



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

**Université L' Arbi Ben M'Hidi, Oum-El Bouaghi**

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

N<sup>o</sup> d'ordre.....

N<sup>o</sup> de série.....

## **Mémoire**

Présenté pour l'obtention du diplôme de

## **MASTER**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Option : Microbiologie Appliquée**

## **Thème**

Isolement et caractérisation de quelques souches bactériennes  
capables de dégrader l'herbicide glyphosate

**Présenté par :**

**MerabetAbdElouahab**

**et**

**Kouachi Anis**

**OmaicheMamdouh**

**Devant le jury :**

**Président : Mme LaaremMerrdiProfesseurUniversité d'Oum EL Bouaghi**

**Rapporteur : Mme BenslamaOuided    MCB    Université d'Oum El Bouaghi**

**Examineur :MmeKhenouchi CEH    MAA    Université d'Oum El Bouaghi**

**Année universitaire : 2022-2023**

# Remerciements

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Dieu le Tout-Puissant pour nous avoir accordé la santé et la volonté nécessaires pour entreprendre et terminer ce mémoire.*

*Nous souhaitons adresser nos plus vifs remerciements à Mme **BenslamaOuided**, dont l'accompagnement et les conseils précieux ont fait de cette expérience une source de motivation et d'enrichissement inestimable. Sa disponibilité, ses compétences et ses recommandations nous ont été d'une valeur inestimable.*

*Nous exprimons également nos chaleureux remerciements à Mme **MeradiLaarem** d'avoir accepté de présider notre jury et pour toute l'aide et le soutien qu'elle nous a apportés tout au long du processus.*

*Nous tenons à remercier sincèrement Mme **Khenouchi** pour l'honneur qu'elle nous a fait en siégeant dans notre jury et en examinant ce travail.*

*Nous souhaitons également exprimer notre gratitude envers tous nos professeurs, en particulier ceux du département de biologie, pour leur enseignement précieux et leur contribution à notre formation.*

*Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Votre soutien et votre aide ont été essentiels et nous vous en sommes profondément reconnaissants.*

# Dédicaces

*Avant tout chose, je dédie le DIEU, le tout puissant*

*Pour m'avoir donné la force et la patience*

*A tous les personnes qui m'encouragent toujours aux moments difficiles :*

*Ma très chère mère , qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste*

*soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon cher père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années desacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*Puisse Dieu faire*

*en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi .*

*À mes chères frères:Hanadi ,Asmer, malak,*

*À Mon encadreur **BenslamaOuided** Pour leur conseille, leur présence, et leur patience.*

*À mes chères amies Islem, Mohamed, Bilal, Saber,Aziz, Achref, Oussama, qui a partagé toutes les bons et les mauvaise moments avec moi.*

*À mes binômes Anis et Mamdouh*

*Je remercie spécialement mon ami proche Assala, qui m'a aidé tout au long du parcours académique*

**AbdElouahab**

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Merci mon dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :*

*A ma mère celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.*

*A mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager à me donner l'aide et à me protéger.*

*À mes chères sœurs*

*À mes chères amis*

*À mes chères binômes abdelouahab et mamdouh*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, je vous dis merci .*

**Anis**

# *Dédicaces*

*Je dédie cette mémoire à ma chère mère et à mon cher père qui m'ont soutenu tout au long de ces années. Je remercie également tous ceux qui ont participé à la réalisation de cette étude, y compris les étudiants et le personnel du laboratoire universitaire, ainsi que les frères Rami et Anis, et bien sûr le talentueux professeur Ben Salama. Je salue également tous les membres de la famille élargie, en particulier mon frère et ma sœur, et mes amis à Ain Mlila, en particulier mon voisin Wael Soualmia. Je remercie également Mounir Hsainia , Hichem Fares, Ammar Hamdoudi et Ghoulam Boumaraf de la résidence universitaire, Khayari Mohamed Lakhdar à Ain El baida.*

**Mamdouh**

# Sommaire

➤ Remerciement

➤ Dédicaces

➤ Liste des tableaux

➤ Liste des figures

➤ Liste des abréviations

**Introduction.....**

➤ Revue bibliographique

## Chapitre 1 : Partie bibliographique

<b>1. Généralités sur les pesticides .....</b>	<b>1</b>
1.1. Définition d'un pesticide .....	3
1.2. Composition et formulation.....	3
<b>2. Classification des pesticides.....</b>	<b>3</b>
2.3.1. Classification selon l'utilisation.....	3
2.3.2. Classification chimique.....	4
2.3.3. Classification biologique.....	4
<b>3. Effets des pesticides sur l'environnement.....</b>	<b>5</b>
3.1. Dans le sol.....	6
3.2. Sur la microflore du sol.....	6
<b>4. Dégradation des pesticides.....</b>	<b>7</b>
4.1. Dégradation biotique.....	7
4.2. Dégradation abiotique.....	7
4.3. Photodégradation.....	8
<b>5. Comportement et devenir des pesticides dans l'environnement.....</b>	<b>8</b>
5.1. Interactions moléculaire sol-pesticide.....	8
5.2. Mobilisation des pesticides.....	8
<b>6. Mode Action des pesticides.....</b>	<b>9</b>
<b>7. Utilisations des pesticides dans le monde.....</b>	<b>9</b>

<b>8. Rôle et importance des pesticides.....</b>	<b>10</b>
<b>9. L'herbicide glyphosate.....</b>	<b>11</b>
9.1. Généralités.....	11
9.2. Mode d'action.....	11
9.3. Structure chimique du glyphosate .....	11
9.4. Propriétés physico-chimiques.....	12
9.5. Dégradation du glyphosate .....	12
9.5.1. Dégradation chimique.....	13
9.5.2. Dégradation biologique.....	13
9.6. L'effet du glyphosate sur les microorganismes de sol.....	14
9.7. Les microorganismes qui dégradent les herbicides.....	15
9.8. Les spécialités commerciales à base de glyphosate.....	16

## **Chapitre 02 : Matériel et Méthodes**

<b>1. Sites de prélèvement.....</b>	<b>17</b>
<b>2. Echantillonnage.....</b>	<b>17</b>
<b>3. Traitement des échantillons du sol.....</b>	<b>17</b>
<b>4. Enrichissement des souches dégradant les herbicides Glyphosate.....</b>	<b>17</b>
<b>5. Isolement des souches.....</b>	<b>18</b>
<b>6. Purification des isolats.....</b>	<b>19</b>
<b>7. Identification présomptive des souches isolées.....</b>	<b>19</b>
7.1. Identification microscopique.....	20
7.1.1. Examen microscopique à l'état frais (technique de la goutte pendante).....	20
7.1.2. Examen microscopique après coloration (coloration différentielle de Gram).....	20
7.2. Tests biochimiques.....	20
7.2.1. La réduction de nitrate.....	20
7.2.2. Etude de la mobilité et de la dégradation du mannitol.....	20
7.2.3. Mise en évidence de la fermentation des glucides.....	20

7.2.4. Etude de destinée de l'acide pyruvique.....	21
7.2.5. La mise en évidence de la production d'indole.....	21
7.2.6. Utilisation du citrate comme seule source de carbone.....	21
<b>8. Mesure de la cinétique de la biodégradation du glyphosate par spectrophotométrie.....</b>	<b>22</b>
8.1. Préparation des inocula.....	22
8.2. Suivi de l'évolution de la biomasse des différents isolats.....	22

