bactériennes est basée sur des schémas d'identifications dichotomiques. Chaque colonie purifiée est prélevée et diluée dans 1 ml d'eau physiologique. A partir de cette suspension bactérienne dense, on procède aux tests

d'orientation (aspects des colonies, observation microscopique après coloration de Gram, recherche des enzymes de la chaîne respiratoire (oxydase, catalase) et au tests de confirmation (une série de tests biochimiques classiques effectués sur des galeries API20NE) pour l'identification définitive .

4.4.2.1. Coloration de Gram

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer. Son avantage est de donner une information rapide sur les bactéries présentes dans un produit ou un milieu tant sur le type que sur la forme.

Des frottis sont préparés à partir des souches pures cultivées en milieu solide. Les frottis sont colorés par la méthode de Gram, puis ils sont observés au microscope optique.

Les étapes de la coloration sont :

- Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute, puis rincez à l'eau.

- Mordançage au lugol (solution d'iodure de potassium iodée) : étalez le lugol et laissez agir le même temps que le violet de gentiane ; rincez à l'eau déminéralisée.

- Décoloration (rapide) à l'alcool (+ acétone) est l'étape la plus importante de la coloration : versez goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveillez la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincez abondamment avec de l'eau déminéralisée pour stopper la décoloration.

- Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Mettez de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de fuchsine. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute. Lavez doucement à l'eau déminéralisée. Séchez la lame sur une platine chauffante à 50°C.

Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).

La figure 13 ci-dessous montre les étapes de la coloration de gram.

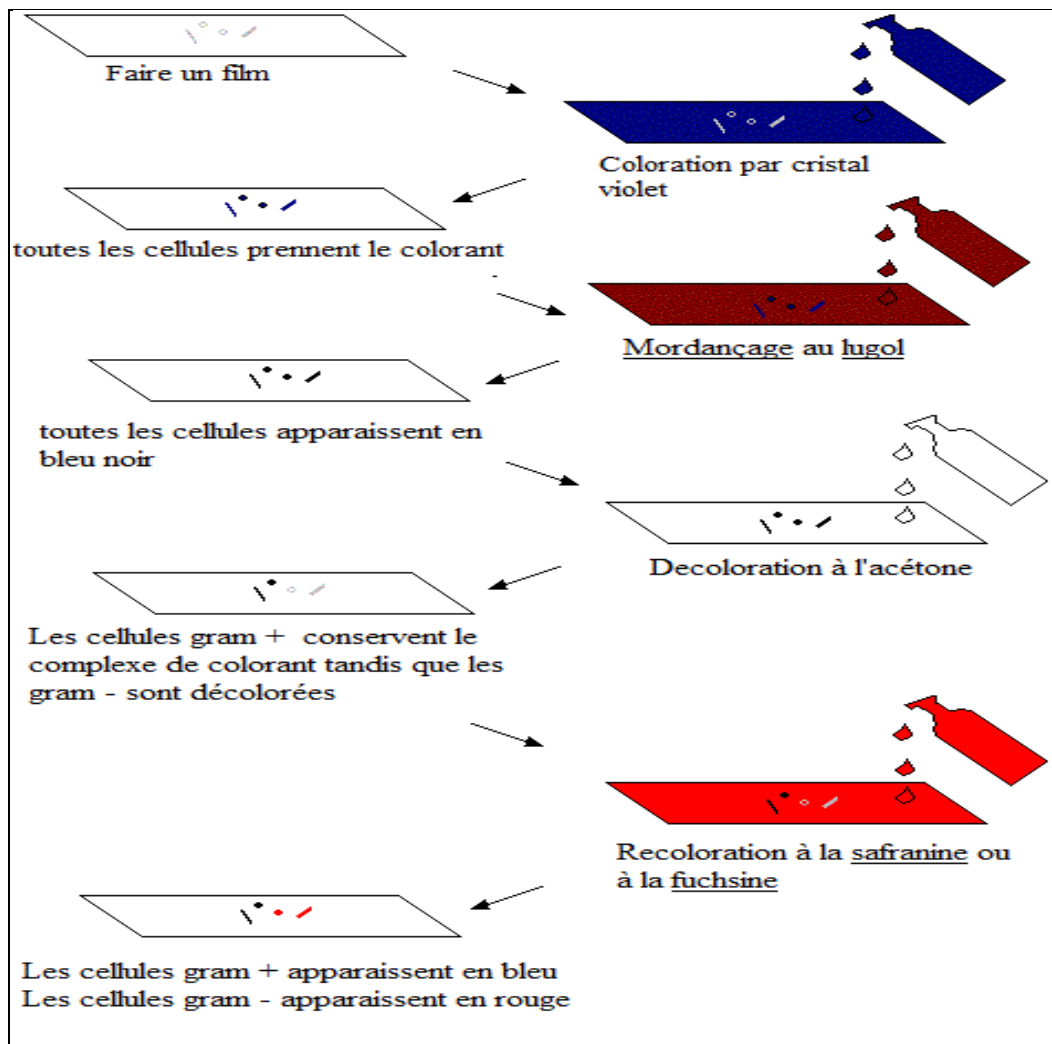


Figure 13 - Les étapes de la coloration de gram

4.4.2.2. Recherche de la catalase

Ce test est important pour la première orientation dans l'identification d'une souche pure bactérienne.

Le test classique consiste à mettre du matériel bactérien, prélevé par une anse métallique dans une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) déposée sur une lame de verre. La présence de catalase s'exprime aussitôt par un dégagement gazeux (O_2) aisément discernable. La figure 14 montre le mode opératoire du test de la catalase.

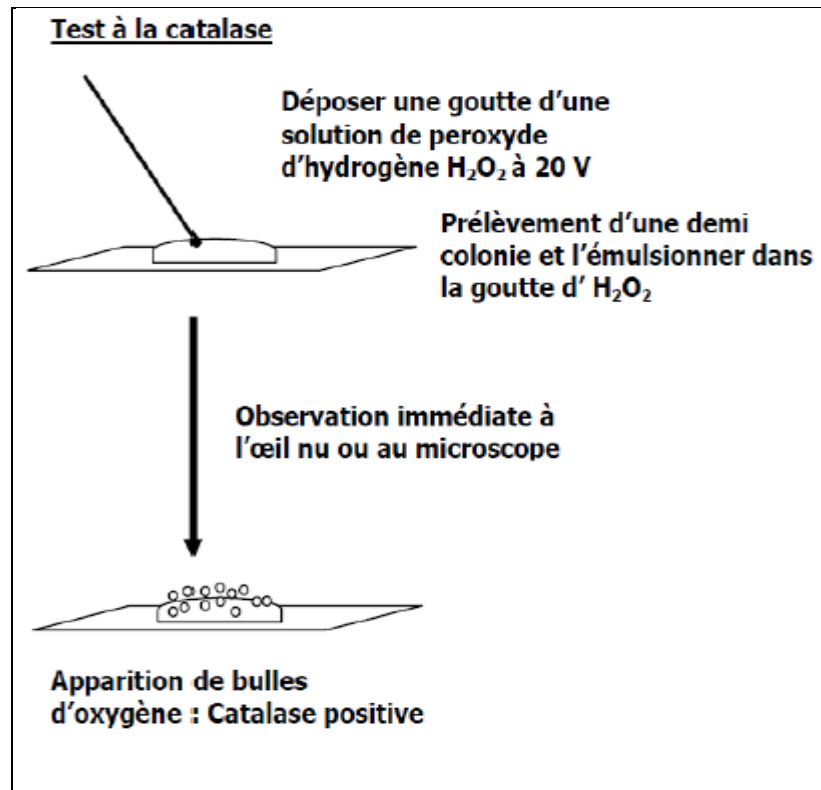


Figure 14 - Mode opératoire du test à la catalase

4.4.2.3. Recherche de l'oxydase

La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif.

