

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Polytechnique



Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire de Bioengineering et de Génie des Procédés (BIOGEP)

Mémoire de projet de fin d'études
en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Génie de
l'Environnement

Thème

**Isolement de souches microbiennes capables de
dégrader l'abamectine**

Lamis Halima RAMDANE

Présenté et soutenu publiquement le 10 juillet 2019

Composition du Jury :

Président :	M. Hocine GRIB	Professeur (ENP)
Promoteurs :	Mme Nadia ABDI	Professeur (ENP)
	M. Djaber TAZDAIT	Maître de Conférences A (UMMTO)
Examineur :	M. Nabil MAMERI	Professeur (ENP)

ENP 2019

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Polytechnique



Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire de Bioengineering et de Génie des Procédés (BIOGEP)

Mémoire de projet de fin d'études
en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Génie de
l'Environnement

Thème

**Isolement de souches microbiennes capables de
dégrader l'abamectine**

Lamis Halima RAMDANE

Présenté et soutenu publiquement le 10 juillet 2019

Composition du Jury :

Président :	M. Hocine GRIB	Professeur (ENP)
Promoteurs :	Mme Nadia ABDI	Professeur (ENP)
	M. Djaber TAZDAIT	Maître de Conférences A (UMMTO)
Examineur :	M. Nabil MAMERI	Professeur (ENP)

ENP 2019

Dédicaces :

A la mémoire de Papy ;

A Maman et Papa ;

A Nahla ;

A Yema ;

Aux Chaouch et aux Ramdane ;

A Ryadh, Luise et Luca ;

Aux Chqabs de Brainiac ;

Et à mes deux classes ;

Je dédie ce modeste travail.

Lamis

Remerciements :

J'adresse mes remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidée dans l'élaboration de ce mémoire.

En premier lieu, je remercie M. Djaber TAZDAIT et Mme Nadia ABDI de m'avoir encadrée et guidée durant la réalisation de ce projet de fin d'études.

Je remercie aussi M. Hocine GRIB et M. Nabil MAMERI d'avoir accepté d'examiner mon travail et de l'enrichir avec leurs éventuelles remarques et questions.

Je tiens également à remercier Mme Radia CHEMLAL (MCA, USTHB) d'avoir gentiment répondu à toutes mes questions durant mon temps au BIOGEP et de m'avoir fourni les produits nécessaires pour effectuer l'identification de ma souche microbienne.

Enfin, j'adresse mes remerciements à tous les enseignants que j'ai eu durant mon parcours au département de Génie de l'Environnement et à tout le personnel de l'Ecole Nationale Polytechnique dont je ne connais pas les noms mais je reconnais les efforts.

ملخص:

في إطار هذا العمل قمنا, ابتداء من أحوال نشطة مأخوذة من محطة معالجة مياه الصرف الصحي للرغاية, باختيار و تحديد سلالات ميكروبية قابلة لتحليل الأباكتين . لأجل هذا تم اعداد وسيط استزراع سائل يسمح باختيار السلالات الميكروبية التي يرجح استخدامها لهذا المبيد الحيوي كمصدر وحيد للكربون . تم حضن الاختبار في درجة حرارة الغرفة مع التحريك المستمر لمدة 23 يوما. سمحت النتائج المتحصل عليها باختيار وتحديد سلالة بكتيرية واحدة (*Burkholderia cepacia*) نجحت في استقلاب الأباكتين كمصدر وحيد للكربون .

الكلمات الدالة: الأباكتين , المبيدات الحيوية , الأحوال النشطة , *Burkholderia cepacia*.

Abstract :

The present work was conducted to select and identify, from activated sludge collected at the wastewater treatment plant in Réghaïa, potent microbial strains capable of metabolizing abamectin. Therefore, a liquid culture media was prepared to select microbial strains likely to use the pesticide as the sole source of carbon. The resulting culture was incubated at room temperature, with continuous stirring for 23 days. The obtained results allowed the selection and identification of a single bacterial strain (*Burkholderia cepacia*) metabolizing abamectin as the sole carbon source.

Keywords: Abamectin, pesticides, activated sludge, *Burkholderia cepacia*.

Résumé:

Dans le cadre de ce travail, on a entrepris la sélection et l'identification, à partir des boues activées prélevées à la station d'épuration de Réghaïa, de souches microbiennes capables de métaboliser l'abamectine. Pour ce faire, un milieu de culture liquide à été préparé permettant de sélectionner les souches microbiennes susceptibles d'utiliser le pesticide comme unique source de carbone. La culture obtenue a été incubée à température ambiante, sous agitation continue pendant 23 jours. Les résultats obtenus ont permis la sélection et l'identification d'une seule souche bactérienne (*Burkholderia cepacia*) métabolisant l'abamectine comme unique source de carbone.

Mots clés : Abamectine, pesticides, boues activées, *Burkholderia cepacia*.

Table des matières :

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Liste des abréviations.

Introduction générale..... 12

Partie I Synthèse bibliographique 13

1. Généralités sur les pesticides : 14

1.1. Définition :..... 14

1.2. Composition et formulation :..... 14

1.3. Classification : 15

1.4. Réglementation :..... 17

2. Comportement et devenir des pesticides dans l'environnement : 18

2.1 Dans le sol 18

2.2 Toxicologie 22

3. Dégradation microbienne des pesticides 26

3.1 Facteurs de croissance des microorganismes dégradants 27

3.2 Mécanismes de la dégradation microbienne 28

3.3 Les réactions principales de la dégradation biotiques et les enzymes impliqués . 31

4. Généralités sur l'abamectine 33

4.1 Définition..... 33

4.2 Mode d'action..... 34

4.3 Dégradation et persistance de l'abamectine dans l'environnement 35

4.4 Effets éco-toxicologiques 36

4.5 Traitements et Bioremédiation..... 38

Partie II Etude expérimentale 41

5. Matériel et méthodes 42

5.1 Matériel biologique :..... 42

5.2 Matériel non biologique 42

5.3 Procédure d'acclimatation des boues activées à l'abamectine..... 42

5.4	Isolement et identification des microorganismes	44
6.	Résultats et discussion	48
6.1	Résultats de l'ensemencement sur le milieu sélectif	48
6.2	Identification de la souche bactérienne mise en évidence dans le milieu sélectif solide	48
6.3	Discussion des résultats obtenus	50
	<i>Conclusion et perspectives</i>.....	53
	<i>Références bibliographiques</i>	55

Liste des figures :

<i>Figure 1: Processus et voies de dispersion des pesticides.</i>	19
<i>Figure 2: Schéma comparatif entre le métabolisme et le co-métabolisme des pesticides par les microorganismes</i>	30
<i>Figure 3: Mécanisme de la transposition via transposon.</i>	32
<i>Figure 4: Mécanisme de la conjugaison via plasmide</i>	32
<i>Figure 5: Structure chimique de l'abamectine</i>	33
<i>Figure 6: Photo-isomérisation de l'abamectine sous lumière UV.</i>	35
<i>Figure 7: La voie de biodégradation de l'abamectine par la souche LYH</i>	38
<i>Figure 8: Voie de dégradation partielle proposée de l'abamectine par la souche GB-01 à partir de métabolites présumés.</i>	39
<i>Figure 9: Voie de dégradation proposée d'ABM B1a par la souche ZJB-14120 de S. maltophilia.</i>	40
<i>Figure 10: Les étapes de la coloration de Gram.</i>	45

Liste des tableaux :

<i>Tableau 1: Classement selon cible de quelques familles chimiques de pesticides.</i>	<i>17</i>
<i>Tableau 2: Paramètres utilisées pour caractériser la toxicité d'un composé.....</i>	<i>23</i>
<i>Tableau 3: Exemples de bactéries capables de dégrader certains pesticides en culture pure ..</i>	<i>26</i>
<i>Tableau 4: Les différents mécanismes impliqués dans la dégradation microbienne.....</i>	<i>28</i>
<i>Tableau 5: Propriétés physico-chimique de l'abamectine.....</i>	<i>34</i>
<i>Tableau 6: Toxicité de l'abamectine dans différents groupes d'espèces non ciblées.</i>	<i>37</i>
<i>Tableau 7: Composition du milieu de culture synthétique liquide.</i>	<i>43</i>
<i>Tableau 8: Description morphologique de la colonie détectée.....</i>	<i>48</i>
<i>Tableau 9: caractéristiques biochimiques de la souche isolée obtenus avec une galerie API</i>	
<i>20NE.</i>	<i>49</i>
<i>Tableau 10: Résultats d'identification obtenu avec la base de données APIweb (API 20NE V7.0)</i>	
<i>.....</i>	<i>49</i>

Liste des abréviations :

ABM : Abamectine

ADN : Acide Désoxyribonucléique

CAS : Chemical Abstracts Service

CL50 : Concentration létale 50

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

DES : Dose Sans Effet

DJA : Dose Journalière Acceptable

DL50 : Dose létale 50

FAO : Food and Agriculture Organization (L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture)

IUPAC : The International Union of Pure and Applied Chemistry (L'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée)

K_{oc} : Coefficient de partage carbone/eau

LMR : Limite Maximale de Résidu

PNPG : p-Nitrophenol-a-D-Glucopyranoside

POA : Procédés d'Oxydation Avancée

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

V_{max} : Vitesse maximale

UV : Ultra-violet

Introduction générale

La pollution est souvent associée aux industries et différents moyens de transport. Or, l'agriculture, comme tout autre secteur d'activité humaine, a sa part de responsabilité.

Face à une demande de plus en plus exigeante et élevée, et des ravageurs qui détruisent près de 35% de toutes les cultures vivrières potentielles avant la récolte à travers le monde, plus de 600 types de pesticides sont utilisés aujourd'hui pour lutter contre les mauvaises herbes, les insectes, les maladies microbiennes et d'autres parasites susceptibles de réduire la production alimentaire.

Même si différents produits ont été utilisés contre les ravageurs depuis l'époque romaine, ce n'est qu'à partir de la seconde guerre mondiale que l'utilisation des pesticides chimiques à grande échelle a vu le jour avec l'introduction du Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) et son large spectre d'action.

En raison de leur mobilité, leur stabilité, leur manque de sélectivité et les effets à long termes qu'ils sont susceptibles d'avoir sur les organismes vivants, les pesticides se sont révélés par la suite être parmi les polluants les plus dangereux pour l'environnement. Ainsi, l'élaboration de méthodes capables de les éliminer des milieux naturels est devenue une priorité.

Combinant une efficacité élevée et un coût moindre comparé à celui des méthodes physico-chimiques, la bioremédiation semble être la plus attractive des solutions. Ce travail s'inscrit dans ce cadre-là puisqu'il étudie la possibilité de la revalorisation des boues activées pour l'élimination de l'abamectine.

L'abamectine, malgré son origine biologique puisqu'il s'agit d'un pesticide produit à partir de la fermentation d'une souche bactérienne (*Streptomyces avermitilis*), est hautement toxique pour certaines espèces, notamment les abeilles et de nombreux espèces aquatiques.

Au cours des expériences menées pour l'élaboration ce travail, des boues activées sont acclimatées à ce produit phytosanitaire afin d'isoler une souche bactérienne capable de dégrader et qui pourrait par la suite être employée pour assurer son élimination du sol et des eaux.

Ce mémoire est divisé en deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique, qui abordera :
 - **Des généralités sur les pesticides ;**
 - **Leur devenir et comportement dans l'environnement ;**
 - **Leur biodégradation ;**
 - Et enfin, **des généralités sur l'abamectine.**
- La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale et comportera deux chapitres :
 - **Matériel et méthodes ;**
 - **Résultats et discussion.**

Partie I

Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les pesticides :

1.1. Définition :

Dérivé de l'association de deux termes latins : « caedere » pour tuer et « pestis » pour fléau, le mot pesticide, faisant aujourd'hui partie du langage courant, est défini dans le code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides de la Food and Agriculture Organization (FAO) des Nations Unies comme étant « *toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs (y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales) et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires, des produits agricoles, du bois et produits ligneux, ou des aliments pour animaux, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et les autres endo- ou ectoparasites. Le terme inclut les substances à être utilisées comme régulateur de croissance des plantes, comme défoliant, comme agent de dessiccation, comme agent d'éclaircissage des fruits ou pour empêcher la chute prématurée de ceux-ci, ainsi que les substances appliquées sur les cultures, avant ou après la récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport* ». [1]

Les pesticides sont principalement utilisés en agriculture mais pas de manière restrictive. Ils peuvent également être employés dans d'autres secteurs professionnels ou être destinés à un usage domestique ou thérapeutique.

Les termes pesticide et phytosanitaire sont souvent interchangeables. La législation algérienne par exemple, notamment l'article 2 de la loi n° 87-17 du 1er août 1987 relative à la protection phytosanitaire, associe la même définition aux deux mots.

Toutes ces différentes dénominations désignent aussi bien la substance active responsable de l'action visée que la spécialité commerciale renfermant une ou plusieurs substances actives et vendue à l'utilisateur ainsi que les métabolites qui résultent de sa dégradation [2].

1.2. Composition et formulation :

Les pesticides sont commercialisés sous forme de formulations : préparations stables et prêtes à l'emploi, contenant une ou plusieurs matières actives associées à d'autres substances de manière à être présentées sous forme convenable quel que soit le mode d'épandage, assurer une efficacité optimale et limiter les risques d'intoxication pour le manipulateur.

Les formulations sont généralement composées de [3]:

- **Une substance active**, minérale ou organique et d'origine naturelle ou synthétique, responsable, en tout ou en partie, de l'effet toxique.
- **Un diluant**, qui est une matière solide ou un solvant liquide, incorporé à la préparation pour en abaisser la concentration en matière active. Le plus souvent, il s'agit d'huiles végétales dans le cas des solvants liquides et d'argile ou de talc dans le cas des préparations solides où le diluant est appelé charge.
- **Des adjuvants** qui quant à eux, sont des matières dépourvues d'activité biologiques, incorporés à la préparation pour faciliter l'utilisation et l'application du produit ou

pour modifier la qualité du pesticide. Ils comprennent des stabilisants, des adhésifs, des tensioactifs, des émulsionnants, des colorants, des matières répulsives et parfois des émétiques et des antidotes. [4]

1.3. Classification :

En règle générale, les pesticides peuvent être classés selon leur cible, leur structure ou encore leur mode d'emploi [5, 6] (Tableau 1). Un système de classification des pesticides par niveaux de risques est également proposé par l'Organisation Mondiale de la Santé depuis 1975.

1.3.1 Classification en fonction de l'espèce cible :

Selon les spécialités commerciales, les producteurs et les utilisateurs des pesticides les classent selon la nature de leur cible. On distingue principalement trois classes :

- **Les insecticides :**

Il s'agit principalement de matières organiques de synthèse. Certaines substances minérales ou molécules organiques d'origine naturelle sont parfois utilisées mais d'une manière très marginale, c'est le cas des dérivés de la nicotine à titre d'exemple. Destinés à tuer les insectes nuisibles et/ou à empêcher leur reproduction en s'attaquant à leurs larves et/ou œufs, ce sont les premiers pesticides utilisés dans l'histoire et les plus employés en Algérie. Leur utilisation ne se restreint pas à l'agriculture mais s'étend à la médecine, à l'industrie et à l'usage du grand public.

- **Les herbicides :**

Communément appelés les désherbants, il s'agit de pesticides utilisés pour lutter contre les adventices des cultures (mauvaises herbes) en ralentissant leur croissance. Contrairement aux autres produits généralement pulvérisés sur la plante en croissance, les herbicides sont le plus souvent déposés directement sur le sol. Leur développement a connu un grand progrès après la seconde guerre mondiale et de nombreuses nouvelles molécules ont été découvertes et proposées à l'agriculture. Ils représentent aujourd'hui environ 70% des pesticides utilisés aux Etats Unis [7], leur usage ayant dépassé de loin celui des insecticides pour devenir les pesticides les plus utilisés à travers le monde.

- **Les fongicides :**

Ils sont conçus exclusivement pour éliminer ou limiter le développement des champignons pathogènes et permettent donc de lutter contre les maladies cryptogamiques nuisibles aux végétaux.

Les fongicides peuvent être préventifs en empêchant le développement des spores à la surface de la plante ; ou curatifs en arrêtant le développement du champignon déjà installé sur la plante. Ils sont également utilisés pour combattre les infections fongiques chez les animaux [8].

Outre ces trois classes, on recense également les acarides, les rodenticides et taupicides, les nématicides (vers nématodes), les molluscicides et les corvicides (oiseux ravageurs) [9].