## **Chapitre 3 : Résultat et Discussion**

<b>1. Identification des souches.....</b>	<b>23</b>
<b>1.1. Examen macroscopique .....</b>	<b>24</b>
<b>1.2. Examen biochimique.....</b>	<b>27</b>
1.2.1. Test d'indole.....	27
1.2.2. Recherche de la nitrate réductase.....	28
1.2.3. Test du citrate.....	28
1.2.4. Test du mannitol mobilité.....	29
1.2.5. Test VP .....	29
<b>2. Suivi de l'évolution de la biomasse des différentes souches en présence du glyphosate comme seule source de carbone par spectrophotométrie.....</b>	<b>32</b>

➤ **Conclusion**

➤ **Références bibliographique**

➤ **Annexe**

➤ **Résumé**

# Liste des tableaux et figures

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Les propriétés physico-chimiques du Glyphosate	12
<b>02</b>	Aspect macroscopique des colonies des isolats sélectionnés	25
<b>03</b>	Résultats de la coloration de Gram pour les cinq souches sélectionnées	27
<b>04</b>	Résultats de l'identification biochimique des souches sélectionnées	27
<b>05</b>	Mesures de DO prises durant huit jours de fermentation	32

# Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> Vente de pesticides dans le monde.....	10
<b>Figure 02 :</b> Structure chimique de glyphosate.....	12
<b>Figure 03 :</b> Voie de biodégradation du glyphosate via la formation d'acide aminométhylphosphonique (AMPA) et de formaldéhyde.....	14
<b>Figure 04 :</b> Les trois échantillons de sol testés (AF,AM,AB).....	17
<b>Figure 05 :</b> Incubation des cultures à fermenter.....	18
<b>Figure 06 :</b> Erlenmeyers contenant culture dans le MMM additionné de l'herbicide.....	18
<b>Figure 07 :</b> L'ajoute de suspension dans la boîte ( MilieuGN).....	19
<b>Figure 08 :</b> Ensemencement par râteau.....	19
<b>Figure 09 :</b> Histogramme reflétant le nombre des isolats de chaque sol.....	23
<b>Figure 10 :</b> Aspect macroscopique des 5 isolats bactériens sélectionnés.....	24
<b>Figure 11:</b> Quelques photos de la coloration de Gram des isolats.....	26
<b>Figure 12:</b> Test d'indole.....	28
<b>Figure 13:</b> Test de citrate.....	29
<b>Figure 14 :</b> Test de Mannitol Mobilité.....	29
<b>Figure 15 :</b> Test de la voie fermentative VP+/RM-.....	30
<b>Figure 16:</b> Résultats des tests biochimiques des 05 isolats sélectionnés.....	31
<b>Figure 17 :</b> Cinétique de croissance des souches sélectionnées en présence du glyphosate comme seule source de carbone.....	33

# Liste des abréviations

- **AMPA**:acideaminothylphosphonique
- **M.O** :microorganisme
- **G+** : Gram positif
- **G-** :Gramnegatif
- **EPSPS**: énoypyruvylshikimate-3-phosphate synthase
- **EPA** :.Agence American de protection de l'environemet
- **EFSA** :Autoritéeuropéan de sécurité des aliments
- **MMM**:Milieu Minimum minérale
- **GN** :Gelose nutritive
- **S** :Souche
- **AF** : Ain fakroun .
- **AB** :AinBeida .
- **AM** :AinMlila
- **TSI** :Triple sugarIron.
- **POEA** : polyoxyéthylène amine

# **Introduction**

## **Introduction**

Les agriculteurs ont toujours été préoccupés par la lutte contre les organismes nuisibles aux cultures, comme le montrent les références historiques à l'utilisation de méthodes physiques telles que le ramassage des insectes et des plantes malades, le désherbage manuel et mécanique, et la destruction des plantes malades par le feu (**Calvet et al., 2005**).

Au XIXe siècle, l'apparition des traitements insecticides, fongicides et herbicides a été motivée par le développement de graves épidémies qui ont affecté les productions agricoles vitales (**Flogeac, 2004**).

L'utilisation des pesticides s'est considérablement développée au cours du XXe siècle, avec une grande variété de produits disponibles pour lutter contre les organismes nuisibles aux cultures, tels que les acariens, les nématodes, les mollusques et les rongeurs (**Garon-Boucher, 2003**).

Malgré les efforts récents pour promouvoir des pratiques agricoles plus respectueuses de l'environnement, les agriculteurs en Algérie et ailleurs utilisent abondamment les pesticides, ce qui augmente le risque de pollution des ressources en eau par les résidus de produits phytosanitaires.

Parmi les produits phytosanitaires disponibles sur le marché Algérien l'herbicide glyphosate. Le glyphosate est un herbicide non sélectif largement utilisé dans le monde entier pour lutter contre les mauvaises herbes dans les cultures commerciales et non commerciales. Il agit en inhibant l'enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), qui est nécessaire à la synthèse des acides aminés aromatiques chez les plantes (**Ducke, 2018**). Cela entraîne la mort des plantes exposées au glyphosate. Le glyphosate est considéré comme peu toxique pour les mammifères et les humains, mais il est actuellement sujet à un débat controversé concernant ses effets sur l'environnement et la santé humaine (**Mesnager et Antoniou, 2017 ; Zhang et al., 2019**).

Selon une étude de Mesnager et al. (2021), il y a une forte corrélation entre l'utilisation de glyphosate et la mortalité des abeilles. D'autres études ont également suggéré que le glyphosate peut avoir des effets négatifs sur la biodiversité et la qualité du sol (**Bonanomi et al., 2019**) et peut être associé à des problèmes de santé chez les travailleurs agricoles exposés au produit (**Acquavella et al., 2016**).

Cependant, d'autres études ont également suggéré que le glyphosate est sûr pour l'environnement et la santé humaine lorsqu'il est utilisé correctement (**Sammons et Gaines, 2014**).

La réglementation et l'utilisation du glyphosate sont donc étroitement surveillées par les agences gouvernementales dans le monde entier, telles que l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) et l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA).

Aujourd'hui, les microbiologistes se concentrent sur la dépollution et la valorisation des déchets agricoles et agro-industriels spécialement les pesticides, en utilisant des méthodes telles que la biorémediation pour détruire ces polluants environnementaux à l'aide de microorganismes et de leur enzymes (**Garon-Boucher, 2003**).

L'objectif de notre travail consiste donc en l'isolement et la caractérisation de souches à partir de différents sols agricoles en prévenance de 03 régions de la wilaya d'Oum El Bouaghi et la mise en évidence de leurs capacités de biodégradation de l'herbicide glyphosate.

# **Chapitre 1**

## **Les Pesticides**

## 1. Généralités sur les pesticides

### 1.1. Définition d'un pesticide

Les pesticides sont des substances utilisées pour contrôler ou détruire les organismes nuisibles comme les animaux, les plantes, les champignons ou les bactéries qui interfèrent avec les activités humaines (**Noriane, 2022**). Les principales classes de pesticide sont : herbicides, insecticides, rodenticides et fongicides (**Hichem et al., 2022**).

### 1.2. Composition et formulation

Les pesticides sont constitués d'un ingrédient actif et d'un adjuvant inactif qui augmentera principalement la quantité et la vitesse de pénétration des pesticides (**Gagné, 2003**). La formulation correspond à la forme physique dans laquelle le produit phytopharmaceutique est mis sur le marché. Obtenue par le mélange des ingrédients actifs et des adjuvants, elle se présente de formes solides ou liquides. La teneur en matière active s'exprime en (g/l) pour les formulations liquides et en pourcentage (%) pour les formulations solides. La dose d'emploi en produit commercial s'exprime en L/ha pour des formulations liquides et en (kg/ha) ou (g/ha) pour les formulations solides (**Coulibaly, 2005**).