Sur une lame de verre, on dépose un carré de papier buvard que l'on imbibe de substrat. On prélève des colonies avec une pipette pasteur boutonnée avec laquelle on les écrase sur la lame de verre.

4.4.2.4. La méthode d'identification par la galerie API20NE

- Principe

La galerie API 20 NE se compose de 20 micro-tubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée. Il permet l'identification des bacilles gram (-) non entérobactéries par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés. Il y a une partie pour l'auxanogramme et une autre pour le zymogramme (les bactéries

cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant). Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs[118 , 119].

- Technique

Préparation de la galerie

- Répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire les références de la souche bactérienne sur la languette latérale de la boîte
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85% ou dans un tube d'eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l'étalon 0,5 Mcfarland.

Inoculation de la galerie

- Remplir uniquement les tubes des tests (et non les cupules) NO₃ à PNPG avec la suspension bactérienne.
- Eviter la formation de bulles.
- Créer une anaérobiose dans les tests GLU, ADH, URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Transférer 200 µl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente, dans une ampoule AUX Medium.
- Homogénéiser.
- Remplir les micro-cupules des tests GLU à PAC.
- Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 37° C pendant 24 heures.

Lecture

Après incubation, la lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un tableau de lecture

Identification

Avec le catalogue analytique :Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification[118 , 119].

5. Résultats et discussion

5.1. Résultats de l'ensemencement sur les différents milieux sélectifs

Différents milieux de culture liquides ont été préparés permettant la sélection de souches microbiennes susceptibles d'utiliser les pesticides testés comme :

- unique source de carbone ou bien comme unique source de phosphore pour le malathion ;
- unique source de carbone, unique source de phosphore ou comme unique source d'azote pour le fénitrothion.

L'isolement des souches microbiennes est effectué sur des milieux de culture synthétiques solides, et incubés à 37°C pendant 72 h .

Avant de procéder à leur identification, les différentes colonies mises en évidence dans chaque milieu sont ensuite repiquées individuellement sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées à 35 °C.

Les résultats de l'ensemencement sur les différents milieux sélectifs préparés sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau 5). Il est à relever que l'apparition des colonies sur les différentes boîtes de Pétri n'a été observée qu'après 72 h d'incubation:

Tableau 5 : Résultats de l'ensemencement sur les différents milieux sélectifs.

Milieux sélectifs	Croissance bactérienne
FC (fénitrothion testé comme unique source de carbone)	-
FC_{méth} (fénitrothion solubilisé dans du méthanol et testé comme unique source de carbone)	+
FP (fénitrothion testé comme unique source de phosphore)	-
FP_{méth} (fénitrothion solubilisé dans du méthanol et testé comme unique source de phosphore)	+
FA (fénitrothion testé comme unique source d'azote)	-
FA_{méth} (fénitrothion solubilisé dans du méthanol et testé comme unique source d'azote)	+

MC (malathion testé comme unique source de carbone)	-
MC_{méth} (malathion solubilisé dans du méthanol et testé comme unique source de carbone)	+
MP (malathion testé comme unique source de phosphore)	-
MP_{méth} (malathion solubilisé dans du méthanol et testé comme unique source de phosphore)	-
Méth (méthanol testé comme unique source de carbone)	+

(- : absence de croissance, + : croissance)

5.2. Isolement et identification des souches bactériennes mises en évidence dans les différents milieux sélectifs

5.2.1. Isolement et purification

Avant d'entreprendre les tests d'identification, l'ensemble des souches bactériennes détectées sur les différents milieux sélectifs ont été purifiées par ensemencement sur gélose nutritive .

5.2.2. Identification

5.2.2.1. Etude morphologique des colonies détectées

Le tableau 6 montre la morphologie de chacune des cinq colonies détectées :

Tableau 6 - Morphologie des colonies bactériennes détectées

Colonie	Forme	Aspect	Couleur
MC1_{méth}	Irrégulière, élevée , bord ondulé	Visqueuse	Brun jaunâtre
MC2_{méth}	Circulaire , convexe , bord ondulé	Sèche , ridé	Chamois à brun
FC_{méth}	Irrégulière, élevée , bord ondulé	Visqueuse , lisse	Brun jaunâtre

FP_{méth}	Punctiforme , convexe , bord régulier	Sèche , brillante	Marron jaunâtre
FA_{méth}	Irrégulière, élevée , bord ondulé	Visqueuse , lisse	Brun jaunâtre

L'observation microscopique à l'état frais des souches bactériennes isolées montre que toutes les souches sont des bacilles.

Il est à noter que la souche mise en évidence sur le milieu FP_{méth} s'est révélée non revivifiable et donc non identifiable. Il s'agit d'une souche bactérienne viable non cultivables qui présente une intégrité structurale et/ou des activités métaboliques détectables, mais qui ne se développe pas sur milieu nutritif.

5.2.2.2. Etude biochimique

- **Coloration de Gram**

L'observation microscopique après la coloration de Gram révèle que toutes les souches isolées, sont à Gram négatif.

- **Recherche des enzymes de la chaîne respiratoire**

Recherche de la catalase

Un dégagement gazeux est observé dès l'étalement des suspensions bactériennes dans le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce résultat indique donc que toutes les souches bactériennes isolées sont catalase positive indiquant leur appartenance au groupe des bacilles Gram négatif aérobies.

Recherche de l'oxydase

Le résultat de ce test indique l'apparition d'une coloration violette pour la souche isolée sur le milieu sélectif MC2_{méth}(figure 15).Le test est donc positif pour la souche considérée ce qui permet d'orienter la recherche vers le genre *Pseudomonas*.

Pour les souches isolées sur les milieux $MC1_{\text{méth}}$, $FC_{\text{méth}}$, et $FA_{\text{méth}}$, les résultats du test montrent une absence de réaction indiquant que ces trois souches ne possèdent pas la oxydase.