1.3.2 Classification en fonction de la structure chimique :

Les pesticides peuvent également être classés en fonction de la famille chimique à laquelle appartiennent les substances actives. Compte tenu du nombre considérable de ces produits (près de 800 matières actives différentes dans plus de 6000 préparations commerciales ; IFEN, 2004), une grande diversité de familles chimiques est rencontrée. Au sein de ces dernières, les sulfonylurées, les organophosphorés, les carbamates, les triazines, les urées substituées et les phénols sont parmi les plus représentées.

- Les organophosphorés

Les organophosphorés sont des molécules neurotoxiques utilisés en milieu agricole comme insecticides. Ils appartiennent à la famille chimique des anticholinestérasiques. Ce sont des esters de l'acide phosphorique dont les noms de substances actives sont le plus souvent identifiables par leur terminaison en "phos" ou en "thion". Les organophosphorés sont très toxiques pour les vertébrés et la plupart des substances actives sont chimiquement instables. [10]

On retrouve trois grands groupes d'organophosphorés :

- Les organophosphorés aliphatiques tels que le malathion, le diméthoate ou le dichlorvos,
- Les dérivés phényles tels que le parathion, le méthylparathion ou le profenofos et qui sont généralement plus stables que leurs congénères aliphatiques,
- Les hétérocycles dont le chlorpyrifos, le méthidathion et le phosmet font partie.

- Les carbamates

Ce sont des insecticides dérivés de l'acide carbamique, qui agissent en inhibant l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase, inhibition qui peut être réversible dans certains cas. Le carbaryl est le carbamate le plus utilisé en raison de son spectre d'action très étendu pour les contrôles des insectes et en raison de sa faible toxicité chez les mammifères. Le carbofuran, l'aldicarbe, le carbosulfan ou encore le fénoxycarbe sont également des carbamates largement utilisés. [10]

- Les triazines

Les triazines sont une classe de composés hétérocycliques aromatiques de six atomes, dont trois de carbone et trois d'azote. Elles peuvent exister sous l'une des trois formes isomères.

Parmi les pesticides à base de triazines, on retrouve les simazines, les atrazines et les propazines. Ces herbicides agissent en interférant avec la photosynthèse. [10]

- Les urées substituées

Ce sont des herbicides qui provoquent les mêmes symptômes que les triazines en agissant sur la photosynthèse également [11]. Ils incluent plusieurs groupes fonctionnels dont les phénylurées et les sulfonylurées. [12]

Tableau 1: Classement selon cible de quelques familles chimiques de pesticides. [3]

Famille chimique	Exemple de molécule	Classement selon cible
Organochlorés	DDT, Chlordane, Lindane, Dieldrine, Heptachlore...	Insecticides
Organophosphorés	Malathion, Parathion, Chlorpyrifos, Diazinon...	Insecticides
Pyréthroïdes	Perméthrine...	Insecticides
Carbamates	Aldicarbe, Carbaryl, Carbofuran, Méthomyl	Insecticides
	Asulame, Diallate, Terbutcarbe, Triallate	Herbicides
	Benthiavalarbe	Fongicides
Dithiocarbamates	Mancozèbe, Manèbe...	Fongicides
Phtalimides	Folpel, Captane, Captafol	Fongicides
Triazines	Atrazine, Simazine...	Herbicides
Phénoxyherbicides	MCPA, 2,4-D,2,4,5-T...	Herbicides
Chloroacétamides	Alachlore...	Herbicides
Pyridines, bipyridiliums	Paraquat, Diquat...	Herbicides
Aminophosphonates	Glyphosate	Herbicides

1.4 Réglementation :

1.4.1. Dans le monde :

Les pesticides, compte tenu des nombreuses externalités négatives associées à leur utilisation, sont assujettis à de différentes réglementations selon les pays et les régions. Ces mesures réglementaires incluent les limites de résidus de pesticides sur les aliments, les exigences d'enregistrement des produits et les restrictions de leur utilisation. En raison de ces différences, les pesticides faisant l'objet d'un commerce international peuvent être soumis à des réglementations de plusieurs pays.

Au niveau international, et dans le but de fournir des directives pour réglementer certains aspects liés à l'utilisation des pesticides (pratiques commerciales, essais, enregistrement, disponibilité, distribution, étiquetage, emballage, stockage, élimination, publicité, formation, résidus, évaluation périodique, échange d'informations), la FAO a publié en 1990 la première version de son Code de conduite international pour la distribution et l'utilisation des pesticides. Le Code est destiné à définir les responsabilités et à établir des normes de conduite volontaires pour toutes les entités publiques et privées impliquées ou affectant la distribution et l'utilisation de pesticides, en particulier lorsque la législation nationale en la matière est absente ou insuffisante. Il énumère dans son annexe une liste non exhaustive des accords et instruments internationaux dans les domaines de la gestion des produits

chimiques, de la protection de la santé et de l'environnement, du développement durable et du commerce international relatifs aux pesticides [1].

1.4.2 En Algérie :

Le contrôle des produits phytosanitaires a été progressivement introduit en Algérie. La promulgation de la loi n°87-17 du 01-08-1987, relative à la protection phytosanitaire, a permis d'édicter les mesures relatives à la fabrication, l'étiquetage, l'entreposage, la distribution, la commercialisation et l'utilisation des pesticides à usage agricole [13]. Aucun produit phytosanitaire ne peut être commercialisé, importé ou fabriqué s'il n'a pas fait l'objet d'une homologation. Cette homologation a été instituée par deux décrets exécutifs [14, 15]:

- n°95-405 du 02 décembre 1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole ;
- n°10-69 du 31 janvier 2010 fixant les mesures applicables lors de l'importation et l'exportation des produits phytosanitaires à usage agricole.

2. Comportement et devenir des pesticides dans l'environnement :

Dès leur application, les produits phytosanitaires se dissipent dans les différents compartiments du milieu naturel selon différentes voies : la volatilisation, l'entraînement vers les eaux de surface par ruissellement, le transfert vertical à travers les sols, la photolyse, ou encore l'absorption par les organismes vivants pour n'en citer que quelques exemples. (Figure 1)

2.1 Dans le sol

Compte tenu de leur large utilisation, l'introduction des pesticides dans le sol peut avoir plusieurs origines :

- Leur emploi comme phytosanitaires pour la protection des plantes et des sols à usage agricole ;
- Leur application pour la protection des animaux, de l'homme et des habitations ;
- Leur stockage et leur élimination en cas de non utilisation ou celle des résidus dans les emballages ;
- Les rejets dans l'environnement à partir des usines de fabrication ou au cours du remplissage et du nettoyage des appareils de traitement ;
- Les déversements accidentels ;
- Les dépôts d'origine atmosphérique.

Arrivés au sol, les pesticides se distribuent entre trois phases : solide, liquide et vapeur, selon des constantes d'équilibre d'adsorption, de désorption et de volatilisation. Ces constantes sont caractéristiques de chaque produit, mais elles sont modifiées selon des conditions pédoclimatiques, influant ainsi la concentration du pesticide dans chacune des phases.

La rétention et la dégradation des pesticides dans les sols sont les deux processus majeurs qui conditionnent leur devenir et leur caractère polluant. [16] Ces deux phénomènes ne sont pas indépendants puisque la rétention conditionne la disponibilité des produits pour leur dispersion dans l'environnement mais aussi pour leur dégradation.

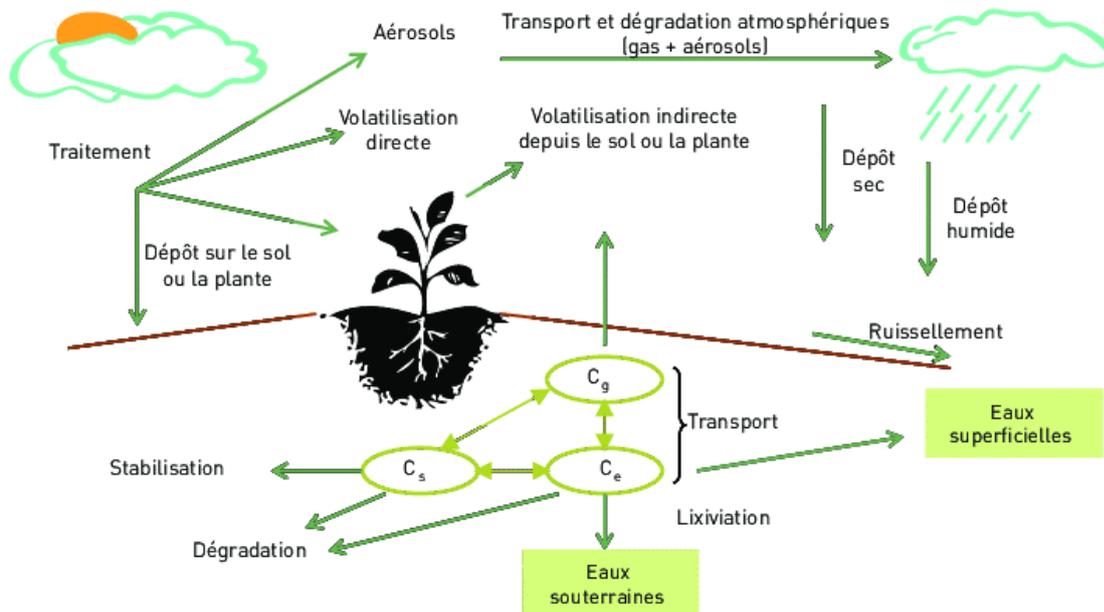


Figure 1: Processus et voies de dispersion des pesticides. [17]

2.1.1 Immobilisation et rétention

La rétention est le résultat global d'un ensemble de processus élémentaires, impliquant des interactions avec les constituants organiques et minéraux des sols. Ces processus immobilisent les molécules du pesticide dans le sol pour éviter, au moins temporairement, leur diffusion hors du lieu de rétention vers l'air par volatilisation ou vers l'eau par ruissellement ou lixiviation. C'est le transfert d'un composé de la phase liquide ou gazeuse vers la phase solide imputable à des phénomènes physico-chimiques d'adsorption et de désorption réversibles ou irréversibles. [18]

La mobilité de la matière active est réduite essentiellement par son adsorption sur les particules du sol, et ce dans une mesure qui dépend des propriétés physiques et chimiques du sol et des caractéristiques moléculaires de la matière active, dont :

- **La température ;**
- **Les pH du sol et de l'eau ;**
- **La distribution de taille des particules et la surface spécifique des solides ;**
- **Le rapport sol/eau ;**
- **Les propriétés physiques de l'adsorbant ;**
- **La composition du sol** (matière organique, argile ou autre constituant).

Selon les propriétés des pesticides et des adsorbants, plusieurs mécanismes d'adsorption sont envisageables : les liaisons d'hydrogène, les échanges ioniques, les interactions avec les cations métalliques, les interactions polaires et le transfert de charge. 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.

La propriété de rétention d'une molécule est généralement définie par le coefficient de partage, K_{oc} , entre phase organique solide du sol et phase liquide. Ce coefficient est surtout pertinent pour les molécules non ionisées, dont la rétention dans un sol est proportionnelle à la teneur en matière organique du sol [19]. Il permet de classer les molécules entre elles. Pour les autres molécules, polaires et/ou ionisables, d'autres facteurs tels que le pH du sol, interviennent également et rendent la prédiction de la rétention plus délicate [20].

La rétention peut évoluer dans le temps et devenir irréversible jusqu'à créer des résidus liés, non extractibles, dont on ne connaît ni la nature chimique exacte, ni la capacité de libération ultérieure.

- **Mobilisation**

Suite à des modifications de la structure de la phase solide ou de la composition de la phase liquide la rétention prend fin par la libération des molécules des pesticides. La concentration d'une solution d'un pesticide mis en contact avec un solide adsorbant diminue à la suite de l'adsorption d'une partie du soluté. Après certain temps plus au moins long selon la vitesse de la réaction, la concentration devient constante et le système solution – liquide est alors à l'équilibre. Si, ensuite, la concentration de la solution est diminuée par la dilution de la phase liquide, l'équilibre thermodynamique est rompu. Le système évolue à nouveau vers un nouvel équilibre, en provoquant le passage dans la solution d'une certaine quantité de pesticides, ce passage est le phénomène de désorption. Il se produit chaque fois que la concentration de la solution au contact de la phase solide adsorbante est diminuée jusqu'à une limite qui dépend des caractéristiques de l'adsorption. [21]

2.1.2 Dégradation :

La dégradation des pesticides joue un rôle important dans leur élimination des milieux naturels contaminés. Elle est la résultante d'un ensemble de processus physico-chimiques et biologiques, qui font diminuer la concentration du pesticide en fonction de cinétiques caractéristiques du pesticide et du milieu. Ces modifications peuvent être limitées à l'élimination d'un groupe fonctionnel, conduire à divers produits de transformation et aller jusqu'à la dégradation complète et donc la minéralisation du pesticide. Toute une série de molécules intermédiaires entre la molécule initiale et les molécules finales peuvent ainsi être produites [16]. Cependant, ces métabolites peuvent se révéler parfois plus toxiques et/ou persistants que la matière active initiale. Seule la minéralisation des pesticides conduit à leur élimination totale des milieux naturels, ce qui lui confère une grande importance environnementale.

Le taux de dégradation est proportionnel à la température et la teneur en eau du sol. La persistance des matières actives peut donc être très longue dans un sol sec.

La cinétique de ce processus est modélisée par une simple loi exponentielle, stipulant que la quantité dégradée par unité de temps est proportionnelle à la quantité restante. La vitesse de dégradation est indiquée par la durée de demi-vie (DT50).

On peut distinguer deux types de dégradation :

- **Dégradation abiotique :**

Il s'agit de réactions chimiques non-catalysées par des systèmes enzymatiques. On retrouve alors des réactions photochimiques et des réactions d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse et de conjugaison. Elle contribue à la perte du pouvoir biocide spécifique de la matière active et à l'introduction dans le milieu de nouvelles structures chimiques [22, 23].

- **Dégradation biotique :**

Elle a lieu dans les milieux naturels (sols, sédiments, eaux) mais peut se produire également dans les organismes végétaux ou animaux. La microflore (champignons, algues, protozoaires et bactéries) de ces milieux est à l'origine de cette dégradation. La dégradation biotique est favorisée par une bonne aération du sol, l'humidité, ainsi qu'une teneur élevée en matière organique. [24]

2.1.3 Dissipation

La dissipation des pesticides permet de déterminer leur persistance dans l'environnement ainsi que leur potentiel de pollution de l'air et des eaux. Elle résulte de la dispersion des pesticides, leur formation de résidus non extractibles ou leur prélèvement par les plantes.

2.1.3.1 Dissipation par dispersion

- **Volatilisation**

Lors des traitements visant la surface du sol ou celle des végétaux, on enregistre des pertes par volatilisation dépassant celles due à la dégradation chimique, au ruissellement et à la lixiviation [25]. En effet, le transport et le dépôt aérien sont les principaux responsables de la dispersion des pesticides hors de la zone cible [26]. Ces pertes, maximales lorsque les pesticides sont appliqués sur un sol ou un feuillage humide [25], se voient considérablement réduites par l'incorporation du pesticide au sol. Elles dépendent alors des remontées à la surface des résidus chimiques par diffusion ou par mouvements de convection de l'eau du sol.

- **Ruissellement et lixiviation**

L'eau peut engendrer la dispersion des pesticides dans le milieu par lavage des feuilles, ruissellement et lixiviation. Le ruissellement contribue à la pollution des eaux de surface tandis que la lixiviation contribue surtout à celle des eaux profondes. Bien qu'on considère souvent séparément les eaux de surface et les eaux souterraines, elles restent liées par le cycle hydrologique. En fonction des gradients hydrauliques c'est l'eau de surface qui alimente les aquifères ou les aquifères qui alimentent les eaux de surface [19]. Et, en conséquence, les taux de pesticides dans les eaux superficielles pourront affecter les eaux souterraines ou dépendre d'elles.

Le ruissellement peut être défini comme le mouvement à la surface du sol de l'eau et des matières dissoutes et suspendues qu'elle contient éventuellement [19]. Cet écoulement peut entraîner des pesticides dissous, en suspension ou adsorbés sur les sédiments. On peut estimer l'entraînement hors du champ - en moyenne annuelle - à 2 à 5% (proportion variable avec la pente et les conditions hydrologiques) des pesticides épandus pour les poudres mouillables et à moins de 1% pour les autres formulations [27]. Les substances qui sont fortement absorbées et résistent à la dégradation et à la volatilisation restent longtemps à la surface du sol et sont de ce fait plus sensibles à l'entraînement par l'eau. Leur incorporation au sol réduira les risques de perte par ruissellement [28] Les matières actives solubles seront plutôt entraînées dans le sol par lixiviation durant la pluie mais cependant, si le délai entre le traitement et la première pluie est bref, la concentration dans l'eau de ruissellement peut être plus forte pour les produits solubles.