## 2. Classification des pesticides

### 2.3.1. Classification selon l'utilisation

Les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activité pour lutter contre des organismes vivants nocives. Il existe six catégories de pesticides classés selon leurs utilisations ou selon la destination des traitements (**Calvet et al., 2005**) :

- a. Dans les cultures : ce sont les pesticides utilisés en agriculture pour maintenir un bon état sanitaire des sols et des végétaux (insecticides, acaricides, fongicides et herbicides).
- b. Dans les bâtiments d'élevage : ce sont principalement des insecticides et des bactéricides.
- c. Dans les salles de stockage de produits végétaux : ce sont des insecticides et des fongicides.
- d. Dans les zones non agricoles : il s'agit essentiellement d'herbicides utilisés pour désherber les voies de circulation routières, les zones aéroportuaires et les aires industrielles.

e. Dans les bâtiments résidentiels : ce sont des insecticides, des rodenticides, des bactéricides et des fongicides.

f. Pour l'homme et les animaux ; ce sont des insecticides et des fongicides utilisés pour l'hygiène humaine et vétérinaire.

## 2.3.2. Classification chimique

Les pesticides disponibles sur le marché aujourd'hui se caractérisent par la variété des structures chimiques, des groupes fonctionnels et des activités biologiques qu'il possède le classement est compliqué. En général, les pesticides peuvent être classés selon deux manières : selon les caractéristiques chimiques des organismes vivants et leur ciblage. Il y a trois classes de pesticides (Calvet et al.,2005) :

### 2.3.2.1. Les pesticides organo-métalliques

Ce sont les fongicides dont la molécule est constituée d'un composé du métal comme le manganèse et zinc et d'un anion organique dithiocarbamate. Des exemples de ces pesticides sont le manèbe (avec le manganèse) et le mancozèbe (avec le zinc).

### 2.3.2.2. Les pesticides inorganiques

Il n'y a plus de pesticides inorganiques et un seul herbicide est encore utilisé aujourd'hui, comme le chlorate de sodium, dés herbant totale, la plupart des pesticides inorganiques sont des fongicides basés sur le soufre et le cuivre (Calvet et al.,2005).

### 2.3.2.3. Les pesticides organiques

Sont nombreux et appartiennent à différentes familles chimiques. Il présente actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques des pesticides organiques mais leur appellation est parfois autoritaire. Les Grandes familles chimiques de pesticides identifiées par les groupes d'atomes qui composent une fonction chimique particulière sont : les amines, les acides carboxyliques, les thiocarbamates, les carbamates, les hétérocycles azotés, les azoles, les organophosphorés, les pyréthrinoïdes, les uraciles et les diphényles éther, les urées substituées et les sulfonylurées (Pesticide Manual, 1995).

## 2.3.3. Classification biologique

Selon les organismes cibles, on distingue plusieurs classes des pesticides, dont les plus

importants sont les insecticides, les fongicides et les herbicides.

### 1.3.3.1. Les herbicides

Ce sont les pesticides les plus utilisés dans le monde. Ils visent à éliminer les plantes avec lesquelles ils sont en concurrence des plantes pour les protéger en ralentissant leur croissance. Les herbicides ont différentes méthodes agissant sur les plantes, ils peuvent perturber la régulation hormonale, les métabolites de croissance comme l'auxine, de la photosynthèse, inhibiteurs de la division cellulaire, la synthèse des lipides, de la cellulose ou des acides aminés (ACTA, 2006).

### 1.3.1.2. Les fongicides

Ils permettent d'éliminer ou de limiter le développement des champignons parasites des végétaux par l'inhibition de système respiratoire ou la division cellulaire ou perturbant la biosynthèse des stérols, ARN polymérase ou adénosine désaminase (ACTA, 2006).

### 2.3.3.3. Les insecticides

Ils sont utilisés pour protéger les plantes contre les insectes. Ils interviennent en éliminant leur reproduction comme les neurotoxines (ACTA, 2006).

## 3. Effets des pesticides sur l'environnement

Les pesticides sont utilisés pour tuer les ravageurs et les insectes qui attaquent et endommagent les cultures. Différents types d'insecticides sont utilisés pour la protection des cultures depuis des siècles. Les pesticides sont bénéfiques pour les cultures, mais ont également des impacts négatifs importants sur l'environnement. L'utilisation excessive de pesticides peut entraîner la destruction de la biodiversité. De nombreux oiseaux, organismes aquatiques et animaux sont menacés par des pesticides qui nuisent à leur survie. Les pesticides sont un problème pour la durabilité environnementale et la stabilité mondiale (Mahmoud et al., 2016).

Au cours du siècle dernier, l'utilisation de pesticides et d'autres produits chimiques synthétiques a augmenté pour faciliter la production agricole. Cependant, cette utilisation est maintenant remise en question en raison des risques potentiels pour l'environnement et la santé humaine. Ces produits chimiques peuvent se

retrouver dans les aliments, l'eau et le sol, entraînant des conséquences toxiques pour les organismes vivants. En particulier, l'utilisation de pesticides peut modifier la qualité chimique et biologique du sol en inhibant la production de nutriments nécessaires à la croissance des plantes et en ralentissant l'activité microbienne du sol. Il est donc important de reconsidérer l'utilisation de ces produits et de trouver des alternatives plus durables pour maintenir la production agricole tout en protégeant l'environnement et la santé humaine (**Tahar et al., 2017**).

## Effets des pesticides

### 3.1. Dans le sol

Les pesticides ont un impact significatif sur le sol, l'un des écosystèmes les plus touchés par ces produits. La propagation des pesticides dans le sol dépend de leur état physique. Lorsqu'ils sont sous forme liquide ou gazeuse, ils peuvent être dégradés par les microorganismes, subissant ainsi un processus d'épuration avant de rejoindre les nappes d'eau. En revanche, lorsqu'ils sont sous forme solide, ils restent fixés dans le sol, où ils peuvent persister pendant de nombreuses années, entraînant ainsi une contamination des sols (**Berrah, 2011**). La persistance des pesticides est l'un des principaux processus qui détermine leur devenir dans le sol et leur élimination de l'environnement naturel. Cette dégradation peut être de nature biotique, impliquant la microflore et la microfaune du sol, ou abiotique, résultant de réactions chimiques (**Mamy et al., 2011**). Les pesticides qui sont difficilement dégradables ou présents dans un sol à forte acidité peuvent former des liaisons avec certains composants du sol, ce qui les retient et diminue leur mobilité. Ainsi, il y a moins de risques de pollution des eaux souterraines en raison de leur faible migration vers les profondeurs. Toutefois, lorsqu'il y a des pluies ou des épisodes d'érosion, il existe un risque potentiel de contamination des eaux de surface par les pesticides (**Berrah, 2011**). En fin de compte, ce phénomène de rétention dans le sol assure le contrôle du comportement des pesticides (**Mamy et al., 2011**).