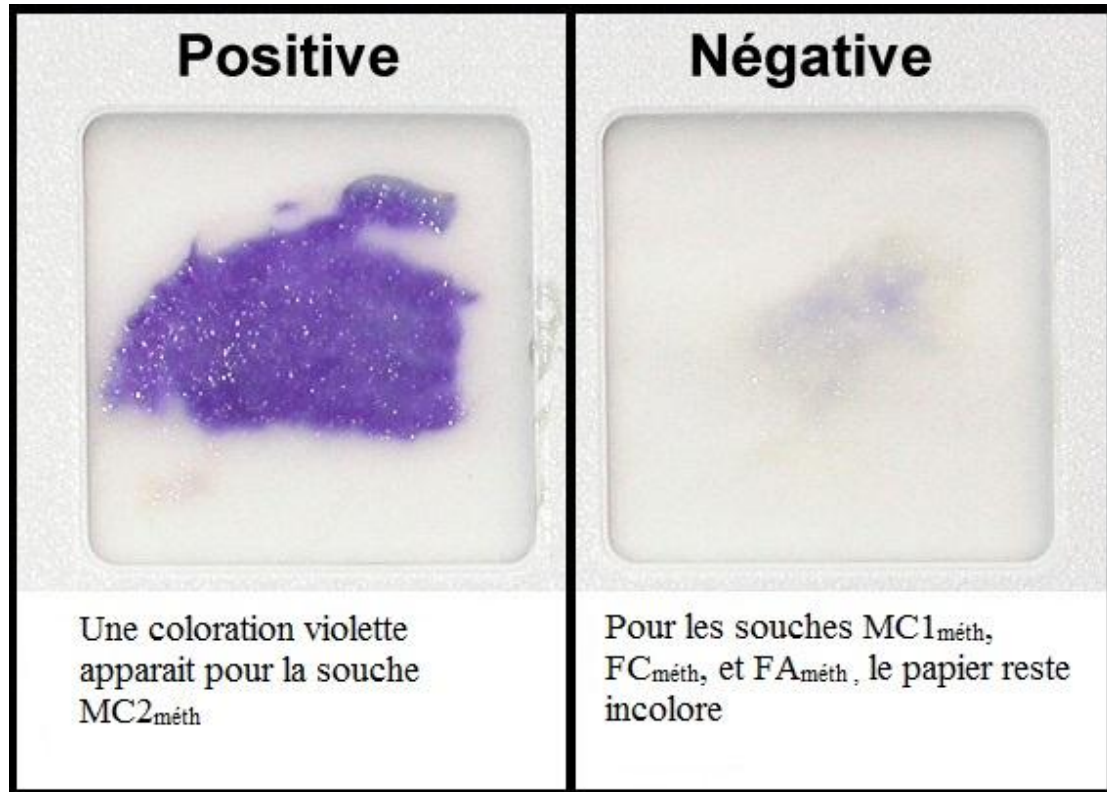


Figure 15- Résultats du test de l'oxydase.

- **Tests d'identification par galerie API 20 NE :**

Les résultats des tests effectués avec les galeries API20NE sont montrés dans le tableau 7 ci-dessous :

Tableau 7 :Les caractères biochimiques des différentes souches obtenus avec les galeries API 20NE.

	MC1_{méth}	MC2_{méth}	FC_{méth}	FA_{méth}
Nitrate réductase	-	+	-	-
Tryptophane	-	-	-	-
Glucose	-	-	-	-
ADH	-	-	-	-
Urée	+	+	+	-
Esculine	+	-	+	+
Gelatinase	+	-	+	+
PNPG	+	-	+	+
Glucose	+	+	+	+
Arabinose	-	-	-	-
Mannose	+	-	+	+
Mannitol	-	+	-	-
N-acetyl glucosamine	+	-	+	+
Maltose	+	+	+	+
Potassium gluconate	-	+	-	-
Acide caprique	-	+	-	+
Acide adipique	-	-	-	-
Acide malique	+	+	+	+
Citrate	+	+	+	+
Acide phenyl acétique	-	-	-	-
Oxydase	-	+	-	-

Les résultats finaux de l'identification des souches isolées sont montrés dans le tableau 8 ci-dessous:

Tableau 8 :Résultats de l'identification des souches isolées.

Souches	Résultats d'identification
MC1 _{méth}	<i>Stenotrophomonasmaltophilia</i>
MC2 _{méth}	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
FC _{méth}	<i>Stenotrophomonasmaltophilia</i>
FP _{méth}	Souche non revivifiable
FA _{méth}	<i>Stenotrophomonasmaltophilia</i>

5.3.Discussion des résultats obtenus

Dans cette étude, nous sommes parvenus à isoler deux espèces bactériennes (*Stenotrophomona smaltophilia* et *Pseudomonas stutzeri*) pouvant métaboliser et donc dégrader le malathion en l'utilisant comme unique source de carbone au cours de leur croissance. Ceci suggère que ces microorganismes possèdent les enzymes nécessaires à la production des sous-produits de dégradation du pesticide pouvant être intégrés dans les voies métaboliques classiques.

Selon plusieurs études rapportées dans la littérature, de nombreuses souches du genre *Pseudomonas* ont été décrites comme étant capables de métaboliser le malathion et de l'utiliser comme source de carbone et d'énergie [120, 121, 122, 123, 124].Ainsi, dans une étude rapportée par (Ahmed Azmy et al , 2015) [125],des souches bactériennes issues de boues activées et capables de dégrader le malathion ont été isolées par une technique de culture d'enrichissement. Deux de ces trois souches bactériennes isolées sont du genre *Pseudomonas* (*Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas mendocina*).

Les espèces du genre *Pseudomonas* ont un potentiel de dégradation très élevé et sont considérées, à cet égard, comme l'une des espèces bactériennes les plus efficaces dans la biodégradation des organophosphorés [123].

Ce genre est capable de dégrader une large variété de polluants. Il pourrait donc être un outil très important de biodégradation. Néanmoins, le genre est aussi connu par son caractère pathogène [126].

Les études disponibles dans la littérature, traitant de la biodégradation des organophosphorés par les espèces du genre *Stenotrophomonas* sont peu nombreuses[127]. A titre d'exemple, (Shen et al, 2010) [128] a rapporté la biodégradation complète du méthyl-parathion et de l'éthyl-parathion, par la souche *Stenotrophomonas sp. SMSP-1*. On notera cependant l'absence, dans la littérature, d'études portant sur la biodégradation du malathion par le genre *Stenotrophomonas*.

La biodégradation du malathion ne se limite pas à ces deux genres bactériens. Des souches bactériennes appartenant à d'autres genres dont *Bacillus* et *Acinetobacter*, jouent aussi un rôle important dans l'élimination du malathion [125, 129, 130, 131]. Ainsi, il a été rapporté que l'espèce *Acinetobacter baumannii* était efficace dans la dégradation du malathion. En effet, l'espèce est capable de croître sur milieu minéral additionné de malathion à 100 mg/l utilisé comme seule source de carbone, et permet un taux de dégradation du pesticide de 84%, et ce, au bout de 14 jours de culture[125].