Le transfert par lixiviation peut causer la pollution des eaux souterraines.

L'importance de cette pollution dépendra entre autres des propriétés du pesticide, de celles du sol, de la vitesse d'infiltration et de l'épaisseur de la zone non saturée. Cela fait plusieurs années qu'on considère que la mobilité des pesticides est une caractéristique essentielle pour l'évaluation du risque de pollution des eaux souterraines. Cependant, ce paramètre ne doit pas être employé seul mais en association avec la persistance pour évaluer dans quelle mesure un produit sera dégradé durant son séjour dans la zone non saturée [29, 30]

2.1.3.2 Dissipation par formation de résidus non extractibles

Une proportion importante (20 à 70%) d'un pesticide (ou de ses métabolites) peut persister dans le sol lié aux colloïdes [31]. Dans cet état, les molécules actives sont difficiles à extraire et à caractériser et elles ont tendance à perdre leur activité biologique. Beaucoup de pesticides qu'on croyait dégradés rapidement ont été retrouvés dans cet état lié.

2.1.3.3 Dissipation et prélèvement par les plantes :

L'absorption des pesticides du sol par les plantes est probablement une des voies majeures qui conduisent à leur accumulation le long des chaînes trophiques et, partant, à leur mise en contact avec l'homme et les animaux [32]. L'absorption foliaire des substances volatilisées à partir du sol pourrait contribuer plus à l'accumulation de résidus dans les plantes que l'absorption par les racines [33].

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).

2.2 Toxicologie

La majorité des effets nocifs des pesticides pour l'environnement sont provoqués par leur manque de sélectivité vis-à-vis de leur cible. Ils sont absorbés par les organismes vivants via la nourriture ou l'eau d'alimentation, via l'air respiré ou au travers de leur peau ou de leur cuticule pour atteindre les sites du métabolisme où ils sont stockés.

La toxicité d'une substance est généralement évaluée par la dose provoquant un effet particulier chez la moitié statistique de la population soumise à la substance (DE50) (Tableau 2). Dans le cas où cet effet est la mort, on parle de dose létale (DL50). La bioaccumulation de certains produits, notamment les pesticides, leur permet de s'accumuler à des concentrations croissantes dans les organismes se succédant le long de la chaîne trophique, ce qui les rend encore plus dangereux pour l'environnement.

On distingue deux types de toxicité :

- **La toxicité aiguë**, ou à court terme, qui se manifeste généralement immédiatement ou peu de temps après une exposition unique ou à courte durée à un pesticide. Elle peut être fatale dans certains cas, notamment dans les pays en voie de développement qui y sont particulièrement vulnérables en raison d'un manque de réglementation et de règles et bonnes pratiques d'application et d'une absence de systèmes de surveillances.
- **La toxicité chronique**, qui survient suite à une absorption répétée de faibles doses de pesticide qui s'accumulent dans le corps pendant plusieurs années dans certains cas et induisent à de différents effets chroniques.

La toxicité, notamment la toxicité chronique, se manifeste par des effets très divers, parmi lesquels on retrouve des effets carcinogènes, immunodépresseurs, mutagènes, cancérigènes, neurotoxiques et tératogènes [34]. Si des données sur la toxicité aiguë, obtenus à travers des tests sur différents organismes, existent, nos connaissances sur la toxicité chronique restent insuffisantes pour beaucoup de substance. Ceci rend notre compréhension des effets indésirables des pesticides sur l'homme et sur l'environnement incomplète.

Tableau 2: Paramètres utilisées pour caractériser la toxicité d'un composé.

Paramètre	Définition
LMR (Limite Maximale de Résidu) ($mg \cdot kg^{-1}$ de produit ou en ppm)	Concentration maximale de résidus légalement tolérée du pesticide en question lorsque celui-ci est utilisé correctement, conformément aux bonnes pratiques agricoles.
DL50 (Dose létale 50) ($mg \cdot kg^{-1}$ de poids corporel)	Quantité de matière active, exprimée en mg/kg de poids vif (quelques fois en ppm) qui tue 50% d'un lot homogène d'animaux de laboratoire auxquels elle est administrée en une seule fois. L'espèce animale (rat et lapin) et la voie d'administration doivent être renseignées.
DJA (Dose Journalière Acceptable)	Quantité maximale de la substance qui peut être ingérée par un animal quotidiennement, pendant toute sa vie, sans troubles physiologiques

DES (Dose sans effet)	Dose immédiatement inférieure à celle qui provoque le moindre effet dans la même épreuve expérimentale
K_{oc}(Coefficient de partage carbone organique/eau)	Potentiel de rétention de la substance active par la matière organique. Il représente un indicateur de bioaccumulation.

2.2.1 Toxicité pour l'homme

Les effets des pesticides sur l'homme peuvent être aigus, causant parfois la mort, ou tardifs et/ou chroniques pour les gens qui en sont exposés. Généralement, les produits présentant une toxicité importante peuvent être facilement éliminés par l'organisme, tandis que les substances à toxicité moindre sont susceptibles de s'accumuler dans le corps et d'induire des effets à long terme difficilement quantifiables.

Le plus souvent, le pesticide est ingéré sous forme de résidus présents dans la nourriture, mais l'absorption peut se faire dans l'eau de boisson, par l'air inhalé ou par contact direct de la peau avec le produit. Les agriculteurs et les ouvriers qui préparent les mélanges et réalisent les traitements présentent un risque plus élevé que le reste de la population d'être contaminés par contact de la peau ou par inhalation.

Des études épidémiologiques ont soulevé, en plus des risques cancérigènes et mutagènes, la possibilité de problèmes hépatiques, rénaux, immunologiques, cardiovasculaires, endocriniens, respiratoires, hématologiques, oculaires, gastrointestinaux ainsi que des modifications du comportement. Ces effets sont normalement observés après plusieurs mois ou plusieurs années d'exposition. Certaines études ont associé l'apparition de certaines formes de cancer (leucémie, lymphomes non-hodgkiniens et cancer des poumons) à l'utilisation des organophosphorés [35].

En Algérie, le profil des intoxications par les pesticides reste le même depuis plus de dix ans (14%) [36].

2.2.2 Ecotoxicité

Les pesticides peuvent engendrer une pollution diffuse et chronique et/ou aigüe et accidentelles, lors de leur fabrication, transport, utilisation ou pendant l'élimination de produits en fin de vie, dégradés, inutilisés ou interdits.

En effet, même si la majorité des pesticides sont appliqués sur les parties aériennes des plantes, une bonne partie du produit atteint toujours le sol, où vivent les différents organismes constituant sa microflore [37]. Plus de 98% des insecticides et 95% des herbicides atteignent une destination autre que leurs espèces cibles [38]. Leur diffusion dans l'environnement peut engendrer des effets nocifs dans ses différents compartiments. Les premières espèces atteintes par ces effets sont souvent les organismes de la microflore du sol, essentiels au maintien de la fertilité.

L'intoxication des oiseaux et des mammifères par des pesticides est généralement le résultat d'empoisonnements secondaires suite à l'ingestion d'une nourriture contaminée au moment des pulvérisations ou en se nourrissant des cadavres empoisonnés par des pesticides. Ces

espèces peuvent également diffuser le contaminant, et parfois le bioconcentrer dans le réseau trophique. [39]

Bien que les sols agricoles soient le principal destinataire des pesticides, c'est les corps d'eau adjacents ces zones qui deviennent la destination principale des résidus de pesticides suite aux mouvements de lixiviation et de ruissellement. Introduits dans les eaux, les pesticides peuvent provoquer des dégâts importants dans la faune aquatique qui présentent souvent une sensibilité des plus élevées [40].

L'application intensive et répétée des pesticides au fil du temps, peut quant à elle augmenter la résistance des ravageurs aux matières actives et conduire à des épidémies.

Les effets néfastes des pesticides sur l'environnement dépendent de plusieurs facteurs [39] dont :

- **La toxicité du pesticide**
- **Les mesures prises lors de son application**
- **Les conditions météorologiques prévalant après l'application**
- **La persistance du pesticide dans l'environnement**

Par conséquent, l'évaluation des risques liés à l'impact des pesticides sur la santé humaine ou sur l'environnement n'est pas un processus facile et particulièrement précis en raison des différences dans les périodes et les niveaux d'exposition, des différents niveaux de persistance et de toxicité selon le pesticide appliqué, et les caractéristiques environnementales des zones où les pesticides sont habituellement appliqués. De plus, il faudrait prendre en compte des milliers d'espèces d'êtres vivants qui toutes réagissent différemment à l'exposition du polluant [39]

3. Dégradation microbienne des pesticides

Parmi les différents processus de transformation que peuvent subir les pesticides, la biodégradation semble souvent être la plus efficace.

Les microorganismes capables de dégrader les pesticides sont en majorité des bactéries et des champignons. En effet, certaines espèces de la microflore du sol peuvent rapidement développer une capacité de dégrader certains pesticides lorsqu'ils sont continuellement appliqués au sol. (Tableau 3)

La composition de la microflore étant très variable selon la nature des sols, leur pH et leurs teneurs en carbone organique et en minéraux argileux, la microflore dégradante ne se limite généralement pas à une seule espèce. Son activité dans le processus de dégradation dépend aussi bien de son patrimoine enzymatique qui détermine la nature des réactions chimiques, que de son environnement qui influence son développement et sa survie.

L'aspect fondamental de la dégradation microbienne est la catalyse des réactions chimiques par des enzymes. Ceci nécessite que les pesticides soient à l'état dissous dans la phase liquide du sol. On peut distinguer deux cas de figure :

- **Les réactions chimiques catalysées par des enzymes intracellulaires (endoenzymes)** qui nécessitent que les pesticides soient d'abord absorbés par le microorganisme avant d'être transformé ;
- **Les réactions chimiques catalysées par des enzymes extracellulaires**, où l'absorption du pesticide n'est pas nécessaire et les réactions peuvent avoir lieu directement dans le milieu [16].

Tableau 3: Exemples de bactéries capables de dégrader certains pesticides en culture pure [41].

Familles de pesticides	Bactéries
Hydrocarbures chlorés	
DDT	<i>Alcaligenes eutrophus</i>
Composés phénoxy : 2,4-D	<i>Alcaligenes eutrophus</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Arthobacter</i> <i>Pseudomonas cepacia</i>
Triazines : Atrazine	<i>Nocardia</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Rhodococcus</i>
Organophosphorés	
Parathion	<i>Flavobacterium ATCC 27551</i> <i>Pseudomonas diminuta</i>
Diazinon	<i>Flavobacterium ATCC 27551</i>
Fethion	<i>Bacillus</i>
Carbamates : Carbofuran	<i>Achromobacter</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Flavobacterium</i>
EPTC	<i>Arthrobacter</i> <i>Rhodococcus</i>

3.1 Facteurs de croissance des microorganismes dégradants

L'activité et la croissance des microorganismes sont influencées par des facteurs physiques, chimiques et biologiques [42].

3.1.1 Facteurs physiques

- **La température** influence profondément la multiplication et le métabolisme bactérien par action sur la vitesse des réactions biochimiques.
- **La disponibilité en eau** qui présente un facteur critique. Lorsque le potentiel hydrique devient très petit, toute activité microbienne cesse [16].
- **Les surfaces solides** qui influencent une grande partie de l'activité des microorganismes dans le sol [43, 44, 45]. Les effets des interactions des microorganismes avec ces surfaces sur la croissance bactérienne peuvent être très variés puisqu'elle peut être augmentée, diminuée ou rester non affectée.

3.1.2 Facteurs chimiques

- **L'oxygène.**
Les microorganismes du sol nécessitant des degrés variés d'oxygénation, un potentiel redox élevé (750 à 800mV) encourage le développement de populations aérobies susceptibles de dégrader de nombreux pesticides. Pour des potentiels moins importants, le milieu devient anoxique favorisant ainsi les populations microbiennes aérobies facultatives ou anaérobies strictes qui sont particulièrement efficaces pour la dégradation des composés halogénés [46].
- **Le pH** optimal pour le développement de la majorité des bactéries se situe entre 5 et 8,5. Il affecte la diversité puisqu'il joue un rôle important au niveau de la production d'énergie par la chaîne respiratoire, de la perméabilité membranaires et par conséquent des échanges et de l'activité métabolique puisque l'activité enzymatique est sensible aux variations de pH.
- **Les substances organiques et inorganiques.**
En effet, la teneur en carbone organique est souvent le facteur limitant pour la croissance et le développement des microorganismes hétérotrophes. Ce facteur est particulièrement important à considérer dans le cas de la dégradation de composés par co-métabolisme. Dans les milieux où la teneur en carbone organique est faible, certains microorganismes développent des propriétés physiologiques particulières pour survivre et se multiplier comme la diminution de la surface de contact de la cellule avec son milieu, l'augmentation de l'affinité enzyme-substrat et l'augmentation de l'efficacité des systèmes de transport intracellulaire [16].
- **Les adjuvants des produits phytosanitaires** entraînent des modifications des populations microbiennes, de l'activité globale de la microflore du sol et de l'activité spécifique de la microflore dégradante [47, 48, 49, 50]. Ils peuvent stimuler la dégradation du pesticides par un accroissement des populations microbiennes, due à la source additionnelle de carbone résultant des cellules microbiennes tuées par les adjuvants et facilement assimilable par la microflore survivante ou à certains adjuvants de formulations facilement assimilables, ou ralentir la dégradation du

pesticides en raison de l'altération des microorganismes dégradant et du piégeage de la matière active à l'intérieur de micelles de composés tensioactifs [16].

3.1.3 Facteurs biologiques

- **Les racines.**

D'un point de vue microbiologique, la rhizosphère est définie comme la zone d'influence du système racinaire sur la microflore tellurique. Dans cette zone, caractérisée par un important rapport de carbone provenant de la photosynthèse, la plante exerce une pression de sélection conduisant à augmenter la taille et l'activité des populations microbiennes. C'est ainsi que l'on a souvent observé une activité des populations microbiennes dégradantes plus intense dans cette partie du sol comparé à un milieu sans végétaux [51, 52].

- **Les interactions entre organismes,** dépendantes de la densité des populations présentes dans le sol. Elles peuvent s'avérer positives ou négatives [53].

3.2 Mécanismes de la dégradation microbienne

Il existe cinq mécanismes d'action employés par les microorganismes pour la dégradation des pesticides [54]. (Tableau 4)

Tableau 4: Les différents mécanismes impliqués dans la dégradation microbienne.

Mécanisme	Définition
Métabolisme direct	Les pesticides sont utilisés comme source d'énergie pour la croissance bactérienne.
Co-métabolisme	Les pesticides sont dégradés par les microorganismes mais ne sont pas utilisés comme source d'énergie.
Conjugaison	Réactions chimiques catalysées par des enzymes extracellulaires entre les pesticides eux-mêmes ou avec d'autres constituants du sol.
Accumulation	Les pesticides et/ou leurs métabolites sont stockés dans des cellules microbiennes sans être dégradés. (Stabilisation).
Effets secondaires	Résultats de l'activité microbienne qui peut apporter des modifications à l'environnement chimique (consommation d'oxygène, production de composés chimiques) et à l'environnement physicochimique (variation du pH) facilitant ou limitant ainsi les transformations chimiques que subissent les pesticides.

Parmi ces cinq mécanismes, uniquement les trois premiers (métabolisme direct, co-métabolisme et conjugaison) peuvent être considérés comme de véritables mécanismes de dégradation puisqu'ils conduisent à la modification de la composition et de la structure chimiques des microorganismes.

3.2.1 Le métabolisme direct

Beaucoup de pesticides peuvent être utilisés comme substrats par les microorganismes. Certains microorganismes, dont la plupart sont des bactéries, peuvent aboutir jusqu'à la minéralisation d'un pesticide tandis que d'autres peuvent uniquement transformer les pesticides partiellement, ce qui nécessite l'intervention d'un consortium de microorganisme pour obtenir une minéralisation [41]. Ceci peut être observé dans le cas des champignons qui effectuent uniquement des changements structurels mineurs à la molécule pour la rendre non toxique. Le pesticide biotransformé est libéré dans l'environnement où il est plus susceptible d'être dégradé par des bactéries. Un autre exemple peut être observé dans la minéralisation du dalapon (herbicide, acide 2,2-dichloropropionique), effectuée par l'intervention de sept espèces différentes [55].