### 3.2. Sur la microflore de sol

Les pesticides sont principalement utilisés pour éliminer ou repousser les insectes nuisibles aux cultures et aux récoltes, ainsi que pour détruire les mauvaises herbes, mais cela affecte également le sol. En conséquence, les organismes vivants du sol entrent en contact avec les pesticides. Ces produits chimiques et leurs dérivés peuvent avoir des effets directs ou indirects sur les organismes vivants du sol (**Calvet et al., 2005**). Ils peuvent être toxiques pour les microorganismes présents dans le sol, ce qui entraîne une diminution de l'activité microbienne et une sélection des microorganismes résistants ou capables d'utiliser les pesticides comme source de carbone (**Savadogo et al., 2007**).

Les micro-organismes du sol sont les premiers à être exposés aux polluants agricoles ou industriels, ce qui peut avoir des effets toxiques directs ou indirects (**Pascal, 2007**). Ces effets sont influencés par des facteurs environnementaux tels que la température et le type de sol, qui affectent la disponibilité, la persistance et la toxicité des pesticides, ainsi que le métabolisme microbien (**Alix et al., 2005**). Autrefois considérées comme des indicateurs fiables de l'effet toxique des pesticides sur l'environnement, les propriétés de taille et d'activité des microflores sont maintenant remises en question en raison des adaptations physiologiques et structurelles observées dans la réponse microbienne (**Soulas, 1999**). Les contaminants entraînent à la fois la destruction des populations sensibles et la promotion de populations tolérantes à leur toxicité (**Martin-Laurent, 2013**). Par conséquent, les mesures de diversité se concentrent désormais sur des niveaux métaboliques et génétiques plus spécifiques (**Soulas, 1999**).

#### **4. Dégradation des Pesticides**

##### **4.1. Dégradation biotique**

La biodégradation est un processus qui résulte de transformations chimiques causées par différents organismes et leurs systèmes enzymatiques. Elle se produit naturellement dans des environnements tels que le sol, les sédiments et l'eau, ainsi que dans les organismes végétaux et animaux. Bien que ce processus soit considéré comme une détoxification lorsque la dégradation a lieu dans des organismes vivants, les réactions chimiques sont généralement similaires. La dégradation biotique dans le sol, les sédiments et l'eau est particulièrement importante d'un point de vue agricole et environnemental car les substances présentes dans l'environnement peuvent être absorbées et avoir un effet biologique. La microflore de ces milieux, tels que les champignons, les algues, les protozoaires et les bactéries, est à l'origine de la dégradation biotique. Cependant, les bactéries et les champignons sont principalement responsables de la dégradation des pesticides (**Calvet et al., 2005**).

##### **4.2. Dégradation abiotique**

La dégradation abiotique des pesticides peut être influencée par divers facteurs tels que l'eau, le pH, les catalyseurs abiotiques, les oxydes métalliques, la matière organique, la lumière et les conditions atmosphériques. L'hydrolyse est favorisée par l'eau et le pH, qui peuvent être contrôlés par des catalyseurs ion-métal ou des argiles. Les réactions d'oxydo-réduction sont induites par des catalyseurs abiotiques comme les oxydes métalliques ou les métaux réduits. Les phénomènes de dégradation abiotique des pesticides peuvent être étudiés en laboratoire dans des conditions contrôlées puis vérifiés dans des sols stérilisés pour s'affranchir de la biodégradation (**Chaplain et al., 2011**).

## 4.3. Photodégradation

La photodégradation peut se produire par des processus de photolyse directe ou indirecte, influencés par l'intensité lumineuse, le coefficient d'absorption moléculaire du pesticide, la présence de substances humiques dans le sol, ainsi que la présence d'eau ou d'ions métalliques. Les pratiques agricoles telles que l'ajoute de compost peuvent modifier la photodégradation des pesticides (**Chaplain et al., 2011**).

## 5. Comportement et devenir des pesticides dans l'environnement

### 5.1. Interactions moléculaire sol-pesticide

Les mécanismes d'interaction moléculaire entre les pesticides et le sol peuvent être classés en différents types tels que les liaisons ioniques, les échanges ioniques, les liaisons de coordination, les liaisons hydrogène et les liaisons de Van der Waals (**Flogeac, 2004**).

Plusieurs facteurs influencent l'adsorption des pesticides par le sol, tels que la température, le pH du sol et de l'eau, la taille et la surface spécifique des particules solides, le rapport sol-eau, les propriétés physiques de l'adsorbant et la composition du sol, notamment la présence de matière organique, d'argile et d'autres constituants (**Chafik, 2002**).

Une étude sur l'adsorption de trois herbicides (atrazine, terbutryne et acide 2,4- dichlorophénoxyacétique) sur 55 matériaux solides de sols aux compositions et origines variées a montré que le mécanisme d'adsorption dépend de la nature des sols. Les sols riches en matière organique adsorbent tous les pesticides non ioniques en grande quantité, tandis que les pesticides cationiques sont fortement adsorbés par les sols riches en minéraux argileux (montmorillonite et vermiculite surtout) et en matière organique. Les pesticides anioniques sont fortement adsorbés par les sols riches en oxydes et hydroxydes métalliques (**Barriuso et Calvet, 1992**).

### 5.2. Mobilisation des pesticides

Lorsque des pesticides sont mis en contact avec un solide adsorbant, une partie des molécules est retenue, entraînant une diminution de la concentration de la solution. Après un certain temps, l'équilibre est atteint et la concentration devient constante. Si la concentration de la solution diminue par dilution de la phase liquide, l'équilibre est rompu et le système évolue vers un nouvel équilibre, entraînant la libération de pesticides dans la solution. Ce phénomène est appelé désorption et sa limite dépend des caractéristiques de l'adsorption (**Calvet et al., 2005**).

## 6. Mode Action des pesticides

**Les insecticides** ont une action indépendante du système de défense des plantes. Ils ciblent spécifiquement les insectes et entrent en contact avec eux par adhérence, digestion ou inhalation. La plupart de ces produits agissent en tant que neurotoxiques, endommageant le système nerveux de l'insecte jusqu'à provoquer sa mort. D'autres empêchent la mue ou inhibent la sensation de faim, ce qui entraîne également la mort de l'insecte. Certains insecticides agissent par asphyxie, perturbation du métabolisme ou encore en tant que poison (**Casida et Durkin, 2013**).

**Les herbicides** inhibent la photosynthèse des plantes ou imitent les effets des régulateurs de croissance naturellement produits par les plantes. Il existe deux principaux types d'action : les herbicides pré-levée qui agissent avant l'apparition des mauvaises herbes, et les herbicides post-levée qui agissent après. Dans ce dernier cas, on distingue deux catégories : les herbicides à action par contact, limités aux parties végétatives exposées à l'air, et les herbicides à action systémique, qui sont transportés par le système vasculaire de la plante vers les parties aériennes et souterraines qui n'ont pas été directement pulvérisées (**Powles et Yu, 2010**).