Dans la présente étude, il n'a pas été possible d'isoler des souches pouvant utiliser le malathion comme unique source de phosphore. Ceci suggère que les boues activées testées, ne renfermeraient pas de souches susceptibles d'avoir les enzymes requises pour libérer les atomes de phosphore contenus dans la molécule du malathion. L'autre raison serait en rapport avec la durée de l'étape de sélection, qui serait insuffisante pour permettre la sélection par mutations ou par réactivation des gènes des phosphoestérases préexistants, de telles souches. Or, plusieurs études indiquent que les microorganismes des boues activées sont en mesure d'utiliser le malathion comme seule source de phosphore[88]. Ainsi on a rapporté dans une étude, l'utilisation du malathion par *Aulosira fertilissima* ARM 68 comme seule source de phosphore[132]. Une équipe de scientifiques (Ibrahim et al, 2014) [133], est parvenue à isoler trois souches de cyanobactéries filamenteuses susceptibles de dégrader le malathion. Parmi ces souches, *Nostoc muscorum* a été identifiée comme étant la souche la plus performante en termes de biodégradation du pesticide (91%). Les souches d'algues ont été cultivées dans des conditions de limitation de phosphore, et ce, en absence et en présence de malathion. Les résultats ont montré une croissance massive des cellules en présence de malathion.

Dans la présente étude, les résultats obtenus indiquent clairement que *Stenotrophomonas maltophilia* est en mesure d'utiliser le fénitrothion comme seule source de carbone, ou d'azote au cours de leur croissance. Ceci suggère que ces microorganismes possèdent les enzymes nécessaires pour arracher les atomes de carbone ou d'azote du pesticide et de les métaboliser.

Il y a très peu d'informations disponibles dans la littérature concernant la dégradation du fenitrothion par le genre *Stenotrophomonas*. Une étude a rapporté que le fenitrothion peut être complètement dégradé par une souche dénommée *Stenotrophomonas* sp. *SMSP-1* [128], tandis que l'espèce *Stenotrophomonas* sp. *YC-1* s'est révélée capable de dégrader le fénitrothion en l'utilisant comme unique source de carbone ou de phosphore [134], cependant la biodégradation du fénitrothion par *Stenotrophomonas maltophilia* n'a jamais été rapportée dans la littérature. Le résultat obtenu dans notre étude peut être donc considéré comme étant un résultat original qui mérite de plus amples investigations.

Conclusion
et
perspectives

L'utilisation intensive et parfois abusive des pesticides dans l'agriculture moderne pose de sérieux problèmes pour l'environnement et pour la santé en général. Le contrôle de la pollution générée par ces composés ainsi que leur élimination deviennent donc impératifs. Il est par conséquent important de porter un intérêt tout particulier à leur capacité à être dégradé ainsi qu'aux voies de cette dégradation.

Notre travail avait pour objectifs, la sélection et l'identification de souches microbiennes contenues dans des boues activées, prélevées à la station d'épuration de Koléa, capables de métaboliser le malathion et le fénitrothion.

Les résultats obtenus dans le cadre de ce travail nous ont permis de sélectionner deux souches bactériennes (*Stenotrophomonas maltophilia* et *Pseudomonas stutzeri*) capables de métaboliser le malathion en l'utilisant comme seule source de carbone. Par ailleurs, le fénitrothion s'est révélé être utilisé comme seule source de carbone et seule source d'azote par deux souches appartenant à l'espèce *Stenotrophomonas maltophilia*.

Les résultats obtenues indiquent l'implication de ces souches sélectionnées dans la biodégradation du fénitrothion et du malathion et donc la possibilité de leur utilisation dans le domaine de la bioremédiation. De même qu'il ne faut pas écarter la possibilité que ces souches puissent adéquatement dégrader d'autres polluants organiques à rémanence élevée dans l'environnement.

En guise de perspectives, il peut être envisagé l'étude de plusieurs aspects liés à ce travail comme par exemple :

- L'identification des métabolites intermédiaires et terminaux issus du métabolisme du fénitrothion et du malathion ;
- L'identification encore plus poussée des souches sélectionnées par séquençage du gène de l'ARN_r 16s.
- L'extraction et la caractérisation des enzymes impliquées dans l'hydrolyse des deux pesticides.
- L'étude approfondie d'un éventuel effet d'inhibition qui serait exercé par les deux pesticides testés à l'égard des souches sélectionnées.

-L'étude des performances des souches sélectionnées en termes de dégradation des deux pesticides testés, et ce, en présence de divers substrats additionnels (simples et complexes).

Références bibliographiques

- [1] Ahmad Rifai .2013. Etude de la dégradation par photolyse directe de pesticides
Caractérisation structurale et toxicité potentielle des photoproduits. Analytical
chemistry. Ecole Polytechnique X, France.
- [2] Malika Nait Atmane.2011.Elimination du malathion par électrocoagulation
monopolaire et bipolaire.Ecole Nationale Polytechnique . 94p .
- [3] Martín-Gullón I. and Font R., 2001, « Dynamic pesticide removal with activated
carbon fibers » Wat. Res., 35:516-520 pp.
- [4] Bourguine F., Chapman J., Martin S. 1997. « Traitement des pesticides par
photolyse UV »,TSM l'eau, n°7-8, juillet-août, pp.23-27.
- [5] Acero J.L., Stemmler K., and von Gunten U., 2000. Degradation kinetics of
atrazine and its degradation products with ozone and OH radicals: a predictive tool for
drinking water treatment. Environ. Sci.Technol., 34:591-597 pp.
- [6] Dictionnaire Larousse 2015.
<http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/pollution/62217> [consulté le 06 mars
2015] .
- [7] Hogan, C. 2014. Water pollution. <http://www.eoearth.org/view/article/156920>
[consulté le 06 mars 2015] .
- [8] Kenneth M. Vigil . 2003 .Clean Water, 2nd ed: An Introduction to Water Quality
and Water Pollution Control. Oregon State University Press Corvallis.192 p.
- [9] A. Gupta, D. K. Rai, R. S. Pandey and B. Sharma,2009, “Analysis of some Heavy
Metals in Riverine Water, Sediments and Fish from River Ganges at Allahabad,”
Environmental Monitoring and Assessment, Vol 15 , pp. 449-458 .
- [10] J. L. Cook, P. Baumann, J. A. Jackman and D. Stevenson, “Pesticides
Characteristics that Affect Water Quality”. College Station, TX : Texas Agricultural
Extension Service, Texas A & M University.
<https://insects.tamu.edu/extension/bulletins/b-6050.html> [consulté le 06 Mars 2015]
- [11] Clean Water Act, Section 502, General Definitions (14).
<http://www.epa.gov/wetlands/regs/sec502.html>

[12] Grosclaude G. C. .1999.L'eau ,Tome 2 ,usage et polluants ,Institut national de la recherche agronomique. Paris ,France .210p.

[13] Conrad J.E., Colvin C., Sililo E., Gorgens A., Weaver J.,Reinhardt C. . 1999 . Assessment of the Impact of Agricultural Practices of Groundwater Resources in South Africa. Water Research Commission , Pretoria, South Africa. Report 641/1/99 . 86p .

[14] S. O. Igbedioh,1991. “Effects of Agricultural Pesticides on Humans, Animals and Higher Plants in Developing Countries,” Archives of Environmental Health, vol. 46, pp. 218-223.

[15] Charles A, Pigott. 2002. China in the world economy: the domestic policy challenges. Organisation for Economic Co-operation and Development. 813 p.