L'utilisation des pesticides comme substrats par les microorganismes possède des caractères généraux [56]:

- La cinétique est caractérisée par une **phase de latence** suivie par une phase de minéralisation rapide ;
- **L'application ultérieure de pesticide fait disparaître la phase de latence ;**
- Il est tout à fait possible de **transférer la capacité de minéralisation d'un milieu traité vers un autre non traité ;**
- Un milieu où s'effectue la minéralisation contient des **microorganismes spécifiques** capables de dégrader le pesticide en question ;
- **La vitesse de minéralisation augmente suite à des applications successives.**

La dégradation d'un pesticide se déroule suivant une chaîne de réactions chimiques dont la première est une hydrolyse, une oxydation, une réduction ou une addition, suivie par d'autres types de transformation. Ceci est traduit par toute une gamme de biodégradabilité et par conséquent de degrés variable de récalcitrance.

Différentes approches ont été utilisées pour tenter de relier certaines propriétés structurales à des caractéristiques de biodégradation. Ces travaux ont permis d'identifier les groupements fonctionnels favorisant la biodégradation [16]:

- En milieu aérobie, la **minéralisation est favorisée**, par importance décroissante, par les **groupes hydrolysables** (esters d'acides carboxyliques, amides et anhydrides d'esters d'acides phosphoriques), les **groupes hydroxyles, formyles et carboxyles**.
- Les **groupes ne favorisant pas la minéralisation** sont les **carbones quaternaires, les azotes tertiaires, les halogènes et les groupes nitro**, particulièrement les structures aromatiques.

3.2.2 Le co-métabolisme

Le co-métabolisme est la transformation d'un pesticide ne servant pas à la division cellulaire en présence obligatoire d'un substrat de croissance ou d'autres composés assimilables (Figure 2). Il s'agit d'un métabolisme dont les réactions initiales sont catalysées par des enzymes peu spécifiques [54]. C'est un mécanisme de dégradation très fréquent et les champignons y sont particulièrement impliqués en raison de l'abondance de leur système enzymatique à large spectre d'activité [57].

Le co-métabolisme ne peut généralement pas aboutir à une dégradation complète et produit des métabolites plus ou moins transformés comparés à la molécule initiale. Toutefois, lorsque plusieurs souches sont impliquées et interviennent en séquence, il est possible d'atteindre une dégradation plus poussée, voire même utiliser certains métabolites comme substrats énergétiques et les minéraliser [16].

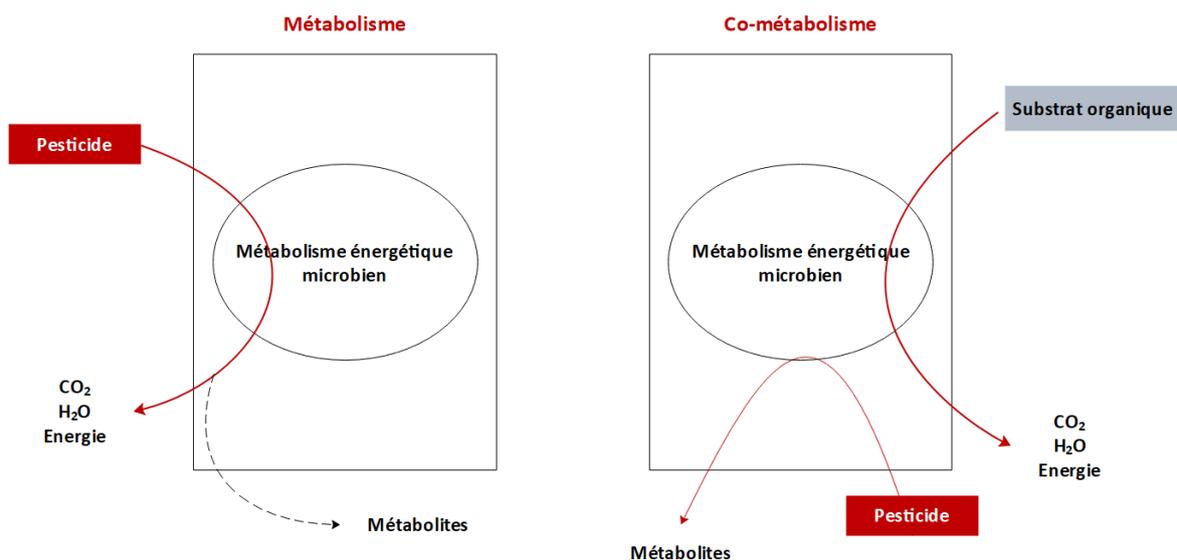


Figure 2: Schéma comparatif entre le métabolisme et le co-métabolisme des pesticides par les microorganismes

3.2.3 La conjugaison et la condensation

Les exoenzymes, produites par la microflore, sont susceptibles de catalyser des réactions de conjugaison et de condensation des molécules de pesticides, que ce soit entre elles ou avec d'autres composés organiques présents dans le milieu [54].

- **La conjugaison** conduit à l'union de deux molécules. La méthylation et l'acétylation par la microflore du sol sont deux exemples connus de cette réaction. A titre d'exemple, on peut citer la méthylation du pentachlorophenol par une culture de *Trichoderma viride* [58] et l'acylation de dérivés de l'aniline, métabolites fréquents de la dégradation des pesticides, par des cultures de *Talaromyces wortmanii* et de *Fusarium oxysporium* [59]
- **La condensation** conduit à la réunion de 2 à 5 molécules et polycondensats de taille moléculaire plus importante quand un plus grand nombre de molécule est impliqué. Des réactions de condensation ont été observées entre des amines aromatiques, métabolites de pesticides, et divers acides phénoliques présents dans les substances humiques.

Les réactions de polycondensation induites par les microorganismes jouent un rôle important dans l'incorporation des pesticides dans les substances humiques [60] et contribuent à la formation des résidus liés.

3.3 Les réactions principales de la dégradation biotiques et les enzymes impliqués

3.3.1 Réactions de dégradation biotique

Toutes les réactions mises en jeu lors de la dégradation microbiennes des pesticides ont la caractéristique commune d'être catalysées par des enzymes qui, pour la majorité, sont intracellulaires. Cela implique que ces réactions ont lieu à l'intérieur des cellules microbiennes et que le pesticide est d'abord absorbé par ces dernières. Les réactions chimiques impliquées sont principalement l'hydrolyse, l'oxydation, la réduction et la conjugaison/condensation. Elles se succèdent constituant des chaînes réactionnelles appelées voies métaboliques [16].

3.3.2 Les enzymes de la dégradation

En raison de l'abondance et de la diversité de sa microflore, le sol contient un grand nombre d'enzymes différentes. A l'extérieur des corps microbiens, ces enzymes peuvent essentiellement être observées adsorbées sur les minéraux ou complexées par les substances humiques. Elles existent en très petites quantités à l'état libre dans la solution du sol puisqu'elles sont rapidement dégradées. Les enzymes nécessaires à la minéralisation des pesticides sont rarement retrouvées dans une seule espèce microbienne. Un consortium est souvent nécessaire pour y aboutir [56].

La dégradation de nombreux pesticides fait intervenir des enzymes qui ne sont pas nécessairement spécifiques et qui sont impliquées dans la transformation chimique de composés organiques naturels. Très peu d'enzymes adaptées à des pesticides particuliers ont donc pu être isolées et étudiées [54]. Cependant, beaucoup de pesticides ont une structure chimique différente des composés naturels et leur dégradation est assurée par une évolution de l'équipement enzymatique des microorganismes.

3.3.3 Evolution de l'équipement enzymatique

Grâce aux échanges de gènes facilités par la très grande diversité de la microflore du sol, les microorganismes peuvent acquérir de nouvelles aptitudes à la dégradation suite à des modifications de leur patrimoine génétique par des remaniements, des transferts de gènes et des mutations [61].

Lors des recombinaisons génétiques, des réarrangements, des duplications de gènes ou des insertions peuvent conduire à l'adaptation des microorganismes qui ne possédaient pas initialement les enzymes appropriés [62]. Trois voies d'échanges sont connues pour le transfert de matériels génétiques entre les souches :

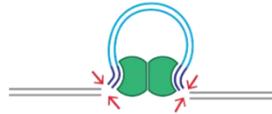
- **La conjugaison via des plasmides** (Figure 4) ;
- **La transposition via des transposons** (Figure 3) ;
- **La transformation par l'intermédiaire de l'ADN chromosomique.**

Les deux premières voies étant les plus fréquentes.

Transposase binding



Cleavage



Target capture and strand transfert

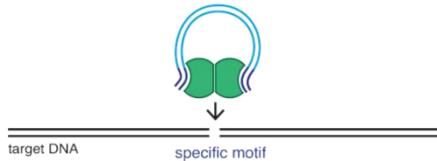


Figure 3: Mécanisme de la transposition via transposon. [102]

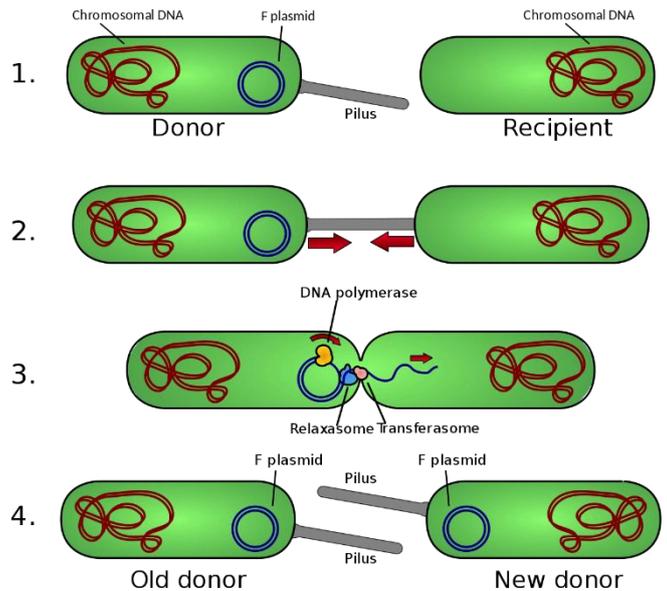


Figure 4: Mécanisme de la conjugaison via plasmide. [103]

3.3.4 Dégradation due à des enzymes extracellulaires

Les exoenzymes sont surtout associées à la phase solide, étant peu abondantes dans la phase liquide. Ceci implique que leur accès est physiquement limité et que leur activité peut être modifiée. En effet, l'adsorption par les minéraux argileux change les paramètres cinétiques enzymatiques. V_{max} diminue et le pic d'activité est décalé vers des valeurs de pH plus élevées par rapport aux réactions en solution [63]. La vitesse des réactions catalysées par ces enzymes dépend essentiellement de la vitesse d'accès des molécules de pesticides aux surfaces qui retiennent les enzymes.

3.3.5 Dégradation due à des enzymes intracellulaires

Contrairement aux autres phénomènes de dégradation, la dégradation microbienne par endoenzymes fait intervenir la croissance microbienne comme facteur supplémentaire. La vitesse de cette dégradation est déterminée par :

- **La vitesse de passage des pesticides en solution** (vitesses de dilution, de désorption et de libération) ;
- **Le transport des pesticides dans les phases liquides mobiles et immobiles**
- **Les vitesses de transformation** qui sont à leur tour dépendantes des vitesses d'absorption, des réactions enzymatiques et de la croissance microbienne.

L'analyse de la vitesse de la dégradation montre qu'elle est toujours le résultat de couplage entre, d'une part, les phénomènes de rétention/mobilisation et de transport, et d'autre part, les réactions chimiques abiotiques en solution ou en phase adsorbée et les réactions chimiques enzymatiques, surtout dans les corps microbiens [16].

4. Généralités sur l'abamectine

4.1 Définition

L'abamectine, également appelé avermectine B_1 est une lactone macrocyclique naturelle, produit de fermentation issu d'une souche de *Streptomyces avermitilis* découverte par la collaboration de l'institut de Kitasato et de Merck Sharp & Dohme en 1979 [64]. C'est un mélange de deux homologues, l'avermectine B_{1a} (plus de 80%) et l'avermectine B_{1b} (moins de 20%) [65]. (Figure 5)

L'abamectine possède de puissantes activités anthelminthiques et insecticides. Elle est largement utilisée contre un large spectre d'endoparasites et d'ectoparasites chez les animaux et contre différents parasites phytophages des grandes cultures, des plantes ornementales, des légumes et des fruits mais également pour lutter contre les fourmis rouges [66].

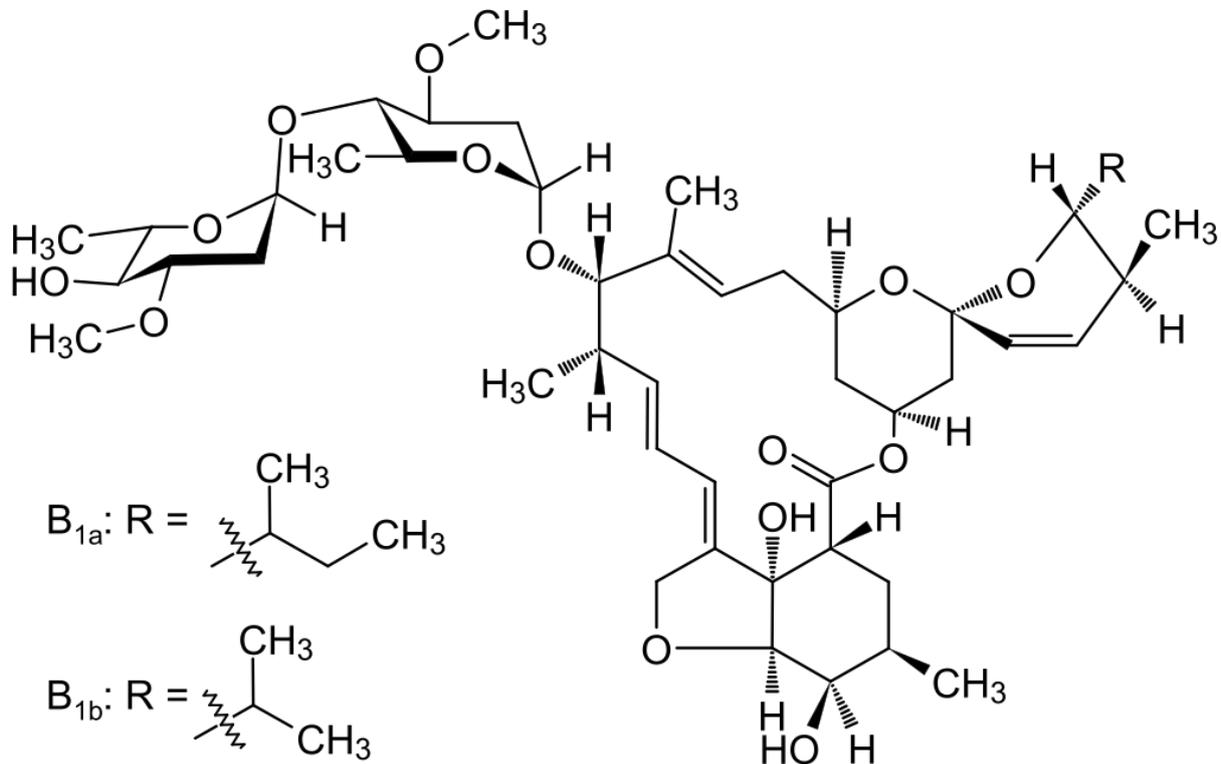


Figure 5: Structure chimique de l'abamectine.