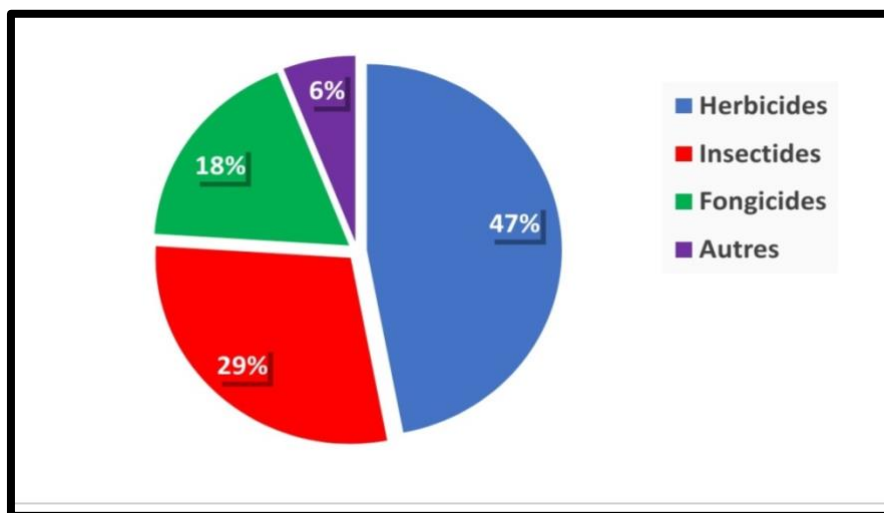
**Les fongicides** sont des substances qui limitent le développement des champignons pathogènes. Ils se divisent en deux grands types : les fongicides préventifs et les fongicides curatifs. Les fongicides préventifs forment une couche protectrice sur la plante, empêchant la germination des spores fongiques. Ils ne permettent donc pas de contrôler les champignons déjà présents sur la plante et doivent être appliqués préventivement avant l'apparition de la maladie. En revanche, les fongicides curatifs agissent sur les maladies déjà présentes. Ils peuvent être systémiques, non systémiques ou translaminaires. Les fongicides systémiques se répartissent plus ou moins dans toutes les parties de la plante via son système vasculaire. Les fongicides translaminaires pénètrent dans les tissus de la plante sans se disperser, tandis que les fongicides non systémiques restent à la surface des tissus. Ces produits affectent les organismes pathogènes de différentes manières, tels que le blocage de la respiration des mitochondries, l'inhibition de la synthèse des stérols (qui sont essentiels au fonctionnement cellulaire) et la perturbation de la division cellulaire (**Hahn, 2014**).

## 7. Utilisations des pesticides dans le monde

Dans le domaine de la protection des végétaux, l'utilisation des pesticides s'avère indispensable pour soigner ou prévenir les maladies des organismes végétaux ou du moins à limiter la croissance de certains végétaux nuisibles aux cultures, tel dans les cultures maraichères, les céréales, les rosacées, les agrumes et en particulier, les cultures intensives basées surtout au niveau des grands périmètres irrigués (**Relyea, 2009**).

La production mondiale des pesticides a généré un chiffre d'affaires d'environ 40 milliards de dollars. Le marché mondial est globalement stable depuis quelques années (2000). Il faut noter que certains événements

climatiques récents (chaleur et sécheresse en Europe, pluie en Océanie) influencent fortement ces chiffres. Cependant, la répartition de ce marché entre les différentes catégories démontre la prédominance des herbicides qui détiennent 47% de cette somme, suivies des insecticides qui représentent près de 29 % et les fongicides 18 %, comme le montre la **Figure 01**(ACTA., 2002).



**Figure 01.** : Vente de pesticides dans le monde(FAO-ONSSA., 2015)

## 8.Rôle et importance des pesticides

Les pesticides jouent un rôle crucial et sont importants pour plusieurs raisons. Cependant, il est important de noter que leur utilisation comporte des risques pour la santé humaine, tels que leur accumulation dans la chaîne alimentaire et leur consommation par les êtres humains. Ils peuvent également avoir un impact sur la pollution de l'eau, du sol, sur la vie de la faune et de la flore, ainsi que sur la santé des agriculteurs. Malgré ces risques, il est difficile de négliger les avantages des pesticides, parmi lesquels on peut citer (**Merghid et al., 2017**):

- Protection des végétaux ou des produits végétaux contre les organismes nuisibles ou prévention de leurs actions.
- Action sur les processus vitaux des végétaux, à condition qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (par exemple, les régulateurs de croissance).
- Conservation des produits végétaux, à moins que ces substances ou produits ne fassent l'objet de dispositions spécifiques concernant les agents conservateurs.

- Élimination des végétaux indésirables ou de certaines parties de végétaux, ralentissement ou prévention d'une croissance indésirable des végétaux

## **9. L'herbicide glyphosate**

### **9.1. Généralités**

Le glyphosate, également appelé N-phosphonométhyl glycine, est une substance amphotère qui possède une fonction amine secondaire basique située au centre de sa structure, ainsi qu'un acide carboxylique et un acide phosphonique présents aux extrémités. Cela lui confère la capacité de créer des sites cationiques et anioniques. Le glyphosate est utilisé en combinaison avec différents adjuvants pour améliorer son efficacité en favorisant sa pénétration dans les plantes, le plus courant étant le polyoxyéthylène amine (POEA). (Maccario,2020)

### **9.2. Mode d'action**

Le glyphosate est un herbicide systémique non sélectif utilisé pour la lutte contre les graminées annuelles et vivaces et les mauvaises herbes à feuilles larges dans l'agriculture, l'horticulture, les plantations, les vergers, les vignobles et la sylviculture (Stephenson et Harris,2016). Une fois que la plante l'a absorbé, le glyphosate inhibe la 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase(EPSPS), une enzyme de la voie shikimate, bloquant ainsi la biosynthèse des acides aminés phénylalanine, tyrosine et tryptophane. Lors de son utilisation, une partie du glyphosate peut également tomber directement sur les sols, en particulier au printemps lorsque les plantes ne couvrent pas complètement le sol(Maccario, 2020).

### **9.3. Structure chimique du glyphosate**

C'est un organophosphoré contient un groupement phosphonate (C-PO-(OH)<sub>2</sub>) est composé de formule brute C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P appelé N(phosphonométhyl)glycine (Franz et al., 1997).

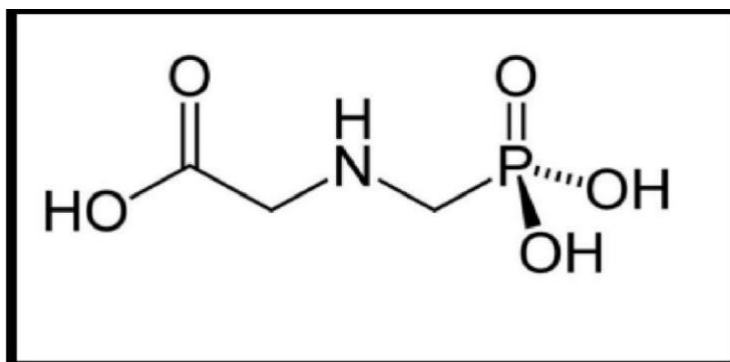


Figure 02: Structure chimique de glyphosate (Miquel, 2003)

### 9.4. Propriétés physico-chimiques

Le glyphosate est un composant très polaire, il est très soluble dans l'eau mais insoluble dans la plupart des solvants organiques. Dans les sols, il est rapidement adsorbé (Ibanez et al., 2005).