[16] P. H. Daniel, “Investing in Tomorrow’s Liquid Gold,” 19 April 2006. <http://www.wallstreetbear.com/board/view.php?topic=37253&post=121203> .

[consulté le 27 Fevrier 2015]

[17] Delaplane K. S. , 2000 , Pesticide Usage in the United States: History, Benefits, Risks, and Trends. The University of Georgia Cooperative Extension Service, Bulletin 1121 , The University of Georgia, Athens , USA , 8 .

[18] Carson R., 1962. Silent Spring. Houghton Mifflin, Boston , USA , 368 p.

[19] J. Coats , 2010 , New Insecticide Modes of Action: Whence Selectivity , Iowa State University, Ames, Iowa, USA .

[20] V. Morton and T. Staub , 2008, A Short History of Fungicides, , APSnet.

[21] CropLife Canada , 2002, A History of Crop Protection and Pest Control in our Society;

[22] Minir Murati.2012. Etude d'élimination de trois herbicides : Atrazine, Sulcotrione et Mesotrione, en milieu aqueux par les procédés électrochimiques d'oxydation avancée. Environmental Engineering. Université de Marne la Vallée

- [23] Harold I Zelig ,2011. Pesticides Human Toxicology of Chemical Mixtures. Second Edition , 576 p .
- [24] M. Idrissi, N. Aït Daoud, R. Soulaymani Bencheikh, Pesticides : définition et classification, Toxicologie Maroc - N° 4 - 1er trimestre 2010 , pp. 3-4.
- [25] Loi n° 87-17 du 1er août 1987 relative à la protection phytosanitaire (JORA N° 32 du 05-08-1987) .
- [26] Sayen S. Guillon E. , Transfert des produits phytosanitaires : du sol à l'eau , Techniques de l'ingénieur , 2010.
- [27] W.M.A. Niessen. Group-specific fragmentation of pesticides and related compounds in liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A. 2009, 1217, 25, 4061.
- [28] Kellogg RL, Nehring R, Grube A, Goss DW, and Plotkin S (2000)."Environmental indicators of pesticide leaching and runoff from farm fields". United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service.
- [29] Latijnhouwers M, de Wit PJ, Govers F , 2003 , Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants. Trends in Microbiology .Volume 11 462-469
- [30] H.F. van Emden, David B. Peakall . 1996 . Beyond Silent Spring: Integrated Pest Management And Chemical Safety ,Springer Netherlands, 320 pages .
- [31] Calvet, R.; Barriuso, E.; Bedos, C.; Benoit, P.; Charnay, M.P. & Coquet, Y. (2005). Les pesticides dans les sols. Conséquences agronomiques et environnementales (Editions France Agricole), Dunod, ISBN 2-85557-119-7, Paris, 637 p .
- [32] 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. Université de Toulouse. 13 : 249 p.

- [33] Ghosh, P.G.; Sawant, N.A.; Patil S.N.; Aglave, B.A. (2010). Microbial Biodegradation of Organophosphate Pesticides, International Journal of Biotechnology and Biochemistry, Vol.6, No.6, pp.871-876, ISSN 0973-2691.
- [34] Oga, S. toxicology Fundamentals, 2nd ed., Atheneu Publisher, São Paulo, 2003. 474 p .
- [35] Griza, F.T .; Ortiz, K.S .; Jeremiah, G; Thiesen, F.V. (2008). Evaluation of contamination Organophosphates in Surface Water in the City of Rondinha- Rio Grande do Sul, New Chemistry, vol.31, No.7, pp.1631-1635, ISSN 0100-4042.
- [36] K. El Mrabet. Les pesticides. Rapport de Laboratoire National De Metrologie et D'essai - Paris. 2008.
- [37] Y. Pico, C. Blasco, G. Font. Environmental and food applications of LC-tandem mass spectrometry in pesticide-residue analysis: An overview. Mass Spectrom. Rev. 2004. 23, 1, 45.
- [38] A. Fait, B. Iversen, M. Tiramani, S. Visentin, M. Maroni. Prevention des risques pour la santé liés à l'utilisation des pesticides dans l'agriculture. Fengsheng HeEditor, Occupational Medicine, Chinese Academy of Preventive Medicine. 2004.
- [39] Farah J. Pesticide policies in developing countries: do they encourage excessive pesticide use? Washington: World Bank; 1961.
- [40] M. ERRAMI , 2012 , Thèse Doctorat , Devenir atmosphérique et dégradation électrochimique de bupirimate, transfert de ses métabolites dans l'atmosphère, Université Ibn Zohr d'Agadir (Maroc) & Université de Reims Champagne- Ardenne (France) , 230 p .
- [41] Downie, D. (2003). "Global POPs Policy: The 2001 Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants", in D. Downie and T. Fenge (ed.) Northern Lights against POPs: Combating Toxic Threats in the Arctic, Montreal: McGill-Queens University Press.

- [42] Kohler, P. and Ashton, M. (2010.) "Paying for POPs: Negotiating the Implementation of the Stockholm Convention in Developing Countries", *International Negotiation*, 15: 459–484.
- [43] J. Bétaille (2010), *Le droit français de la participation du public face à la convention d'Aarhus ; Actualité juridique droit administratif*, 2010.
- [44] Rodenhoff, Vera (2003). "The Aarhus convention and its implications for the 'Institutions' of the European Community". *Review of European Community and International Environmental Law* 11 (3): 343–357.
- [45] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N 09. 18 Safar 1431 . 3 février 2010 .
- [46] Site officiel Algérienne des Phytosanitaires (EPE ALPHYT SPA) <http://www.alphyt.com> [consulté le 17 mai 2015].
- [47] Bassil KL, Vakil C, Sanborn M, Cole DC, Kaur JS, Kerr KJ (2007). "Cancer health effects of pesticides: systematic review". *Can Fam Physician* 53 (10): 1704–11.
- [48] Sanborn M, Kerr KJ, Sanin LH, Cole DC, Bassil KL, Vakil C (2007). "Non-cancer health effects of pesticides: systematic review and implications for family doctors". *Can Fam Physician* 53 (10): 1712–20.
- [49] Jurewicz J, Hanke W (2008). "Prenatal and childhood exposure to pesticides and neurobehavioral development: review of epidemiological studies". *Int J Occup Med Environ Health* 21 (2): 121–32.
- [50] Capkin, E., I. Altinok and S. Karahan, 2006. Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere*. vol 64 : 1793 - 1800 .
- [51] P.J. Van den Brink, J. Hattink, F. Bransen, E. Van Donk, T.C.M. Brock . (2000). Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. II. Zooplankton, primary producers and final conclusions .*Aquatic Toxicology* vol 48 (2) : 251-264.
- [52] Gilden RC, Huffling K, Sattler B (2010). "Pesticides and health risks". *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 39 (1): 103–10.