Tableau 5: Propriétés physico-chimique de l'abamectine. [65]

Nom	Abamectine
Formule brute	Avermectine B_{1a} : $C_{48}H_{72}O_{14}$ Avermectine B_{1b} : $C_{47}H_{70}O_{14}$
IUPAC	Avermectine B_{1a} : (10E,14E,16E,22Z)- (1R,4S,5'S,6S,6'R,8R,12S,13S,20R,21R,24S)-6'-[(S)-secbutyl]-21,24-dihydroxy-5',11,13,22-tétraméthyl-2-oxo-3,7,19-trioxatétracyclo[15.6.1.14,8.020, 24]pentacosa-10,14,16,22-tétraène-6-spiro-2'-(5',6'-dihydro-2'H-pyran)-12-yl 2,6-didéoxy-4-O-(2,6-didéoxy-3-O-méthyl-a-L-arabinohexopyranosyl)-3-O-méthyl-a-L-arabino-hexopyranoside Avermectine B_{1b} : (10E,14E,16E,22Z)- (1R,4S,5'S,6S,6'R,8R,12S,13S,20R,21R,24S)-21,24-dihydroxy-6'-isopropyl-5',11,13,22-tétraméthyl-2-oxo-3,7,19-trioxatétracyclo[15.6.1.14,8.020,24]pentacosa-10,14,16,22-tétraène-6-spiro-2'-(5',6'-dihydro-2'H-pyran)-12-yl 2,6-didéoxy-4-O-(2,6-didéoxy-3-O-méthyl-a-L-arabinohexopyranosyl)-3-O-méthyl- a-L-arabino-hexopyranoside
N° CAS	71751-41-2
Etat physique	Solide
Apparence	Poudre blanchâtre à jaune, inodore, lipophile
Solubilité	Peu soluble dans l'eau. Soluble dans les solvants organiques
Stabilité	Stable à l'hydrolyse dans des solutions aqueuses à pH 5,7 et 9 (25 ° C).
Masse molaire	Avermectine B_{1a} : $873,07875\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ Avermectine B_{1b} : $859,052132\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Point de fusion	150 - 155°C
Densité	1,16
Pression de vapeur	0,2 μPa
Coefficient de partage n-octanol / eau (log P_{ow})	3,96 à 20 °C et pH 6,9

4.2 Mode d'action

Les avermectines sont classées comme neurotoxines. Ils ciblent le système nerveux des parasites en interagissant avec les canaux GluCl (chlorure dépendant du glutamine) et/ou l'acide g-amino-butérique (GABA). Le GABA est un neurotransmetteur reliant entre les cellules nerveuses et musculaires [67].

Chez les invertébrés, les canaux GluCl sont supposés être la cible principale des avermectines

et sont vitaux pour le contrôle des fonctions des invertébrés. Bien que la fonction physiologique précise de ces canaux ne soit pas bien comprise, il a été démontré qu'en présence d'ivermectines, le canal chlorure reste ouvert, provoquant ainsi un afflux important de chlorure, ce qui perturbe la transmission du signal neuronal. Les parasites exposés sont paralysés par la suite, ce qui entraîne des mouvements non coordonnés, la famine et finalement, la mort par inhibition du pompage du pharynx [68].

Toutefois, ce mode d'action n'est pas spécifique aux parasites et est donc capable d'affecter d'autres organismes présents dans l'environnement [69].

4.3 Dégradation et persistance de l'abamectine dans l'environnement

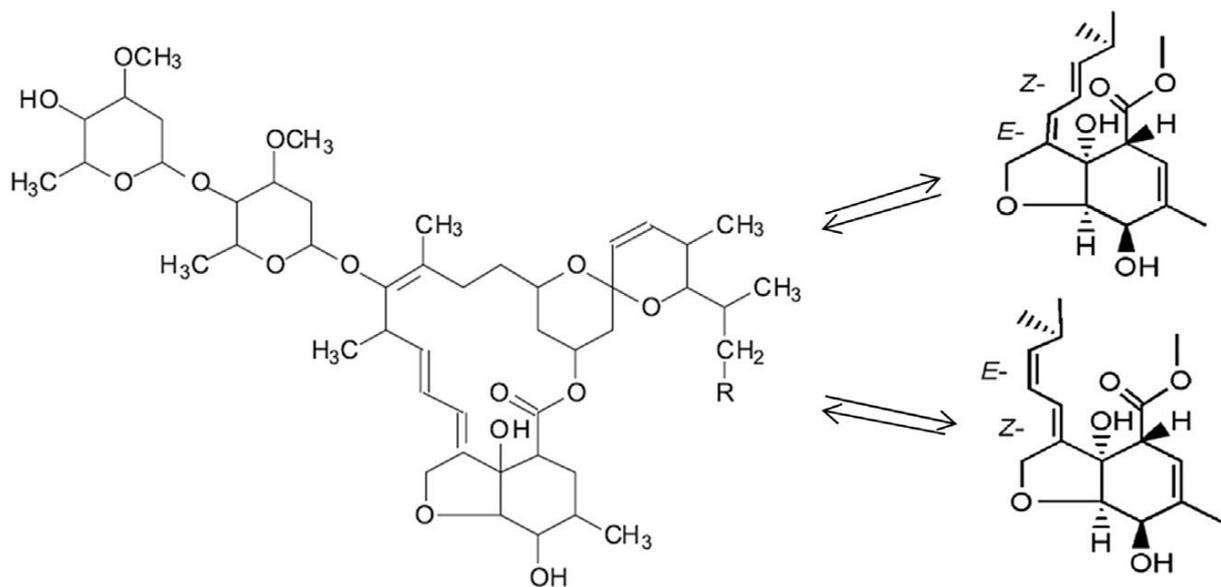


Figure 6: Photo-isomérisation de l'abamectine sous lumière UV. [68]

En présence de lumière, La photodégradation est la principale voie de dégradation pour les membres de la famille de l'ivermectine [70, 71]. L'abamectine, tout comme l'ivermectine, peut être rapidement dégradée lorsqu'elle est exposée à la lumière que ce soit à la surface des plantes, dans le sol, dans les excréments ou dans l'eau [70]. La photodégradation se produit à des longueurs d'onde spécifiques inférieures à la plage UV-B [72] (Figure 6). En l'absence de lumière ultraviolette, ces composés peuvent également subir une dégradation par des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) [72].

Récemment, il a été montré que l'ivermectine B_{1a} peut produire différents produits par différentes voies de dégradation, notamment un réarrangement formant un isomère 8,9-Z, une hydroxylation formant une 8a-hydroxy-ivermectine B_{1a} , une oxydation formant une 8a-oxo-ivermectine B_{1a} , une déméthylation formant une 3''-O-désméthylivermectine B_{1a} et une photolyse formant un dérivé de l'acide acétique [73]. Encore plus récemment, la biodégradation de l'abamectine par la bactérie du sol ZJB-14120 (*Stenotrophomonas maltophilia*) [74] et GB-01 (*Burkholderia sp.*) [66, 75] a été rapportée. Cela peut constituer une voie de dégradation particulièrement importante pour l'abamectine qui a été

immobilisée en se liant à la matière organique, à l'argile et aux minéraux contenus dans le sol.

Les produits de dégradation de l'abamectine peuvent également varier dans le sol, l'eau et les plantes en fonction des conditions environnementales [72, 73]. Par exemple, dans des conditions de laboratoire dans le sol, les produits de dégradation de l'ivermectine B_{1a} seraient la 8a-hydroxyivermectine B_{1a} et l'aldéhyde à cycle ouvert correspondant [76, 77]. Alors que dans les liquides, à une lumière UV de 300 nm, le groupe fonctionnel diène de l'abamectine a été transformé en 14,15-Z et 16,17-Z en moins d'une heure [78]. Chez les plantes, l'ivermectine B_{1a} se dissipe très rapidement, produisant plusieurs composés différents. Cependant, seul l'isomère 8,9-Z (isomère d-8,9) de l'ivermectine B_{1a} est considéré comme présentant une importance toxicologique majeure [73].

La demi-vie des membres de la famille des ivermectines peut varier entre 0,5 et 23 jours sur différents substrats, notamment le sol, les matières fécales et la surface des plantes. Bien que la demi-vie des ivermectines dans l'eau puisse être courte (quelques heures), si le composé est adsorbé sur les sédiments, la demi-vie peut devenir assez longue (jusqu'à 100 jours) [79].

Dans le sol, une longue demi-vie de l'ivermectine a été observée, mais les taux de détection étaient relativement faibles et le taux d'application était 50% plus élevé que les recommandations du fabricant et l'application a été multipliée par trois. En conséquence, il a été conclu que la détection des résidus dans le sol et la demi-vie en milieu agricole seraient probablement inférieures à celles rapportées dans les recherches [79]. La persistance de l'abamectine dans le sol serait fonction de la dose.

L'abamectine et la doramectine ont été détectées jusqu'à 70 jours après le traitement des moutons dans le sol, les fèces et les matières fécales du sol, mais la concentration d'abamectine au 6ème jour était faible (<1,4 mg kg⁻¹ sol sec) dans un sol sec [80]. Une telle détection prolongée de la doramectine a par la suite été liée à des conditions sèches et, par conséquent, ces auteurs ont conclu que les conditions météorologiques étaient l'un des facteurs déterminants de la dégradation de l'ivermectine [80]. La demi-vie des membres de la famille de l'ivermectine semble varier considérablement selon les conditions du terrain. Par conséquent, il est nécessaire d'entreprendre des recherches dans différents paysages et sous différentes conditions climatiques et de compléter des méta-analyses de données existantes afin de mieux comprendre la persistance des membres de la famille de l'ivermectine dans l'environnement.

4.4 Effets éco-toxicologiques

L'abamectine a des effets sur la reproduction, la fonction biologique et la survie d'organismes terrestres non ciblés qui jouent un rôle important dans le réseau alimentaire. A titre d'exemple, les abeilles ont une très faible DL50 par contact et orale (0,002 et 0,009 mg, respectivement [76]) et, compte tenu de leur exposition potentielle par contact avec le feuillage pulvérisé et butinage dans des fleurs contaminées, pourraient présenter un risque particulier de toxicité. Cependant, l'exposition aux plantes traitées 24h après l'application de l'abamectine ne présentait aucune toxicité sur les abeilles [76, 81]. Malgré cela, il n'est pas recommandé d'appliquer l'abamectine lors de la floraison des plantes [73].

En outre, l'abamectine pouvant s'écouler des sites d'application, il est donc possible que son utilisation à des fins agricoles ou son administration à des animaux entraînent son introduction indirecte dans des plans d'eau avoisinants, entraînant l'exposition d'organismes aquatiques. En raison de sa forte toxicité, même à de très faibles concentrations, le composé pourrait avoir des effets néfastes sur le milieu aquatique.

L'évolution de la résistance des ravageurs à l'abamectine est une autre préoccupation écotoxicologique puisqu'elle est susceptible d'entraîner une utilisation accrue. Cependant, il a été démontré que cette résistance n'est pas stable [82, 83] et dans le cas de *T. urticae* avait diminué de 75% à 15% dans les six mois suivant l'arrêt de l'application de l'abamectine [82]. Par conséquent, il est préconisé d'espacer l'application de l'abamectine de quelques générations pour permettre à la résistance évoluée de disparaître [84].

Une intoxication aiguë chez l'homme semble peu probable après qu'un patient ait pris cinq fois la dose létale d'abamectine (51 mg kg⁻¹) déclarée, s'était complètement rétabli après un traitement immédiat [85]. La toxicité chronique et subchronique à de faibles expositions peut être plus préoccupante. Cependant, aucune étude solide n'est disponible et, par conséquent, l'ampleur de la toxicité potentielle pour les humains ou les animaux d'ordre supérieur reste mal comprise.

L'Autorité européenne de sécurité des aliments (2015) a conclu que l'abamectine n'avait pas de potentiel cancérigène. Cependant, deux études rapportent une diminution de la qualité et / ou de la mobilité des spermatozoïdes chez l'homme ou le rat à la suite d'une exposition à l'abamectine lorsqu'elle est utilisée dans la protection des cultures [86]. L'abamectine est classée dans la catégorie «H360, dommages possibles à la fertilité et au fœtus » à la suite de l'observation de plusieurs malformations dans les études de tératogénicité chez le rat et le lapin [73].

Tableau 6: Toxicité de l'abamectine dans différents groupes d'espèces non ciblées. [68]

Espèce non ciblée	DL50 ou CL50	Toxicité relative
Rat	Voie orale : 10mg.kg ⁻¹	Très toxique
Lapin	Voie cutanée > 2000 mg.kg ⁻¹	Légèrement toxique
Caille	> 2000 mg.kg ⁻¹	Non toxique
Abeilles	> 0.009 mg.abeille ⁻¹	Hautement toxique
Truite (96 heures)	> 0.004 mg.L ⁻¹	Très hautement toxique
Ver de terre (14 jours)	33 mg.kg ⁻¹	Modérément toxique
Canard	< 77 mg.kg ⁻¹	Hautement toxique
Daphnie (48 heures)	0.0001 mg.L ⁻¹	Hautement toxique
Moucheron (28 jours)	0.000081 mg.L ⁻¹	Hautement toxique
Lentille d'eau (7 jours)	3.9 mg.L ⁻¹	Modérément toxique

4.5 Traitements et Bioremédiation

A l'heure actuelle, les publications sur la biodégradation de l'abamectine restent limitées. Notre recherche bibliographique a abouti à uniquement trois souches identifiées capables de dégrader l'abamectine d'une manière efficace.

La première souche bactérienne LYH, dégradant l'abamectine, a été isolée directement à partir des boues activées de la station de traitement des eaux usées à l'usine de fabrication du pesticide. Elle a été identifiée comme étant une espèce de *Bacteroidetes endosymbiont* par analyse de séquence d'ADNr 16S et tests physio-biochimiques, respectivement. [87]

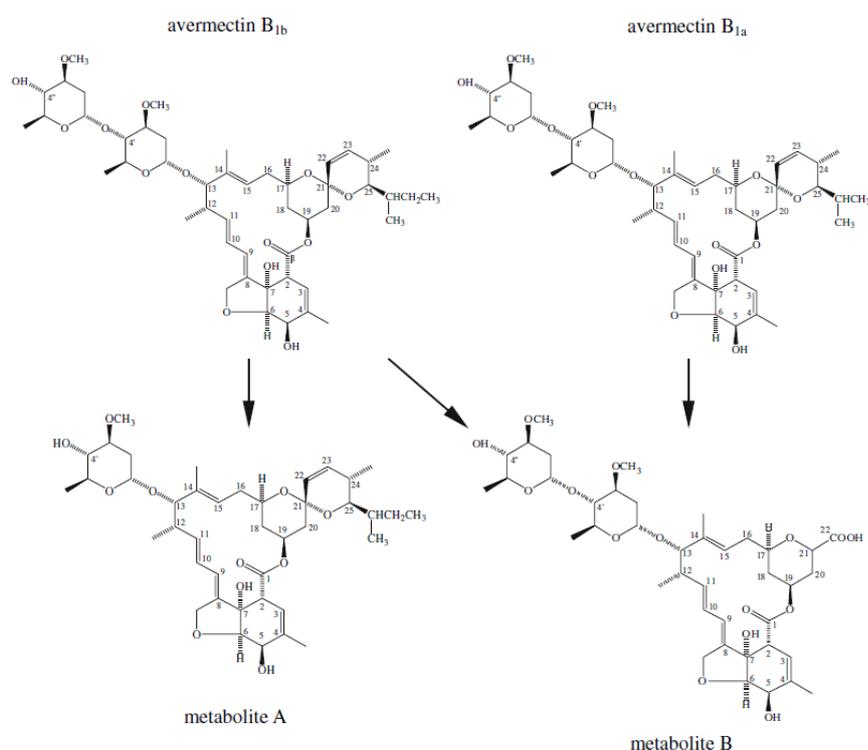


Figure 7: La voie de biodégradation de l'abamectine par la souche LYH. [87]

La deuxième souche, GB-01, capable de dégrader l'abamectine, a été quant à elle isolée du sol par une méthode de culture par enrichissement. Elle a ensuite été identifiée, suivant le même protocole que la première souche, comme étant une espèce du type *Burkholderia cepacia* [66]. Cependant, ces tests ne pouvant pas à eux seuls différencier avec précision toutes les espèces du genre *Burkholderia*, la souche GB-01 a été soumise plus tard à une analyse taxonomique par une approche polyphasique, dans laquelle des informations phénotypiques, génotypiques et phylogénétiques ont été rassemblées pour conclure la classification de cette bactérie. Les résultats de l'analyse polyphasique ont conclu que la souche GB-01 est une souche atypique de l'espèce *Burkholderia diffusa* [75].