Tableau I : Les propriétés physico-chimiques du Glyphosate (Couture et al., 1995 ; Baylis, 2000)

Molécule	Formule	Propriétés physico-chimiques
Glyphosate	<chem>NC(=O)CP(=O)(O)O</chem>	<p><b>Poids moléculaire</b> [g/mol]= 169.1.  <b>Pression de vapeur</b> [Pa] <math>1.31.10^{-5}</math> (T = 25°C)  <b>Coefficient d'adsorption</b> : (Koc) [L/kg] = (884-60000)  <b>Constante de dissociation (pKa)</b>  <b>pKa1</b>= 2.34 à 20°C (acide phosphate)  <b>pKa2</b>= 5.73 à 20°C (amine secondaire)  <b>pKa3</b>= 10.2 à 20°C (acide carboxylique)  <b>Solubilité (eau)</b> = 12 g/L à 25°C  <b>Stabilité</b> :  <b>Eau</b> : DT50 = 2 à 91 jours, (photodégradation) ;  <b>Sols</b> : DT50 =3 à 174 jours,  <b>Kd</b> = 61 g/m<sup>3</sup> (coefficient d'adsorption très élevé)  <b>Point de fusion</b>=200°C</p>

### 9.5. Dégradation du glyphosate

#### 9.5.1. Dégradation chimique

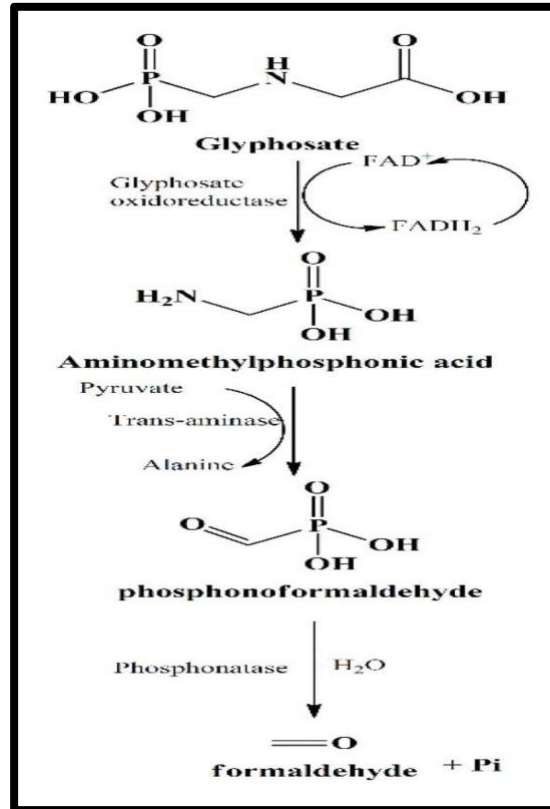
Des études menées dans des conditions stériles par *Rueppel et al. (1977)* ont examiné le potentiel de dégradation chimique du glyphosate dans le sol et l'eau. Les résultats montrent une absence de dégradation significative. Cette stabilité dans le sol est confirmée par les travaux de **Sprankle et al. (1975)**, qui ont utilisé des incubations de sol traité au glyphosate et à l'azide de sodium comme inhibiteur de l'activité microbienne. De même, pour l'eau, Doliner (1991) a montré que le glyphosate est stable pendant 32 jours dans des solutions stériles tamponnées à pH 3, 6 ou 9 et maintenues à l'obscurité à des températures de 5 ou 35°C.

### **9.5.2. Dégradation biologique**

La dégradation biologique du glyphosate est influencée par plusieurs facteurs expérimentaux tels que le pH et la concentration en oxygène. Les taux de dégradation du glyphosate sont plus élevés à un pH neutre et en présence d'une forte teneur en oxygène (2,04 µmol/g/jour et 2,40 µmol/g/jour respectivement). Le temps nécessaire à la minéralisation du glyphosate varie de 8 à 92 jours selon les propriétés biologiques et chimiques du sol (**Ndjouhou,2012**).

L'acide aminométhylphosphonique (AMPA) est le principal sous-produit de la dégradation biologique du glyphosate. Il est plus difficile à dégrader que la molécule mère et persiste plus longtemps dans l'environnement. Dans l'AMPA, la liaison C-P est conservée. La dégradation du glyphosate en AMPA est liée au fait que les microorganismes présents dans le sol disposent d'autres sources de phosphore et n'ont donc pas besoin de l'obtenir à partir du glyphosate (**Ndjouhou,2012**).

Les chercheurs ont également montré, grâce à des analyses HPLC en suivant la teneur du glyphosate, de l'AMPA et de la sarcosine, que la coupure de la liaison C-N du glyphosate avec formation de l'AMPA se produit plus facilement que celle de la liaison C-P. Cette rupture préférentielle de la liaison C-N pourrait être expliquée par la présence d'un grand nombre de microorganismes capables de "couper" cette liaison dans les sols, contrairement à la rupture de la liaison C-P qui nécessite une population bactérienne spécifique (**Ndjouhou,2012**).



**Figure 03.**Voie de biodégradation du glyphosate via la formation d'acide aminométhylphosphonique (AMPA) et de formaldéhyde(Simranjeet, 2020).

### 9.6. L'effet du glyphoste sur les microorganismes de sol

Il existe plusieurs effets du glyphosate sur les microorganismes de sol. Parmi les effets les plus discuté dans littératures on cite :

- a. **La réduction de la biomasse microbienne** : Plusieurs études ont montré que l'utilisation de glyphosate peut entraîner une réduction de la biomasse microbienne dans le sol, ce qui inclut les bactéries, les champignons et les actinomycètes. Par exemple, dans une étude de Ioppole et al (2014), les auteurs ont observé une diminution significative de la biomasse microbienne dans les sols traités au glyphosate par rapport aux sols non traités.
- b. **Altération de la composition de la communauté microbienne** : Le glyphosate peut également modifier la composition des communautés microbiennes du sol. Des études ont montré des changements dans l'abondance relative des différentes espèces bactériennes et fongiques suite à l'application de glyphosate.

Ces altérations de la composition peuvent avoir des conséquences sur les fonctions écologiques et les processus du sol (Zabaloy et al.,2019).

- c. **Perturbation des processus du sol** : Le glyphosate peut influencer les processus du sol tels que la décomposition de la matière organique, la fixation de l'azote et la disponibilité des nutriments. Des études ont montré une réduction de l'activité enzymatique impliquée dans la dégradation de la matière organique du sol ainsi qu'une diminution de la capacité des microorganismes du sol à fixer l'azote et à libérer des nutriments essentiels pour les plantes (Braganca et al.,2020)

### **9.7. Les microorganismes qui dégradent les herbicides**

Les herbicides peuvent être dégradés par divers microorganismes présents dans le sol, notamment les bactéries, les champignons et les actinomycètes. Ces microorganismes possèdent des enzymes spécifiques capables de décomposer les composés chimiques des herbicides.

#### **9.7.1. Les Bactéries**

Certaines espèces de *Pseudomonas* sont réputées pour leur capacité à dégrader différents types d'herbicides, tels que le glyphosate, l'atrazine et le 2,4-D. Les espèces du genre *Rhizobium* spp. sont souvent associées à la nodulation des légumineuses, mais certaines souches ont également la capacité de dégrader les herbicides. Certaines souches de *Bacillus* ont démontré leur capacité à dégrader des herbicides tels que le pendiméthaline et le linuron (Singh,2019).

#### **9.7.2. Les champignons**

Les espèces du genre *Trichoderma* sont bien connus pour leur capacité à dégrader différents types de pesticides, y compris les herbicides. L'espèce *Phanerochaete chrysosporium* est également capable de dégrader certains herbicides, notamment le glyphosate (Singh,2019).