- [53] George Tyler Miller (2004). *Sustaining the Earth: An Integrated Approach*. Thomson/Brooks/Cole. pp. 211–216.
- [54] Damalas, C. A.; Eleftherohorinos, I. G. (2011). "Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators". *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8 (12): 1402–19.
- [55] E.BARRIUSO, R. CALVET, M. SCHIAVON et G. SOULAS .(1996).Les pesticides et les polluants organiques des sols Transformations et dissipation. Etude Gestion Sols . Vol 3 : 279-296.
- [56] Robert F. Carsel, Lee A. Mulkey, Matthew N. Lorber and Leland B. Baskin.(1985).The Pesticide Root Zone Model (PRZM): A procedure for evaluating pesticide leaching threat to groundwater, *Ecological Modelling*, 30 : 49-69.
- [57] Gril J. J . , Gouy V . , Carluet C . , 1998 , Processus de transfert des pesticides par ruissellement , Document de la Societé Hydrotechnique de France . 380 p .
- [58] Hélène Blanchoud.2011. Les pesticides dans les bassin versant de la Seine. Programme Interdisciplinaire de Recherche sur l'Environnement de la Seine. France . 67p.
- [59] Calvet, R. (1989). Adsorption of organic chemicals in soils. *Environmental Health Perspectives*, Vol.83, pp.145-177
- [60] Mamy, L. & Barriuso, E. (2007). Desorption and time-dependent sorption of herbicides in soils. *European Journal of Soil Science*, Vol.58, No.1, pp.174-187
- [61] Celis, R.; Barriuso, E. & Houot, S. (1998). Effect of sewage sludge addition on atrazine sorption and desorption by soil. *Chemosphere*, Vol.37, No.6, pp.1091-1107
- [62] N. Y. Sreedhar, M. Sunil Kumar, K. Krishnaveni .(2015).Enhanced electrocatalytic determination of fenitrothion at graphene and silver–zirconia nanosensor.*Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* . Springer Vienna.
- [63] Fenner, K.; Canonica, S.; Wackett, L. P.; Elsner, M. (2013). "Evaluating Pesticide Degradation in the Environment: Blind Spots and Emerging Opportunities". *Science* 341 (6147): 752.

- [64] CORPEN (1995) : Protection des cultures et prévention des risques de pollution des eaux par les produits phytosanitaires utilisés en agriculture: Recommandations générales , Ministère de l'agriculture et de la pêche et de l'environnement , France , 90 p.
- [65] Scheunert I. . 1992. Transformation and degradation of pesticides in soil. Springer - Verlag .Berlin . 125 p .
- [66] Arias-Esével M., Lopez-Periago E., Martinez-Carballo E., Merut J. et Garcia-Rio L., 2008- The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. Agriculture, Ecosystems and Environment, Vol. 123, p 247-260.
- [67] Bérard A. et Pelte T., 1999- Les herbicides inhibiteurs du photo-système II, effet sur les communautés algales et leur dynamique. Revue des sciences de l'eau, Cedex, France, p 333-361.
- [68] Fdil F., Aaron J. et Oturan N., 2003- Dégradation photochimique des herbicides chlorophénoxyalcanoïques en milieux aqueux. Revue des sciences de l'eau, Vol. 16, N°1, p 123-142.
- [69] Spark K. et Swift R., 2002- Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. Journal of Science Total Environment, Vol. 298, p 147-161.
- [70] Jokanovic M. 2009. Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. Toxicology letters. vol 190(2) : 107-115.
- [71] Regnault-Roger C., Philogène B.J.R et Vincent Ch., 2005, Biopesticides d'origine végétale. Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p 465.
- [72] IUPAC Glossary of Terms Used in Toxicology, 2nd edition <http://sis.nlm.nih.gov/enviro/iupacglossary/glossaryb.html> (consulté le 01 avril 2015)
- [73] Qiu X, Zhong Q, Li M, Bai W, Li, B. , 2007 , Biodegradation of p-nitrophenol by methyl parathion- degrading Ochrobactrum sp. B2. International Biodeterioration and Biodegradation ; vol 59 : 297-301.

- [74] Araya M, Lakhi A. , 2004 , Response to consecutive nematicide applications using the same product in mussa AAAcv. Grande naine originated from in vitro propagative material and cultivated in virgin soil. *Nematologia Brasileira* ; vol 28(1): 55-61.
- [75] Singh BK, Walker A. , 2006 , Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol. Rev.*; Vol 30 (3): 428–471.
- [76] Aislabe J, Lloyd-Jones G. A review of bacterial-degradation of pesticides. *Australian Journal of Soil Research* 1995;Vol 33(6); 925-942.
- [77] Iranzo M, Sain-Pardo I, Boluda R, Sanchez J, Mormeneo S. The use of microorganisms in environmental remediation. *Annals Microbiol* ,2001; Vol 51: 135-143.
- [78] Vischetti C, Casucci C, Perucci P. Relationship between changes of soil microbial biomass content and imazamox and benfluralin degradation. Springer Verlag, 2002.
- [79] Jeon, C. O., E. L. Madsen. 2013. In situ microbial metabolism of aromatic-hydrocarbon environmental pollutants. *Current Opinion in Biotechnology* . vol 24:474–481.
- [80] Abo-Amer AE.2012. Characterization of a strain of *Pseudomonas putida* isolated from agricultural soil that degrades cadusafos (an organophosphorus pesticide). *World J Microbiol Biotechnol*. Vol; 28: 805-814.
- [81] Vazquez M, Reyes . 2002 . Degradation of Aroclor 1242 by *Pseudomonas* sp. National Library of Peru, Peru.
- [82] Mandelbaum, R. T., Wackett, L. P., and Allan, D. L., 1993, Mineralization of the s-triazine ring of atrazine by stable bacterial mixed cultures, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol 59; 1695–1701.
- [83] Mandelbaum, R. T., Wackett, L. P., and Allan, D. L., 1995. Isolation and characterization of a *Pseudomonas* sp. that mineralizes the striazine herbicide atrazine. *Appl. Environ. Microbiol*. Vol 61:1451–1457.

- [84] Bordjiba O, Steiman R, Kadri M, Semadi A, Guiraud P. 2001 . Removal of herbicides from liquid media by fungi isolated from a contaminated soil. *Journal of Environmental Quality*, Vol 30(2): 418-426.
- [85] G.M. Serdar , Strategies for National Competitiveness” "BIOTECHNOLOGY" N°7; pp.1151-1155.1989.
- [86] Briceño G, Palma G, Duran N. , 2007 . Influence of Organic Amendment on the Biodegradation and Movement of Pesticides. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* ; Vol 37: 233-271.
- [87] Diez MC.2010. Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants *J. Soil. Sci. Plant. Nutr.* Vol 10(3): 244–267.
- [88] Tazdait D., 2014, Thèse de doctorat, Traitement d'un pesticide par voie biologique, Ecole Nationale Polytechnique (Alger), 147 p.
- [89] Bass C, Field LM.,2011, Gene amplification and insecticide resistance. *Pest Management Science.*Vol 67 (8): 886–890.
- [90] Scott C, Pandey G, Hartley CJ, Jackson CJ, Cheesman MJ, Taylor MC., Pandey R,Khurana JL., Teese M, Coppin CW, Weir KM, Jain RK., Lal R, Russell RJ, Oakeshott JG.2008 .The enzymatic basis for pesticide bioremediation. *Indian J. Microbiol.* Vol 48: 65-79.
- [91] Van Eerd L. L., Hoagland R. E., Zablotowicz R. M., & Hall J. C. (2003). Pesticide metabolism in plants and microorganisms. *Weed Science*. 51, (4) 472–495.
- [92] Meister, R. T. 1994. *Farm Chemicals Handbook..* Meister Publishing Co. Willoughby, OH.
- [93] Worthing, C. R. (ed.) 1987. *The Pesticide Manual: A World Compendium.* Eighth edition. Published by The British Crop Protection Council.
- [94] DREAL Réunion, 2006 , 1er bilan sur les impacts des traitements anti-moustiques, dans le cadre de la lutte contre le Chikungunya, sur les espèces et les milieux de l'Île de la Réunion .