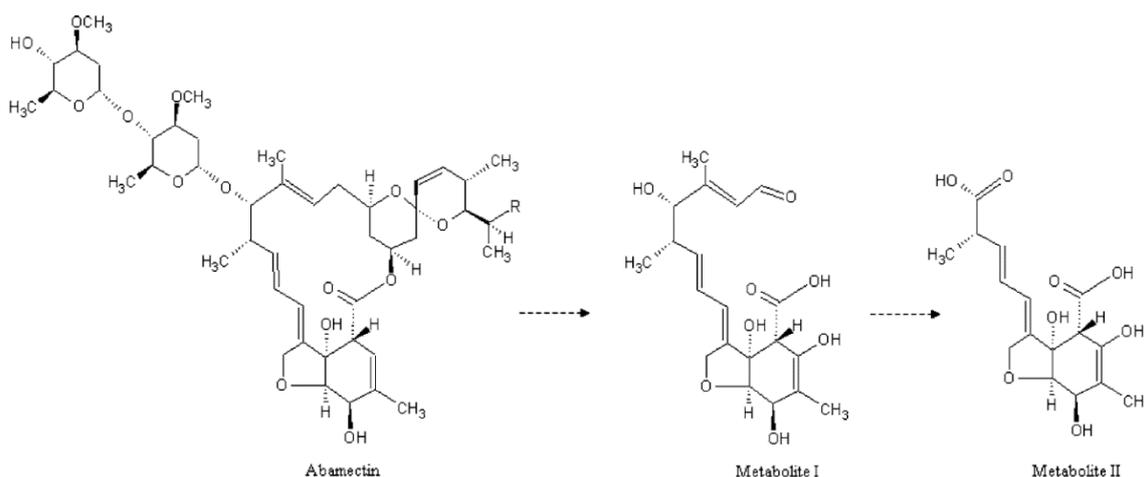


Figure 8: Voie de dégradation partielle proposée de l'abamectine par la souche GB-01 à partir de métabolites présumés. [66]

La troisième souche a été identifiée suite à une étude de la dynamique de dégradation de l'abamectine dans différents sols par une méthode de cubation. La bactérie dominante pouvant dégrader efficacement l'abamectine a été isolée d'un sol expérimental et a été identifiée par l'ADNr 16S comme étant *Stenotrophomonas maltophilia* ZJB-14120. Elle a réussi à dégrader 84,82% d'ABM à une concentration initiale de 200 mg. L^{-1} sur une période d'incubation de 48 h. [74]

Une nouvelle voie de dégradation successive a également été proposée sur la base de l'analyse des métabolites lors de cette même étude. Bien que des preuves d'inhibition par métabolites ont été trouvées, il a été démontré que cette souche présente une activité de dégradation et une capacité de réutilisation élevées de l'abamectine. Ceci implique que la souche ZJB-14120 pourrait permettre un traitement efficace à la fois des eaux et des sols contaminés par des niveaux toxiques d'abamectine.

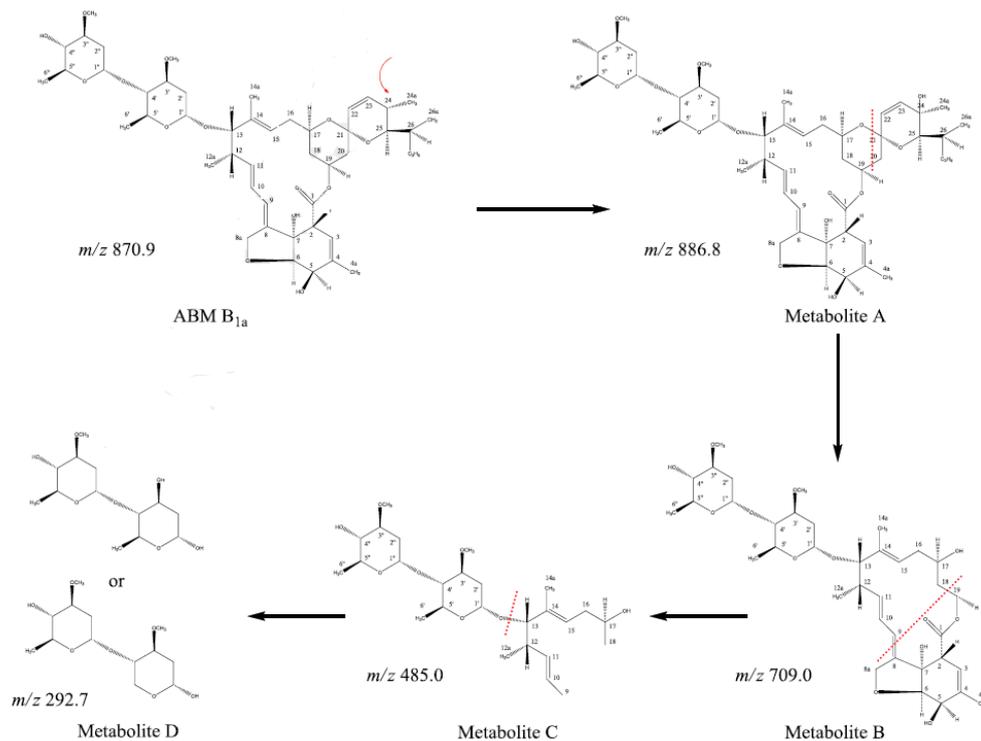


Figure 9: Voie de dégradation proposée d'ABM B_{1a} par la souche ZJB-14120 de *S. maltophilia*. [88]

D'autres études rapportent que le traitement de milieux contaminés par l'ABM à l'aide de procédés d'oxydation avancés (POA) semble donner des résultats satisfaisants. Une équipe de recherche brésilienne a réussi à obtenir un taux de traitement de 70% en 60min et une minéralisation en 180min d'une eau naturelle contaminée à l'abamectine en employant le procédé photo-Fenton, un exemple de POA. [88]

Afin d'améliorer l'efficacité de la dégradation, des méthodes hybrides comprenant deux processus POA individuels ou plus ont également été appliquées. Parmi Ces systèmes hybrides, la dégradation sonophotocatalytique, qui associe des ondes sonores ultrasonores, un rayonnement lumineux et un catalyseur, est une technique alternative, efficace et peu coûteuse de traitement des eaux usées. La combinaison de la photocatalyse et des ultrasons a montré des effets synergiques sur la dégradation de nombreux composés organiques, dont l'abamectine. Mosleh, S., & Rahimi, M. R. ont publié en 2017 une étude qui traite l'application de ce procédé comme technique suffisante pour la dégradation de l'abamectine, à l'aide d'un nouveau photocatalyseur MOF de Cu₂ (OH) PO₄-HKUST-1 commandé par la lumière visible. Ils ont réussi à obtenir une efficacité de dégradation maximale de 99,93%. [89]

Partie II

Etude expérimentale

5. Matériel et méthodes

5.1 Matériel biologique :

Le matériel biologique utilisé pour l'élaboration de ce travail provient d'un prélèvement de boues activées au sein de la station d'épuration de Réghaïa (SEAAL). Située à environ 35 kilomètres d'Alger, la station est limitée par le lac de Réghaïa au nord, un terrain agricole et la route nationale RN24 au sud et des zones d'habitation à l'est et à l'ouest. Elle a une capacité épuratoire de 400 000 eq.hab pour un débit moyen théorique de $80\,000\text{m}^3 \cdot \text{j}^{-1}$. Elle reçoit en moyenne $62\,300\text{m}^3 \cdot \text{j}^{-1}$ (2013) et produit 10 400 tonnes de boues à 33,2% de siccité.

Les boues activées ont été prélevées à partir de l'un des deux bassins d'aération. Chacun des deux bassins a un volume de 11866m^3 et est équipé de trois aérateurs de surface avec un diamètre de turbine de 2 900 mm, une capacité d'oxygénation de $207\text{kg d'O}_2 \cdot \text{h}^{-1}$, une capacité standard d'aération de $2,2\text{kg d'O}_2 \cdot \text{kWh}^{-1}$ et d'une puissance d'aérateur de $110\text{kW} \cdot \text{h}^{-1}$.

5.1.1 Entretien des boues activées

Avant de commencer le processus d'adaptation, les boues activées brutes ont été rincées d'abord avec l'eau du robinet puis avec de l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer tous les résidus et substrats solubles et adsorbés. Elles ont ensuite été entretenues pendant 4 jours dans un bioréacteur aéré de 2 litres en utilisant un milieu de culture composé de $2\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de glucose, $1\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de KH_2PO_4 et $1\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ d'urée. A l'aération a été assurée par un agitateur magnétique.

5.2 Matériel non biologique

Le pesticide utilisé (abamectine) nous a été fournis par l'unité de production ALPHYT de la société Algérienne des phytosanitaires qui est une filiale du groupe Asmidal, crée en 2003, pour formuler, la commercialiser et le développer des produits phytosanitaires.

L'abamectine se présente sous forme de poudre blanchâtre indolore.

5.3 Procédure d'acclimatation des boues activées à l'abamectine

Une technique de culture sélective a été utilisée pour sélectionner les microorganismes contenus dans la boue activée, capables d'utiliser l'abamectine comme substrats de croissance.

Une première phase d'acclimatation est donc nécessaire pour permettre aux microorganismes de synthétiser ou de réactiver les enzymes nécessaires à la dégradation du pesticide et de développer une résistance contre ses propriétés toxiques.

Ce processus d'adaptation a été effectué en cultivant la boue activée dans un milieu minéral liquide contenant à la fois le glucose et une concentration initiale d'abamectine, destinés tous deux à être utilisés comme source de carbone.

La composition du milieu de culture pour un litre d'eau distillée est indiquée dans le tableau.

Tableau 7: Composition du milieu de culture synthétique liquide.

Elément	Concentration ($g \cdot L^{-1}$)
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	2,0959
KH_2PO_4	0,4
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2
$CaCl_2$	0,02
NH_4NO_3	3
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,0178
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,05
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0,008
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,004
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0,0048
Glucose	3

Le pH a été ajusté à 7 avec des solutions de de NaOH et de HCl et le milieu a été ensuite stérilisé dans un autoclave à 121 °C pendant 15min avant d'être ensemencé avec les microorganismes.

On a ensuite introduit 12,5mL de boue activée (5% v/v) dans un erlenmeyer de 500mL contenant 235,5mL de milieu de culture auquel on a rajouté 10mg d'abamectine préalablement dissous dans 2mL d'éthanol.

L'erlenmeyer a été couvert de papier aluminium pour éviter la photodégradation du pesticide et son ouverture a été bouchée avec un coton pour éviter la contamination par les bactéries en suspension dans l'air tout en permettant une aération. Il a ensuite été incubé sur un agitateur magnétique à température ambiante (min 18°C ; max 29°C ; moy 23°C) et avec une vitesse d'agitation de 150tr/min pendant 4jours.

Après cette période, 12,5 mL de la culture ont été ensemencés dans un nouvel erlenmeyer puis complétés jusqu'à 250 mL avec un milieu de culture frais, auquel on a également rajouté la même concentration précédente d'abamectine. Les cultures obtenues ont été incubées dans les mêmes conditions. Cette opération a été répétée quatre fois.

Sélection de souche utilisant l'abamectine comme unique source de carbone

Pour essayer d'isoler des bactéries capables d'utiliser l'abamectine comme unique source de carbone, la culture obtenues à la fin de la phase d'acclimatation a été ensemencée, dans le même milieu de culture liquide précédent où l'on a rajouté cette fois 400mg/L d'abamectine. La concentration du glucose a été réduite graduellement de 3000mg/L jusqu'à la valeur de zéro tandis que celle de l'abamectine a été parallèlement augmentée de sa valeur initiale (400mg/L) jusqu'à 2000mg/L pendant une période de 23jours.

Les cultures obtenues ont été incubées dans les mêmes conditions précédentes (température ambiante (min 23°C ; max 33°C ; moy 27°C) ; 150tr/min).

5.4 Isolement et identification des microorganismes

5.4.1 Isolement

Afin de pouvoir examiner si des microorganismes ont réussi à métaboliser l'abamectine et éventuellement les identifier, 0,1mL de la culture a été étalé sur un milieu solide préparé en ajoutant 2% (p/v) d'agar au milieu liquide sélectif précédent. La culture a été incubée en position inversée à 37° C pendant 72h.

5.4.2 Identification

Le principe d'identification des souches bactériennes repose sur un schéma dichotomique. Un cheminement logique est suivi pour permettre d'éliminer, au fur et à mesure, certaines familles puis certains genres et enfin certaines espèces pour ne laisser que l'espèce la plus probable à la fin. Pour ce faire, plusieurs tests sont effectués.

Pour l'identification des souches bactériennes isolées lors de ce travail, chaque colonie purifiée a été prélevée et diluée dans 1mL d'eau physiologique. A partir de cette solution, nous avons d'abord procédé à des tests d'orientation (aspects et morphologies, observation microscopique après coloration de Gram, recherche des enzymes d'oxydase et de catalase) puis à des tests de confirmation à l'aide d'une galerie API20NE pour une identification définitive.

5.4.2.1 Coloration de Gram

Selon la méthode de coloration de Gram, les bactéries peuvent être regroupées en 2 catégories suivant les propriétés de leurs parois. Après coloration, les bactéries Gram+, dotées d'une simple paroi avec une grande quantité de peptidoglycane, deviennent violettes alors les bactéries Gram-, composées de moins de peptidoglycane mais pourvues d'une membrane externe supplémentaire, apparaissent en rose. Elle fournit également des indications sur la forme et la tailles des bactéries.

La coloration de Gram est réalisée en préparant des frottis à partir de souches bactériennes pures cultivées sur un milieu solide. Les frottis sont ensuite colorés, décolorés, recolorés et enfin observés au microscope optique.

Les étapes de la coloration : (Figure 10)

- Coloration par violet de gentiane ou cristal violet. Laisser agir pendant 30 secondes à 1 minute, puis rincer à l'eau.
- Mordançage au Lugol (solution d'iodure de potassium iodée) : étaler le Lugol et laisser agir aussi longtemps que le violet de gentiane ; rincer à l'eau déminéralisée.
- Décoloration (rapide) à l'alcool (+ acétone) : verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer abondamment avec de l'eau déminéralisée pour stopper la décoloration.

- Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Mettre de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de fuchsine. Laisser agir pendant 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 50°C.
- Observer avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement $\times 1000$).

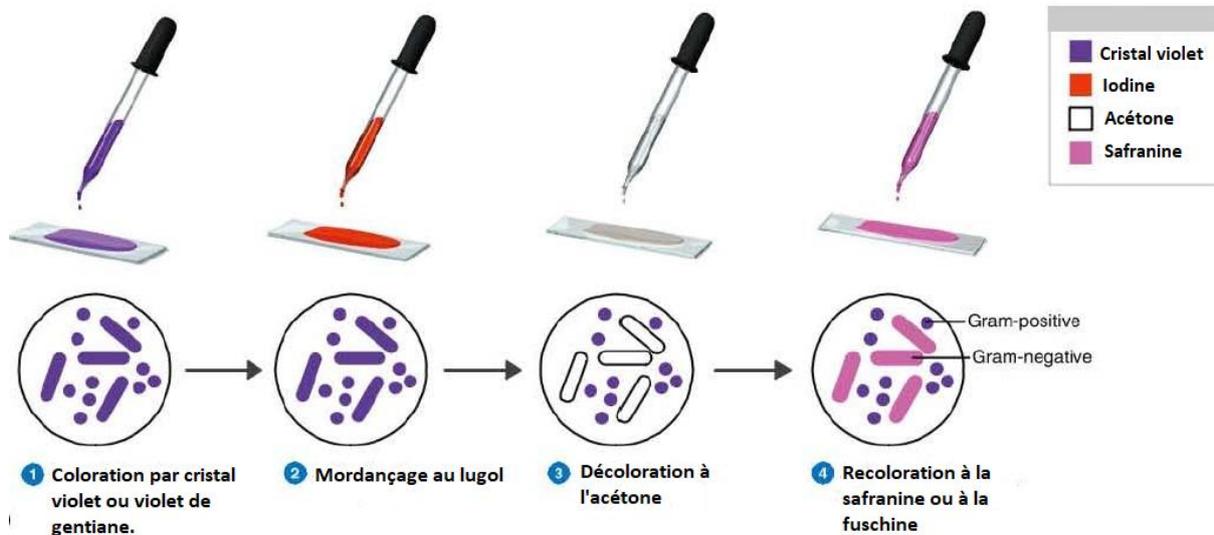


Figure 10: Les étapes de la coloration de Gram.

5.4.2.3 Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H_2O et $1/2 O_2$.



La recherche de la catalase est un test fondamental, notamment pour l'identification des bactéries à Gram positif.

Pour effectuer ce test, une colonie isolée est déposée à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur boullée sur une goutte de peroxyde d'hydrogène. Un dégagement gazeux facilement discernable indique une production d'oxygène et donc la présence de catalase.

5.4.2.4 Recherche de l'oxydase

La cytochrome oxydase ou oxydase est une enzyme de la chaîne respiratoire bactérienne qui catalyse des réactions d'oxydation du type :



En présence d'oxygène ambiant, cette enzyme peut oxyder un substrat incolore en un produit facilement repérable car coloré :



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

Pour effectuer ce test, un disque de papier filtre imbibé de réactif est déposé sur une lame de verre. Une colonie isolée est ensuite prélevée à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur boullée et écrasée sur le disque pendant une dizaine de seconde. L'apparition d'une coloration bleu foncé ou violette indique l'oxydation du réactif et donc que la souche est oxydase +.