#### **9.7.3 Les actinomycètes**

Les espèces de *Streptomyces* spp. sont couramment présents dans le sol et peuvent jouer un rôle dans la dégradation des herbicides. Certaines souches de *Streptomyces* ont démontré leur capacité à dégrader des herbicides tels que le linuron et le pendiméthaline. Il convient de noter que la capacité des microorganismes à dégrader les herbicides peut varier en fonction de différents facteurs, tels que les conditions environnementales, la concentration de l'herbicide et la présence d'autres substances dans le sol. De plus, la dégradation des herbicides

peut être un processus complexe qui implique souvent plusieurs microorganismes travaillant en synergie (Singh,2019).

### **9.8. Les spécialités commerciales à base de glyphosate**

Le glyphosate est principalement utilisé sous forme de sels (isopropylamine, trimethylsulfonium, sodium ou ammonium) afin de le rendre plus soluble dans l'eau. Il est largement utilisé comme ingrédient actif dans de nombreux désherbants non rémanents. Il existe de nombreuses spécialités commerciales disponibles sur le marché, telles que l'Ameg (CFPI Nufarm), le Cosmic (Calliope), le Tchao (BHS), Cargly (Cardel), le Rodeo (Monsanto), le Nomix (Monsanto) et la gamme de désherbants Roundup (Monsanto), qui est la plus couramment utilisée et celle sur laquelle nous nous sommes concentrés. Les produits Roundup contiennent du glyphosate sous forme de sel d'isopropylamine(Benslama, 2014).

**Matériel**

**et**

**Méthodes**

### 1. Sites de prélèvement

Trois sols agricoles en prévenance de à la commune de Ain Fakroun, Ain M'lila et Ain El Beida, sont retenus pour cette étude.

### 2. Echantillonnage

Les prélèvements des échantillons de sols ont été réalisés le mois de Février. Pour chaque sol, après avoir écarté les cinq premiers centimètres du sol, des quantités suffisantes de terre ont été prélevées de différents endroits, espacés environ de 10 m, selon l'axe Nord-Sud et déposés dans du papier aluminium préalablement stérilisé.

### 3. Traitement des échantillons du sol

Les échantillons ont été transportés au laboratoire de microbiologie de l'université El-Arbi BenMhidi, broyés et tamisés à travers un tamis de 2 mm et conservés a 4°C jusqu'à leur utilisation (**Figure 04**).



**Figure 04.**Les trois échantillons de sol testés (AF,AM,AB)

### 4. Enrichissement des souches dégradant les herbicides Glyphosate

Pour chaque type de sol, deux échantillons de sol de 5g sont introduits dans deux Erlenmeyers de 250 ml contenant chacun 45 ml du milieu minimum stérile MMM (annexe).

Un volume Glyphosate est rajouté, par filtration (filtre 0,22 $\mu$ m), à chaque Erlenmeyer pour atteindre une concentration finale de 50 mg/l. Les cultures, ainsi obtenues, ont été incubées à 37°C sous une agitation de 150 t/m pendant une semaine (**Figure 05**).



**Figure 05.** Incubation des cultures à fermenter

Un volume de 5 ml de chaque culture a été transféré dans 45 ml de nouveaux milieux minimums stériles (MMM), contenant, chacun, 100 mg/l de l'herbicide, incubées 7 jours à 37°C sous agitation 150 t/m. Trois autres transferts successifs ont été réalisés dans des nouveaux milieux minimums stériles en augmentant à chaque fermentation la concentration de l'herbicide allant de 300, 600 jusqu'à 900 mg/l.



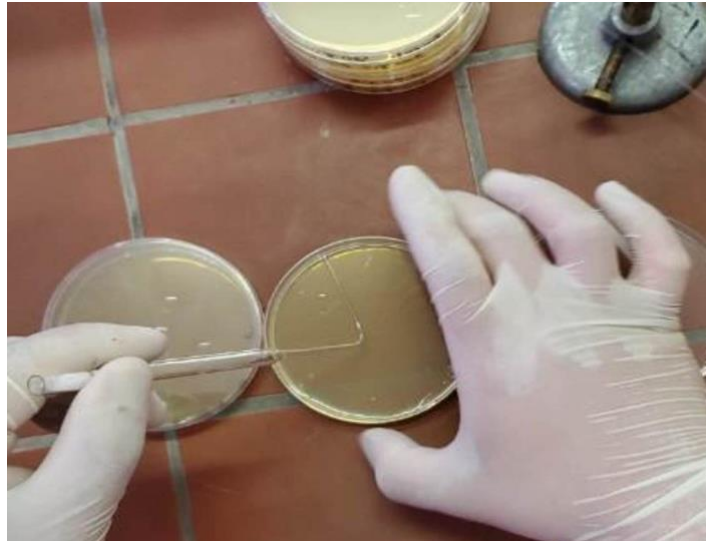
**Figure 06.** Erlenmeyers contenant culture dans le MMM additionné de l'herbicide

## 5. Isolement des souches

La quatrième et la cinquième fermentation ont été ensemencées en surface sur le milieu GN (annexe) pour l'isolement des bactéries susceptibles de dégrader le glyphosate. Les cultures sont, ensuite, incubées à 37°C pendant 24H.



**Figure 07.** L'ajoute de suspension dans la boîte ( Milieu GN)



**Figure 08.** Ensemencement par râteau

## 6. Purification des isolats

Une colonie par type morphologique et par flore est prélevée. Les colonies prélevées sont ensuite repiquées par la méthode de quatre quadrants, sur les mêmes milieux d'isolement jusqu'à obtention d'une souche pure.

## 7. Identification présomptive des souches isolées

L'identification des souches bactériennes est basée sur des schémas d'identifications dichotomiques (Joffin et Leyral, 2002). Chaque colonie purifiée est prélevée et diluée dans 9 ml d'eau physiologique. A partir de cette suspension bactérienne dense, on procède à une observation microscopique après coloration de Gram et à une série de tests biochimiques classiques en vue d'une identification éventuelle (Joffin et Leyral, 2002 ; Guiraud, 1998).

**7.1. Identification microscopique****7.1.1. Examen microscopique a l'état frais (technique de la goutte pendante)**

Cette technique permet la détermination de la mobilité des bactéries à l'état frais par l'utilisation de la lame creuse, ensuite, l'observation microscopique à immersion.

**7.1.2. Examen microscopique après coloration (coloration différentielle de Gram)**

Elle est effectuée selon la méthode classique. Des frottis des différentes colonies prélevées de la flore aérobie mésophile totale sont préparés, colorés puis observés sous microscope optique à grossissement  $\times 100$ .

**7.2. Tests biochimiques****7.2.1. La réduction de nitrate**

Ce test permet de mettre en évidence la capacité des bactéries à produire une enzyme respiratoire appelée nitrate réductase. Les souches sont ensemencées dans du bouillon nitraté contenant le nitrate de potassium ( $\text{KNO}_3$ ) et incubés à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24h, 3 gouttes de chacun des réactifs de Griess NR I (acide sulfanilique) et NR II (alpha-naphtylamine) sont ajoutées à la culture. La réduction des nitrates en nitrites est mise en évidence par l'apparition d'une coloration rouge (**Jones, 1926**). En l'absence de cette coloration, quelques milligrammes de poudre de zinc sont alors ajoutés, deux cas sont possibles :

- Apparition de la coloration rouge: les nitrates du milieu ne sont pas réduits par la souche (**résultat négatif**).
- Absence de coloration: les nitrates sont réduits au-delà du stade des nitrites (**résultat positif**).