- [95] Farm Chemicals Handbook 1999. Willoughby, OH: Meister Publishing Co., 1999., p. C 177.
- [96] Sanchirico R, Pinto G, Pollio A, Cordella M, Cozzani V. , 2012 , Thermal degradation of Fenitrothion: identification and eco-toxicity of decomposition products. *J Hazard Mater.* Vol 199-200 : 390-400 .
- [97] TSUJI, K., HORIDE, F., MINOBE, M., SASAKI, M., SHIRAGA, N., HIROAKI, O. (1980). Thermal decomposition of O,O-dimethyl O-(3-methyl-4-nitrophenyl) phosphorothioate (Sumithion). *J.pestic. Sci.*, 5: 371-384.
- [98] D.G. Brewer, G. Wood, I. Unger (1974). The photodecomposition of fenitrothion [0, 0-dimethyl-0-(3-methyl-4-nitrophenol) phosphorothioate]. *Chemosphere.* Vol 3 (3) : 91–95.
- [99] KIKUCHI, R., YASUTANIYA, T., TAKIMOTO, Y., YAMADA, H., & MIYAMOTO, J. (1984) Accumulation and metabolism of fenitrothion in three species of algae. *J. pestic. Sci.*, 9: 331-337.
- [100] Bonner MR; Coble J; Blair A et al. (2007). "Malathion Exposure and the Incidence of Cancer in the Agricultural Health Study". *American Journal of Epidemiology* 166 (9): 1023–1034.
- [101] Tomlin, C.D.S. (ed.). *The Pesticide Manual - World Compendium*, 11th ed., British Crop Protection Council, Surrey, England 1997, p. 755 .
- [102] R.S. Edmundson , 1988 , *Dictionary of Organophosphorus Compounds*, Chapman & Hall, London .
- [103] Hansch, C., Leo, A., D. Hoekman. *Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants*. Washington, DC: American Chemical Society., 1995., p. 80 .
- [104] Palumbo A.J., TenBrook P.L., Fojut T.L., Faria I.R. & Tjeerdema R.S., 2012. Aquatic life water quality criteria derived via the UC Davis method: I. Organophosphate insecticides. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 216, 1–49.

- [105] Jones KN and English JC, 3rd (2003) Review of common therapeutic options in the United States for the treatment of pediculosis capitis. *Clin Infect Dis* 36 : 1355 - 1361 .
- [106] McPherson. Jr., J. B. ,G. A. Johnson. 1956. Thermal decomposition of some phosphorothioate insecticides. *Agric. Food Chem.* 4:42-49.
- [107] Ahling, B. , K. Wiberger. 1979. Incineration of pesticides containing phosphorus . *J Environ Qual* . vol 8:12-13.
- [108] Hazardous Substances Databank. Toxicology Data Network. U.S. National Library of Medicine, Bethesda, MD (1988).
- [109] Verschueren, K. Handbook of environmental data on organic chemicals. 2^e édition. Van Nostrand Reinhold Co., New York, NY (1983).
- [110] National Academy of Sciences. Drinking water and health. Vol. I. U.S.National Research Council, Washington, DC (1977).
- [111] Goda, S.K., Elsayed, I.E., Khodair, T.A., El-Sayed, W. and Mohamed, M.E.,2010, Screening for and Isolation and Identification of Malathion Degrading Bacteria: Cloning and Sequencing a Gene that Potentially Encodes the Malathion Degrading Enzyme, Carboxylestrase in Soil Bacteria", *Biodegradation*, vol 21: 903 - 913 .
- [112] Kamal, Z. M., N. A. H. Fetyan, M. A. Ibrahim, and S. El Nagdy. 2008. Biodegradation and detoxification of malathion by of *Bacillusthuringiensis* MOS-5. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2:724–732.
- [113] Rosenberg, A., and M. Alexander. 1979. Microbial cleavage of various organophosphorus insecticides. *Appl. Environ. Microbiol.* vol 37:886–891.
- [114] Doris F. Paris , David L. Lewis , N. Lee Wolfe.1975. Rates of degradation of malathionby bacteria isolated from aquatic system. *Environ. Sci. Technol.* vol 9(2) : 135 - 138 .

- [115] Sabit, H. H., O. A. M. Said, A. F. Shamseldin, and K. Elsayed. 2011. Molecular identification of *Acinetobacter* isolated from Egyptian dumpsite as potential bacteria to degrade malathion. *Int. J. Acad.Res.* vol 3:84–90.
- [116] Barik, S. and D. M. Munnecke. 1982. Enzymatic hydrolysis of concentrated diazinon in soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 29:235–239.
- [117] Al W. Bourquin , 1975 , Microbial-malathion interaction in artificial salt-marsh ecosystems : effect and degradation , National Environmental Research Center , Office of Research and Development , U.S. Environmental Protection Agency , 50 p .
- [118] Site officiel de Biomerieux SA . <http://www.biomerieux.com> [consulté le 15 juin 2015] .
- [119] P. B. Smith, K. M. Tomfohrde, D. L. Rhoden, and A. Balows. 1972 .API System: a Multitube Micromethod for Identification of Enterobacteriaceae. *Appl Microbiol.* vol 24(3): 449–452.
- [120] H Imran, KM Altaf, K Jong-Guk .2006 .Degradation of malathion by *Pseudomonas* during activated sludge treatment system using principal component analysis (PCA). *Journal of environmental sciences* . vol 18 (4): 797 - 804 .
- [121] H Imran, KM Altaf, K Jong-Guk .2004 .Malathion Degradation by *Pseudomonas* Using Activated Sludge Treatment System (Biosimulator).*Biotechnology* , vol 3 (1) : 82 - 89 .
- [122] A Ishaq, JA Khan, N Ahmed . 1994 . Biodegradation of a pesticide cyano, 3-phenoxybenzyl-2, 2 dimethyl 3 (2, 2 dichlorovinyl) by *Pseudomonas aeruginosa* species. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 15 (1), 242-250
- [123] Matsumura, F., Boush, G. 1966 . Malathion degradation by *Trichoderma Viride* and a *Pseudomonas* species. *Science* 153, 1278-1280.
- [124] S. Ramu, B. Seetharaman, 2014 , Biodegradation of acephate and methamidophos by a soil bacterium *Pseudomonas aeruginosa* strain Is-69, *J. Environ. Sci. B* . vol : (49) 23–34.