Le réactif utilisé peut être de l'oxalate de N-tétraméthyl paraphénylène diamine t ou, à défaut, de l'oxalate de N-diméthyl paraphénylène diamine (moins sensible) n Xn.

5.4.2.5 Galerie API 20NE

API 20NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non enterobactéries et non fastidieux (ex. Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium, Moraxella, Vibrio, Aeromonas, etc.) combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données.

La galerie API 20NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

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.

Interprétation L'identification est obtenue à partir du profil numérique.

Détermination du profil numérique :

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21° test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

Identification :

Elle est réalisée à partir de la base de données (V7.0)

- À l'aide du Catalogue Analytique : Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.
- À l'aide du logiciel d'identification apiweb TM Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

6. Résultats et discussion

6.1 Résultats de l'ensemencement sur le milieu sélectif

Le milieu de culture liquide préparé a été préparé pour la sélection de souches microbiennes susceptibles d'utiliser l'abamectine comme source de carbone.

L'isolement de ces souches a été effectué sur un milieu de culture synthétique solide et incubé à 37 °C pendant 72h au bout desquelles une croissance bactérienne a été observée. Une seule souche a pu être distinguée.

6.2 Identification de la souche bactérienne mise en évidence dans le milieu sélectif solide

6.2.1 Etude morphologique de la colonie détectée

Tableau 8: Description morphologique de la colonie détectée.

Forme	Aspect	Couleur
Petite, circulaire, bord régulier	Lisse	Blanche

L'observation microscopique a montré qu'il s'agit de **bacilles**.

6.2.2 Etude biochimique

- Coloration de Gram

L'observation microscopique après la coloration de Gram a révélé que la souche isolée est **Gram négative**.

- Recherche des enzymes de la chaîne respiratoire

▪ Recherche de la catalase

Un dégagement gazeux a rapidement été discerné après l'étalement de la suspension bactérienne sur la goutte du peroxyde d'hydrogène. La souche mise en évidence est donc **catalase positive**, ce qui indique son appartenance au groupe des bacilles Gram négatif aérobies.

▪ Recherche de l'oxydase

Après avoir écrasée la colonie prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur, une coloration bleu foncé a rapidement pu être observée. Ceci indique que le résultat est positif et, combiné avec l'ensemble des résultats précédents, oriente la recherche vers des bacilles Gram négatifs, aérobies strictes, non fastidieux et n'appartenant pas aux entérobactéries tels que les genres *Pseudomonas* ou *Burkholderia*.

L'emploi d'une galerie API 20NE est donc nécessaire pour confirmer cette première approximation et effectuer une identification plus précise.

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

Les résultats des tests effectués avec la galerie API 20NE sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 9: caractéristiques biochimiques de la souche isolée obtenus avec une galerie API 20NE.

Test	Résultat
Nitrate réductase	+
Tryptophane	-
Glucose	-
ADH	-
Urée	-
Esculine	-
Gélatinase	-
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 de la souche isolée montrent qu'il s'agit d'une souche de : *Burkholderia cepacia*.

Tableau 10: Résultats d'identification obtenu avec la base de données APIweb (API 20NE V7.0)

Profil numérique	Résultat d'identification	Probabilité	Typicité	Incompatibilité	Test sur proba	Test sur typicité
1047757	Burkholderia cepacia	0,996	0,66	0	Excellente Id	TB Typicité
	Pseudomonas fluorescens	0,004	0,22	0	Mauvaise Id	Mauvaise typicité

6.3 Discussion des résultats obtenus

Dans cette étude, nous avons réussi à isoler une souche bactérienne capable de métaboliser et donc dégrader l'abamectine et l'utiliser comme unique source de carbone au cours de sa croissance. L'identification de cette souche a révélé son appartenance à l'espèce *Burkholderia cepacia*.

Ce résultat semble être en accord avec la littérature puisque la souche GB-01, également capable de dégrader l'abamectine, a d'abord été identifiée comme appartenant à l'espèce *Burkholderia cepacia* avant d'être reclassifiée comme étant une souche atypique de *Burkholderia diffusa* [75]. Ceci suggère que d'autres tests (analyse de séquence ARNr 16S, approche polyphasique) pourraient être nécessaires pour conclure la taxonomie de cette souche.

B. cepacia est généralement retrouvée dans les sédiments des rivières et les zones humides du sol autour des racines des plantes. C'est l'une des bactéries les plus adaptables et possède une incroyable capacité à survivre dans des environnements hostiles, y compris les désinfectants. Le sol contient de nombreux antibiotiques naturels contre lesquels *B. cepacia* est devenue tellement résistante qu'elle est même capable d'utiliser la pénicilline comme nutriment [90].

En microbiologie agricole, la conscience écologique et l'incidence croissante de pathogènes résistants aux pesticides ont suscité l'intérêt de *B. cepacia* comme agent potentiel de lutte biologique et de décontamination des sols. En effet, *B. cepacia* produit plusieurs agents antimicrobiens qui inhibent les phytopathogènes bactériens et fongiques et suppriment le flétrissement du tabac et d'autres maladies des plantes. *B. cepacia* est également capable de dégrader les déchets industriels et les herbicides, notamment l'acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique (2,4,5-T), principal ingrédient du très puissant « agent orange ». En effet, il a été démontré que *B. cepacia* dégradait le 2,4,5-T dans des sols fortement contaminés à un taux jusqu'à 20 000 fois supérieur à celui d'autres bactéries de dégradation connues. [91]

Burkholderia cepacia a déjà été isolée à partir des boues activées aérobies d'une station d'épuration pour sa capacité à synthétiser des polyhydroxyalcanoates (PHA), polymères naturels biodégradables et écologiques. [92]

Nous n'avons pas effectué de tests pour la caractérisation de la biodégradation de l'abamectine par la souche isolée, mais la bactérie GB-01, appartenant également au genre *Burkholderia* et initialement identifiée comme *B. cepacia*, a été capable d'utiliser l'abamectine comme seule source de carbone pour sa croissance et de dégrader plus de 90% du pesticides à des concentrations initiales de 50 et 100 $mg \cdot L^{-1}$ dans un milieu salin minéral en 30 et 36 h, respectivement. Le cycle de dégradation le plus long a été observé avec des concentrations d'abamectine supérieures à 100 $mg \cdot L^{-1}$. Les températures de croissance optimales et les valeurs de pH avec le taux de dégradation le plus élevé étaient respectivement comprises entre 30 et 35 ° C et entre 7 et 8. Deux nouveaux produits de dégradation ont été identifiés et caractérisés par spectrométrie de masse à haute

performance basée sur la chromatographie en phase liquide et tandem (HPLC-MS / MS) et une voie de dégradation partielle plausible de l'abamectine a été proposée. [66]

Les conditions optimales pour l'exploitation de la bactérie GB-01 dans la bioremédiation des sols contaminés par l'abamectine ont ensuite été déterminé et il s'est avéré que l'efficacité de la dégradation de l'abamectine dans le sol par la souche GB-01 dépend du pH du sol, de la température, de la concentration initiale en abamectine et de la taille de l'inoculum, ainsi que de la fréquence d'inoculation. Des études d'induction ont montré que l'épuisement de l'abamectine était plus rapide lorsque les cellules en dégradation étaient induites par une préexposition à l'abamectine [75]. Ceci est en accord avec l'approche que nous avons entrepris pour l'isolement de *B. cepacia* puisque nous avons d'abord effectué une phase d'acclimatation, préexposant ainsi les microorganismes de la boue activée à une petite quantité du pesticide (10 mg. l^{-1}) avant d'augmenter sa concentration graduellement, parallèlement à la diminution de celle du glucose.

Des expériences effectuées avec des concentrations variables (2 à 160 mg. kg^{-1}) de sols enrichis en abamectine ont montré que la souche GB-01 pouvait dégrader efficacement l'abamectine dans une plage allant de 2 à 40 mg. kg^{-1} . Les doses utilisées étaient supérieures à la dose recommandée pour une application agricole d'abamectine, compte tenu des situations de surutilisation ou de déversement. Une densité cellulaire d'environ $10^8 \text{ cellules viables. g}^{-1}$ de poids sec de sol s'est avérée appropriée pour la bioremédiation sur une plage de température de 30 à 35 ° C et un pH du sol compris entre $7,5$ et $8,5$. [75]

En plus de la *Burkholderia* GB-01, deux autres souches, LYH (*Bacteroidetes endosymbiont*) et ZJB-14120 (*Stenotrophomonas maltophilia*) sont également capable de métaboliser l'abamectine.

Pour la souche LYH, également isolée de boues activées mais directement à partir de la station d'épuration de l'usine de fabrication de l'ABM, Une dégradation optimale a été enregistrée pour une température de 30 ° C, un pH de $7,0$ à $8,0$, et une vitesse d'agitation de 150 tr. min^{-1} . [87] (Figures 11, 12 et 13)

Parmi les trois, c'est ZJB-14120 qui semble présenter la tolérance la plus élevée ($1\ 000 \text{ mg. l}^{-1}$) envers l'ABM et le meilleur taux moyen de dégradation ($7,81 \text{ mg. l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), soit $3,12$ fois et $1,72$ fois supérieur au taux de dégradation moyen de la souche LYH de *Bacteroidetes endosymbiont* ($2,5 \text{ mg. l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ en dessous de 250 mg. l^{-1} d'ABM) et *Burkholderia* GB-01 ($4,55 \text{ mg. L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ en dessous 100 mg. L^{-1} d'ABM), respectivement. [74]

A partir de ces données, il nous est impossible d'estimer le taux de dégradation de l'ABM dans les essais que nous avons effectués puisque nous avons utilisé des concentrations beaucoup plus élevées (jusqu'à $2\ 000 \text{ mg. l}^{-1}$) qui pourraient être susceptibles de diminuer l'efficacité du traitement, notamment parce que la souche GB-01, qui semble être similaire à celle que nous avons réussi à isoler, présentait la tolérance la moins élevée.

Toutefois, en prenant en considération l'exposition graduelle et continue que nous avons maintenue pendant une période relativement longue (18 jours d'acclimatation et 23 jours d'isolement, soient 51 jours) et la grande adaptabilité des *Burkholderia* nous pouvons émettre l'hypothèse d'un développement d'une tolérance plus élevée à l'abamectine chez la souche *B. cepacia* isolée.

Conclusion et perspectives

L'utilisation des pesticides est devenue indispensable dans l'agriculture moderne, pour pouvoir satisfaire à la demande alimentaire, mais elle n'est pas sans conséquences inquiétantes. Les pesticides pourraient avoir des effets irréversibles sur l'environnement et les écosystèmes. Il est donc impératif de contrôler la pollution générée par ces produits phytosanitaires et de développer des méthodes pour leur élimination des milieux naturels. La bioremédiation semble être parmi les solutions les plus promettantes.

Le travail que nous avons effectué avait pour objectifs de déterminer si des boues activées, prélevées de la station d'épuration de Réghaïa, seraient capables de dégrader l'abamectine, un pesticide particulièrement dangereux pour les abeilles et les espèces aquatiques, et d'isoler et d'identifier les souches dégradantes.

L'ensemble des essais et expériences effectués lors de ce travail nous ont permis d'isoler une souche microbienne capable d'utiliser l'abamectine comme unique source de carbone. Cette souche a ensuite été identifiée et il s'est avéré qu'il s'agit de l'espèce *Burkholderia cepacia*.

Les résultats obtenus suggèrent qu'il serait possible d'utiliser cette souche pour la bioremédiation des sols et des eaux contaminés par l'abamectine et potentiellement d'autres pesticides et substances xénobiotiques puisqu'il s'agit d'une bactérie saprophyte et très adaptable même aux milieux les plus hostiles.

En guise de perspectives, ce travail pourrait être complété et enrichi par plusieurs éventuelles études, dont :

- **Caractérisation et optimisation des paramètres régissant la biodégradation de l'abamectine ;**
- **Etude de l'efficacité de la souche sélectionnée à dégrader l'abamectine dans différents milieux et différentes concentrations ;**
- **Proposition des voies potentielles de la métabolisation de l'abamectine et identification des métabolites intermédiaires et terminaux ;**
- **Extraction et caractérisation des enzymes impliquées dans la dégradation de l'abamectine ;**
- **Etude d'un éventuel effet d'inhibition par le pesticide ou par les métabolites.**

Références bibliographiques

- [1] FAO, «Code de conduite international sur la gestion des pesticides,» 2015.
- [2] M. Idrissi, N. A. Daoud et R. S. Benchikh, «Pesticides: définitions et classification,» *Toxicologie Maroc*, vol. 4, pp. 3-4, 2010.
- [3] Inserm, «Notions générales sur les pesticides et leur utilisations en France,» chez *Pesticides : Effets sur la santé (Expertise Collective)*, Paris, Inserm, 2013, pp. 5-31.
- [4] J. L. Hazen, «Adjuvants—Terminology, Classification, and Chemistry,» *Weed Technology*, vol. 14, pp. 773-784, 2000.
- [5] S. Sayen et E. Guillon, «Transfert des produits phytosanitaires: du sol à l'eau,» *Techniques de l'ingénieur*, 2010.
- [6] W. Niessen, «Group-specific fragmentation of pesticides and related compounds in liquid chromatography-tandem mass spectrometry,» *J. Chromatogr. A*, 2009.
- [7] R. Kellogg, R. Nehring, A. Grube, D. Goss et S. Plotkin, «Environmental indicators of pesticide leaching and runoff from fields,» 2000.
- [8] M. Latijnhouwers, P. de Wit et F. Govers, «Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants,» *Trends in microbiology*, vol. 11, pp. 462-469, 2003.
- [9] ACTA, «Index phytosanitaire,» Association de Coordination Technique Agricole, Paris, 2006.
- [10] Comité Sécurité Alimentaire d'Aprifel, Pesticides, Risques et Sécurité Alimentaire, Paris: Aprifel, 2004.
- [11] H. Martin, «Classes de modes d'action des herbicides,» Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales, Canada, [En ligne]. Available: <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/00-062.htm>. [Accès le 3 05 2019].
- [12] Y. Pico, C. Blasco et G. Font, «Environmental and food applications of LC-Tandem mass spectrometry in pesticide-residue analysis: An overview,» *Mass Spectrometry Reviews*, vol. 23, p. 55, 2004.
- [13] *loi n°87-17 relative à la protection phytosanitaire*, 1987.
- [14] *Décret n°95-405 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole*, 1995.
- [15] *Décret n°10-69 fixant les mesures applicables lors de l'importation et l'exportation des produits phytosanitaires à usage agricole.*, 2010.
- [16] R. Calvet, E. Barriuso, C. Bedos, P. Benoit, M.-P. Charnay et Y. Coquet, Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales (Edition France

- Agricole), Paris: Dunod, 2005.
- [17] H. Blanchoud, E. Barriuso, M. Chevreuil, B. Guery, E. Moreau-Guigon, C. Schott, S. Théry et J. Tournebize, «Les pesticides dans le bassin de la Seine,» 2011.
- [18] L. Mamy, «Comparaison des impacts environnementaux des herbicides à large spectre et des herbicides sélectifs: caractérisation de leur devenir dans le sol et modélisation,» 2004.
- [19] R. A. Leonard, "Mouvement of pesticides into surface waters," in *Pesticides in the soil environment. Soil Science Society of America Book Series*, vol. 2, Madison, WI, 1990, pp. 303-349.
- [20] INRA; CEMAGREF, «Chapitre 3: Devenir et transfert des pesticides dans l'environnement et impacts biologiques,» chez *Pesticides, agriculture et environnement, Expertise Scientifique Collective*, INRA; Cemagref, 2005.
- [21] R. Calvet, Les pesticides dans le sol, France Agricole, 2005.
- [22] I. Scheunert, Transformation and degradation of pesticides in soil, Berlin: Springer-Verlag, 1992, p. 125.
- [23] M. Arias-Esvévez, E. Lopez-Periago, E. Martinez-Carballo, J. Merut et L. Garcia-Rio, «The Mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources,» *Agriculture, Ecosystems and Environment*, vol. 123, pp. 247-260, 2008.
- [24] A. Bérard et T. Pelte, «Les herbicides inhibiteurs du photo-systèmes II, effet sur les communautés algales et leur dynamique.,» *Revue des sciences de l'eau*, pp. 333-361, 1999.
- [25] A. W. Taylor and W. F. Spencer, "Volatilization and vapor transport processes,," in *Pesticides in the soil environment. Soil Science Society of America*, vol. 2, Madison, WI, pp. 213-269.
- [26] E. Atlas and S. Schauffler, "Concentration and variation of trace organic compounds in the north pacific atmosphere," in *Long range transport of pesticides*, Chelsea, Michigan: Lewis publishers, 1990, pp. 161-183.
- [27] R. D. Wauchope, «The pesticide content of surface water drainage from agricultural fields: A review.,» *J. Enviro. Qual*, vol. 7, pp. 459-472, 1978.
- [28] S. Larson, P. Capel, D. Goolsby, S. Zaugg et M. Sandstorm, «Relations between pesticide use and riverine flux in the Mississippi River basin,» *Chemosphere*, vol. 31, pp. 3305-3321, 1995.
- [29] W. Jury, D. Focht et W. Farmer, «Evaluation of pesticide groundwater pollution potential from standard indices of soil-chemical adsorption and biodegradation,» *J.*