[125] Ahmed F. Azmy , Amal E. Saafan, Tamer M. Essam, Magdy A. Amin, Shaban H. Ahmed . 2015 . Biodegradation of Malathion by *Acinetobacter baumannii* Strain AFA Isolated from Domestic Sewage in Egypt . World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering . Vol:9, No:1.

[126] Choi J.Y., Sifri C.H., Goumnerov B.C., Rahme L.G., Ausubel F.M., Calderwood S.B., 2002. Identification of Virulence Genes in a Pathogenic Strain of *Pseudomonas aeruginosa* by Representational Difference Analysis. *Journal of Bacteriology*. 184 : 952-961.

[127] Shuyan Deng and al, 2015 , Rapid biodegradation of organophosphorus pesticides by *Stenotrophomonas* sp. G1 *Journal of Hazardous Materials* vol 297 : 17–24.

[128] Y.J. Shen, P. Lu, H. Mei, H.J. Yu, Q. Hong, S.P. Li, Isolation of a methylparathion-degrading strain *Stenotrophomonas* sp. SMSP-1 and cloning of the *phc2* gene, *Biodegradation* 21 (2010) 785–792.

[129] Mohamed, Z. K., M. A. Ahmed, N. A. Fetyan, and S. M. Elnagdy. 2010. Isolation and molecular characterisation of malathion-degrading bacterial strains from waste water in Egypt. *J. Adv. Res.* 1:145–149.

[130] Xie, S., J. X. Liu, L. Li, and C. L. Qiao. 2009. Biodegradation of malathion by *Acinetobacter johnsonii* MA19 and optimization of cometabolism substrates. *J. Environ. Sci.* 21:76–82.

[131] Kamal, Z. M., N. A. H. Fetyan, M. A. Ibrahim, and S. El Nagdy. 2008. Biodegradation and detoxification of malathion by *Bacillus thuringiensis* MOS-5. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2:724–732.

[132] Subramanian G., Sekar S., Sampooram S., (1994), Biodegradation and utilization of organophosphorus pesticides by Cyanobacteria, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 33, 129-143

[133] Wael M. Ibrahim, Mohamed A. Karam, Reda M. El-Shahat, and Asmaa A. Adway, "Biodegradation and Utilization of Organophosphorus Pesticide Malathion by Cyanobacteria," *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 392682, 6 pages, 2014. doi:10.1155/2014/392682.

[134] Chao Yang , Na Liu , Xinmin Guo & Chuanling Qiao . 2006 . Cloning ofmpd gene from a chlorpyrifos-degrading bacterium and use of this strain in bioremediation of contaminated soil.*FEMS Microbial . Lett .vol 265 : 118 - 125*

ملخص:

في إطار هذا العمل، قمنا باختيار و تحديد ابتداء من أحوال نشطة مأخوذة من محطة معالجة مياه الصرف الصحي لمدينة القليعة، سلالات ميكروبية قابلة لتحليل الملاثيون و الفينيتروتيون ، لاجل هذا تم تهيئة عدة اوساط زراعية سائلة، تسمح باختيار سلالات ميكروبية قابلة لاستعمال هذين المبيدين الحيويين كمصدر وحيد للكربون او الفوسفور بالنسبة للملاثيون و كمصدر وحيد للكربون، الفوسفور او الازوت بالنسبة للفينيتروتيون. تم حضن الاختبار في درجة حرارة 30 درجة مئوية و تحت اثاره لمدة 22 يوم. النتائج المتحصل عليها سمحت باختيار و تحديد سلالتين بكتيريتين استعملت الملاثيون كمصدر وحيد للكربون من ناحية اخرى تم تحديد (*Stenotrophomonas maltophilia* et *Pseudomonas stutzeri*) سلالتين بكتيريتين تنتميان الى النوع قادرتين على تحليل الفينيتروتين، واحدة *Stenotrophomonas maltophilia* سلالتين بكتيريتين تنتميان الى النوع استعملته كمصدر وحيد للكربون و الاخرى كمصدر وحيد للازوت، و اخيرا النتائج التي تم التوصل اليها سمحت لنا بتحديد سلالة قامت باستخدام الفينيتروتين كمصدر وحيد للفوسفور و لكن التحديد لم يكن ممكنا مع اسلوب تحديد الهوية المستخدم.

الكلمات المفاتيح : احوال نشطة، ملاثيون، فينيتروتين

Stenotrophomonas maltophilia , *Pseudomonas stutzeri*

Résumé :

Dans le cadre de ce travail, on a entrepris la sélection et l'identification, à partir de boues activées prélevées à la station d'épuration de Koléa ,de souches microbiennes susceptibles de métaboliser deux organophosphorés que sont le fénitrothion et le malathion. Pour ce faire, différents milieux de culture liquides ont été préparés permettant de sélectionner des souches microbiennes susceptibles d'utiliser les deux pesticides testés comme : - unique source de carbone ou bien comme unique source de phosphore pour le malathion ; - unique source de carbone, unique source de phosphore ou comme unique source d'azote pour le fénitrothion. L'ensemble des essais ont été incubés à 30 °C et sous agitation pendant 22 jours. Les résultats obtenus ont permis la sélection et l'identification de deux souches bactériennes (*Stenotrophomonas maltophilia* et *Pseudomonas stutzeri*) utilisant le malathion comme unique source de carbone. Par ailleurs, deux souches bactériennes appartenant à l'espèce *Stenotrophomonas maltophilia* ont été identifiées comme étant capables de métaboliser le fénitrothion, l'une l'utilisant comme unique source de carbone, et l'autre en l'utilisant comme unique source d'azote. Enfin, les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence une souche utilisant le fénitrothion comme seule source de phosphore mais dont l'identification n'a pas été possible avec la méthode d'identification utilisée.

Mots clés : boues activées, fénitrothion, malathion, organophosphorés, *Pseudomonas stutzeri*, *Stenotrophomonas maltophilia*,

Abstract :

The present work was conducted to select and identify, from activated sludge collected at the wastewater treatment plant of Kolea, potent microbial strains capable of metabolizing two organophosphorus pesticides (fenitrothion and malathion). Therefore, different liquid culture media were prepared to select microbial strains capable of using the two tested pesticides as: the sole source of carbon or as the sole source of phosphorus for malathion; the sole source of carbon, the sole source of phosphorus or as the sole source of nitrogen for fenitrothion. All cultures were incubated at 30 °C under stirring for 22 days. The obtained results permitted the selection and the identification of two bacterial strains (*Stenotrophomonas maltophilia* and *Pseudomonas stutzeri*) capable of using malathion as the sole source of carbon. In addition, two bacterial strains belonging to the species *Stenotrophomonas maltophilia* were identified and were found to be capable of metabolizing fenitrothion. One of the two was capable of using the pesticide as the sole source of carbon, and the other one was found to use it as the sole source of nitrogen. Finally, the obtained results allowed us to identify a strain capable of using fenitrothion as the sole source of phosphorus but we failed to achieve its identification with the identification method used.

Keywords : activated sludge, fenitrothion, malathion, organophosphates, *Pseudomonas stutzeri*, *Stenotrophomonas maltophilia*,