- Environ. Qual*, vol. 16, pp. 422-428, 1987.
- [30] D. Gustafson, "Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability.," *Environmental Toxicology and Chemistry*, pp. 339-357, 1989.
- [31] A. Calderbank, «The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil,» *Reviews of environmental contamination and toxicology*, vol. 108, pp. 71-103, 1989.
- [32] S. Paterson, D. Mackay, D. Tam et W. Y. SHIU, «Uptake of organic chemicals by plants: a review of processes correlations and model,» *Chemosphere*, vol. 21, pp. 297-331, 1990.
- [33] E. Topp, I. Scheunert, A. Attar et F. Korte, «Factors affecting the uptake of ¹⁴C- labelled organic chemicals by plants from soil,» *Ecotox. Environ. Saf.*, vol. 11, pp. 219-229, 1986.
- [34] W. Hayes, «Dosage and other factors influencing toxicity,» chez *Handbook of Pesticide Toxicology*, San Diego, CA: Academic Press, 1991, pp. 39-105.
- [35] Direction de la toxicologie humaine, «Document d'appui à la définition nosologique,» Québec, 2007.
- [36] Centre Anti-Poison, Alger, 2011.
- [37] E. Russel, *Soil conditions and plant growth*, London: Longman, 1973.
- [38] G. T. Miller, *Sustaining the Earth: An Integrated Approach*, Thomson/Brooks/Cole, 2004, pp. 211-216.
- [39] H. M. van der Werf, «Evaluer l'impact des pesticides sur l'environnement,» *Courrier de l'environnement de l'INRA*, n° 31, août 1997.
- [40] D. Pimentel, H. Acquay, M. Biltonen, P. Rice, M. Silva, J. Nelson, S. Lipner, G. S. A. Horwitz et M. D'Amore, «Assessment of environmental and economic impacts of pesticide use,» chez *The pesticide question: environment, economics and ethics*, New York, Routledge, Chapman and Hall, 1993, pp. 47-84.
- [41] J. Aislabie et G. Lloyd-Jones, «A Review of Bacterial Degradation of Pesticides,» *Australian Journal of Soil Research*, vol. 33, n° 16, pp. 925-942, 1995.
- [42] O. Benslama, «Thèse de doctorat,» 2014.
- [43] M. V. Loosdrecht, J. Lykleme, W. Norde et A. Zehnder, «Influences of interfaces on microbial activity,» *Microbiological Review*, vol. 54, pp. 75-87, 1990.
- [44] C. Chenu et G. Stotzky, «Interaction between microorganisms and soil particles: an overview,» chez *Interactions between soil particles and microorganisms*, IUPAD Series on analytical and physical chemistry of environmental éd., vol. 8, Chichester, John

Wiley and Sons, Ltd, 2002, pp. 3-41.

- [45] J. Dec, J. Bollag, P. Huang et M. Senesi, «Impact of interactions between microorganisms and soil colloids on the transformation of organic pollutants,» chez *Interactions between soil particles and microorganisms*, IUPAD Series on analytical and physical chemistry of environmental éd., vol. 8, Chichester, John Wiley et Sons, Ltd, 2002, pp. 323-379.
- [46] M. Haggblom et I. Bossert, *Dehalogenation microbial processes and environmental applications*, Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, 2003.
- [47] J. Rouse, D. Sabatini, J. Suflita et J. Harwall, «Influence of surfactants on microbial degradation of organic compounds,» *Critical Review of Environmental Science and Technology*, vol. 24, pp. 325-370, 1194.
- [48] M. Sanchez-Camazano, M. Arienzo, M. Sanchez-Martin et T. Crisanto, «Effect of different surfactants on the mobility of selected non-ionic pesticides in soil,» *Chemosphere*, vol. 31, pp. 3793-3801, 1995.
- [49] C. Beigel, M.-P. Charnay et E. Barriuso, «Degradation of formulated and unformulated triticonazole fungicide in soil: effect of application rate,» *Soil Biology Biochemistry*, vol. 31, pp. 525-534, 1999.
- [50] N. Charnay, L. Tarabelli, C. Beigel et E. Barriuso, «Modifications of soil microbial activity and triticonazole biodegradation by pesticide formulation additives,» *Journal of Environmental Quality*, vol. 29, pp. 1618-1624, 2000.
- [51] G. Buyanosky, R. Kremer, A. Gajda et H. Kazemi, «Effect of corn plants and rhizosphere populations on pesticide degradation,» *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 55, pp. 689-696, 1995.
- [52] B. Perkovitch, T. Anderson, E. Kruger et J. Coats, «Enhanced mineralization of C14 atrazine in *Kochia scoparia* rhizospheric soil from a pesticide contaminated site.,» *Pesticide Science*, vol. 46, pp. 391-396, 1996.
- [53] S. Puitti, S. Hallet, S. Rousseaux, L. Philippot, G. Soulas et F. Martin-Laurent, «Accelerated mineralisation of atrazine in maize rhizosphere soil,» *Biology and Fertility of Soils*, vol. 36, pp. 434-441, 2002.
- [54] J. Bollag et S. Lui, «Biological transformation processes of pesticides,» chez *Pesticides in soil environment : processes, impacts, and modelling*, Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America, 1990, pp. 169-203.
- [55] R. Schwarzenbach, P. Gschend et D. Imboden, *Environmental organic chemistry*, New York, Chichester, Toronto, Singapore: John Wiley et Sons, 2003.
- [56] J. Fournier, «Microbial aspects of soil pesticide degradation in surface soil,» chez

Pesticides, Soil microbiology and soil quality, Bruxelles, Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1996, pp. 78-87.

- [57] J. Fournier, G. Soulas et N. Parekh, «Modeling of biodegradation of pesticides in,» chez *Soil écotoxicologie. Tarradellas*, Bocca Raton, Lewis Publishers, 1997, pp. 85-117.
- [58] A. Csirjsei et E. Johnson, «Methylation of pentachlorophenol by *Trichoderma virgatum*,» *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 18, pp. 45-49, 1972.
- [59] B. Tweedy, C. Loeppky et A. Ross, «Metobromuron: acetylation of the aniline moiety as a detoxification mechanism,» *Science*, vol. 168, pp. 482-483, 1970.
- [60] J. Bollag et M. Loll, «Incorporation of xenobiotics into soil humus,» *Experientia*, vol. 39, pp. 1221-1231, 1983.
- [61] P. Kearney et T. Kellog, «Microbial estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils,» *Chemosphere*, vol. 10, pp. 833-846, 1985.
- [62] J. Van der Mee, W. De Vos, S. Harayma et J. Zehnder, «Molecular mechanisms of genetic adaptation to xenobiotic compounds,» *Microbiology Review*, vol. 56, pp. 670-694, 1992.
- [63] H. Quiquamoix, «Mechanisms of protein adsorption on surfaces and consequences for extra cellular enzyme activity in soil,» chez *Soil Biochemistry*, New York, Marcel Dekker, Inc, 2000, pp. 171-206.
- [64] S. Omura, «Ivermectin: 25 years and still going strong,» *International Journal of Antimicrobial Agents*, pp. 91-98, 2008.
- [65] INRS, «Fiche toxicologique n°299,» chez *Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES*, p. 2013.
- [66] S. W. Ali, R. Li, W.-y. Zhou, J.-q. Sun, P. Guo, J.-p. Ma et S.-p. Li, «Isolation and characterization of an abamectin-degrading *Burkholderia cepacia*-like GB-01 strain,» *Biodegradation*, 2010.
- [67] R. Martin, A. Robertson and A. Wolstenholme, "Mode of action of the macrocyclic lactone," in *Macrocyclic lactones and antiparasitic therapy*, Wallingford, CAB International, 2002, pp. 125-162.
- [68] S. H. Bai et S. Ogbourne, «Eco-toxicological effects of the avermectin family with a focus on abamectin and ivermectin,» *Chemosphere*, pp. 204-214, 2016.
- [69] Q. McKellar, «Ecotoxicology and residues of anthelmintic compounds,» *Vet Parasitol*, vol. 72, pp. 413-426, 1997.
- [70] B. Halley, W. Vandenheuvel et P. Wislocki, «Environmental effects of the usage of

- avermectins in livestock,» *Veterin Parasitol*, vol. 48, pp. 109-125, 1993.
- [71] R. Demchak et R. Daybas, «Photostability of abamectin/zein microspheres,» *J. Agric. Food Chem*, vol. 45, pp. 260-262, 1997.
- [72] J. Escalada, J. Gianotti, A. Pajares, W. Massad, F. Amat-Guerri et N. Garcia, «Photodegradation of the acaricide abamectin: a kinetic study,» *J. Agrix. Food Chem*, vol. 56, pp. 7355-7359, 2008.
- [73] European Food Safety Authority, «Modification of the existing MRLs for abamectin in apricots and peaches (including nectarines). Reasoned Opinion,» EFSA, 2010.
- [74] Y.-S. Wang, X.-C. Zheng, Q.-W. Hu et Y.-G. Zheng, «Degradation of abamectin by newly isolated *Stenotrophomonas maltophilia* ZJB-14120 and characterization of its abamectin-tolerance mechanism,» *Research in Microbiology*, 2015.
- [75] S. W. Ali, F.-b. Yu, L.-t. Li, X.-h. Li, L.-f. Gu, J.-d. Jiang et S.-p. Li, «Studies revealing bioremediation potential of the strain *Burkholderia* sp. GB-01 for abamectin contaminated soils,» *World J Microbiol Biotechnol*, 2012.
- [76] P. Wislocki, L. Grosso and R. Dybas, "Chapter 13: Environmental Aspects of Abamectin Use in Crop Protection," in *Ivermectin and Abamectin*, W. Campbell, Ed., New York, Springer-Verlag, 1989.
- [77] D. Bull, G. Ivie, J. MacConnell, V. Gruber, C. Ku, B. Arison, J. Stevenson et W. VandenHeuvel, «Fate of avermectin B1a in soil and plants,» *J. Agric. Food Chem*, vol. 32, pp. 94-102, 1984.
- [78] A. Horvat, S. Babic, D. Pavlovic, D. Asperger, S. Pelkp, M. Kastelan-Macan, M. Petrovic et A. Mance, «Analysis, occurrence and fate of anthelmintics and their transformation products in the environment,» *Trends Anal. Chem.*, vol. 31, pp. 61-84, 2012.
- [79] H. Moye, M. Malagodi, J. Yoh, G. Leibe, C. Ku et P. Wislocki, «Residues of avermectin B1a in rotational crops and soils following soil treatment with [¹⁴C] avermectin B1a,» *J. Agric. Food Chem*, vol. 35, pp. 859-864, 1987.
- [80] N. Erzen, L. Kolar, V. Flajs, J. Kuzner, I. Marc et M. Pogacnik, «Degradation of abamectin and doramectin on sheep grazed pasture,» *Ecotoxicology*, vol. 14, pp. 627-635, 2005.
- [81] J.-P. Lumaret, F. Errouissi, K. Floate, J. Römbke et K. Wardhaugh, «A review on the toxicity and non-target effects of macrocyclic lactones in terrestrial and aquatic environments,» *Curr. Pharm. Biotech*, vol. 13, p. 1004, 2012.
- [82] M. Sato, M. Silva, A. Raga et M. Souza Filho, «Abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance,» *Neotrop. Entomol*, vol. 34, pp. 991-998, 2005.

- [83] R. Nicastro, M. Sato et M. Da Silva, «Milbemectin resistance in *Tetranychus utricae* (Acari:Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin,» *Experim. Appl. Acarol.*, vol. 50, pp. 231-241, 2010.
- [84] X. Pu, Y. Yang, S. Wu et Y. Wu, «Characterisation of abamectin resistance in a field-evolved multiresistant population of *Plutella xylostella*,» *Pest Manage. Sci.*, vol. 66, pp. 371-378, 2010.
- [85] H. A. S. Jamali et A. Gorji, «Conservative care in successful treatment of abamectin poisoning,» *Toxicol. Int.*, vol. 21, pp. 322-324, 2014.
- [86] C. Celik-Ozenci, A. TAsatargil, M. Tekcan, L. Sati, E. Gungor, M. Isbir, M. Usta, M. Akar et F. Erler, «Effect of abamectin exposure on semen parameters indicative of reduced sperm maturity: a study on farmworkers in Antalya (Turkey),» *Angrologia*, vol. 44, pp. 388-395, 2012.
- [87] Z. Li, C. Song, J. Yang, J. Guo et L. Xing, «Biodegradation of avermectin by *Bacteroidetes* endosymbiont strain LYH,» *World J Microbiol Biotechnol*, 2008.
- [88] T. A. de Frietas Matos, A. L. Nunes Dias, A. Di Piazza Reis, M. R. Apolinario da Silva et M. Matiko Kondo, «Degradation of Abamectin Using the Photo-Fenton Process,» *International Journal of Chemical Engineering*, 2012.
- [89] S. Mosleh et M. R. Rahimi, «Intensification of abamectin pesticide degradation using the combination of ultrasonic cavitation and visible-light driven photocatalytic process: Synergistic effect and optimization study.,» *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 35, pp. 449-457, 2017.
- [90] J. R. Govan, J. L. Burns et D. P. Speert, «Common Questions About *Burkholderia cepacia*», 2010
- [91] J. R. W. Govan, J. E. Hughes et P. Vandamme, «*Burkholderia cepacia*: medical, taxonomic and ecological issues,» *J. Med. Microbiol*, vol. 45, pp. 395-407, 1996.
- [92] B. Zheng, J. Lu, Y. Tong, H. Li et Q. Chen, «Isolation and characterization of an abamectin-degrading *Burkholderia cepacia*-like GB-01 strain,» *Appl Biochem Biotechnol*, vol. 175, n°11, pp. 421-427, 2015.
- [93] S. R. Andreza Camilotti Dionisio, «Abamectin in soils: Analytical methods, kinetics, sorption and dissipation,» *Chemosphere*, pp. 17-29, 2016.
- [94] M. Alexander, «Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants.,» *Environ Sci Technol*, 2000.
- [95] E. Barriuso, D. A. Laird, W. C. Koskinen and R. H. Dowdy, "Atrazine desorption from smectites," *Soil Science Society of America Journal*, vol. 58, 1994.

- [96] J. Jurewicz et W. Hanke, «Prenatal and childhood exposure to pesticides and neurobehavioral development: review of epidemiological studies,» *Int J Occup Med Environ Health*, vol. 21, pp. 121-123, 2008.
- [97] R. Gilden, K. Huffling et B. Sattler, «Pesticides and health risks,» *J. Obstet Gynecol Neonatal Nurs*, vol. 39, pp. 103-110, 2012.
- [98] E. Barriuso, R. Calvet, M. Schiavon et G. Soulas, «Les pesticides et les polluants organiques des sols,» vol. 3, pp. 279-296, 1996.
- [99] J. J. Gril, V. Gouy et C. Carluer, «Processus de transfert des pesticides par ruissellement,» chez *Document de la Société Hydrotechnique de France*, p. 380.
- [100] British crop protection council, Pesticide manual, 11th edition éd., C. Tomlin, Éd., Crop protection publication, 1997.
- [101] C. Celik-Ozenci, A. TAsatargil, M. Tekcan, L. Sati, E. Gungor, M. Isbir et R. Demir, «Effects of abamectin exposure on male fertility in rats: potential role of oxidative stress-mediated poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) activation,» *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 61, pp. 310-317, 2011.
- [102] M. Walter, «Transposon regulation upon dynamic loss of DNA methylation (Thèse de doctorat),» 2016.
- [103] Adenosine, 16 09 2009. [En ligne]. Available: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Conjugation.svg?uselang=fr#globalusage>. [Accès le 10 06 2019].