**7.2.2. Etude de la mobilité et de la dégradation du mannitol**

Ce test permet de déterminer si la bactérie est mobile et capable de dégrader le mannitol. Le milieu utilisé est le mannitol-mobilité (Annexe). C'est une gélose semi molle permettant de rechercher simultanément la

fermentation du mannitol et la mobilité. Le milieu est ensemencé par piqure centrale unique et incubé à 37°C pendant 24h (**MacConkey, 1905**).

### **7.2.3. Mise en évidence de la fermentation des glucides**

Ce test permet de différencier les bactéries par la fermentation de trois sucres (glucose, lactose et saccharose) ainsi que la production de gaz et de sulfure d'hydrogène ( $H_2S$ ). Cette mise en évidence est réalisée sur le milieu T.S.I. (Annexe). La surface de la gélose est ensemencée abondamment par stries serrées et le culot par piqure centrale. Le bouchon du tube est légèrement bouché de façon à permettre l'aération du milieu. La lecture se fait après 24h d'incubation à 37°C (**Kligler, 1917**).

### **7.2.4. Etude de destinée de l'acide pyruvique**

L'acide pyruvique peut être complètement oxydé ou être le point de départ de diverses voies fermentaires conduisant à une grande variété de composés finaux dont la nature est caractéristique des types fermentaires :

(1) La fermentation des acides mixtes : conduit à la production de plusieurs acides et provoque une acidification importante du milieu glucosé. Cette voie est étudiée par le test au rouge de méthylène. (2) La fermentation butylique glycolique : conduit à la réduction de l'acétone en 2-3 butanédiol. Le test VP permet de caractériser l'acétone en présence d'une base forte et de l'alpha-naphtol. Le milieu Clark et Lubs est ensemencé et incubé à 37°C pendant 24h. 01 à 02 gouttes du réactif RM sont ajoutés à 02 du milieu, à un autre 1ml du milieu 0,5 ml du réactif VP1 (soude) et du réactif VP2 (alpha-naphtol) sont ajoutés (**Voges et Proskauer, 1898**).

### **7.2.5. La mise en évidence de la production d'indole**

Certaines bactéries désaminent puis hydrolysent le tryptophane pour donner une molécule d'indole. L'indole réagit avec la fonction aldéhyde du para-diméthyl-amino-benzaldéhyde pour donner un composé coloré en rouge. Le milieu eau peptonée exempte d'indole (Annexe) est ensemencé et incubé 24h à 37°C. L'indole produit est révélé par le réactif de Kovacs (**Kovacs, 1956**).

### **7.2.6. Utilisation du citrate comme seule source de carbone**

Certaines bactéries sont capables d'utiliser le citrate comme seule source de carbone et d'énergie car elles possèdent une citrate perméase et des enzymes de catabolisme du citrate. Ces bactéries sont capables de croître

sur le milieu citrate de Simmons, dont l'unique source de carbone est le citrate. Le milieu citrate de Simmons estensemencé par des stries serrés sur la pente et incubé à 37°C pendant 5 jours (**Simmons, 1962**).

## **8. Mesure de la cinétique de la biodégradation du glyphosate par spectrophotométrie**

### **8.1. Préparation des inocula**

Les suspensions bactériennes de cinq isolats sont préparée dans 9 ml d'une solution saline fraîche pour atteindre une suspension cellulaire de 0,5 McFarland.

### **8.2. Suivi de l'évolution de la biomasse des différents isolats**

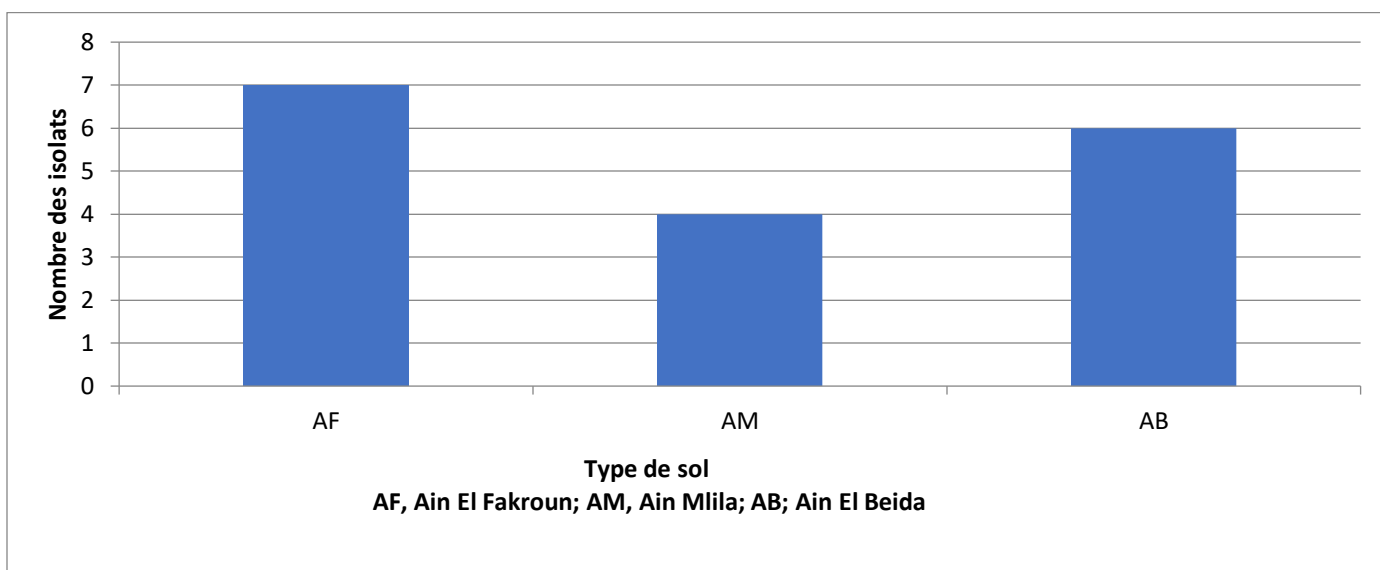
Les cinétiques de dégradation de glyphosate ont été suivie par la mesure de la croissance des isolats cultivaient sur milieu liquide contenant l'herbicide en tant que seule source de carbone. Ces expériences ont été réalisées dans des Erlenmeyers de 250 ml contenant 45 ml du milieu MMM stériles additionnés de 100 mg/l du glyphosate. Un aliquote de 5 ml de chaque inoculum a été utilisé pour inoculer chaque Erlenmeyer. Les milieux sont incubés à 37°C pendant 8 jours sur un agitateur réglé à 150 t/m. 2 ml du milieu de culture sont prélevés à partir de chaque Erlenmeyer à un intervalle de 24 h jusqu'à 192 heures et testés pour la croissance bactérienne en mesurant la densité optique à 600 nm.

**Résultat**  
**et**  
**discussion**

**1. Identification des souches**

La recherche mondiale se concentre sur la dégradation des pesticides organophosphorés par des micro-organismes et le développement de stratégies de bioremédiation pour les sols contaminés en utilisant des micro-organismes capables de décomposer les polluants (**Semple et al., 2001**). Dans cette étude, 17 isolats bactériens ont été obtenus à partir de trois sols différents. Ces isolats ont été testés et ont montré la capacité de croître dans un milieu contenant uniquement l’herbicide glyphosate comme source de carbone et d’énergie.

Un nombre de 07 souches sont isolées du sol de Ain Fakroum (codées S1-S7), 04 souches du sol de Ain M’lila (codées S8-S11) et 06 souches du sol de Ain El Beida (codées AB12-AB17).

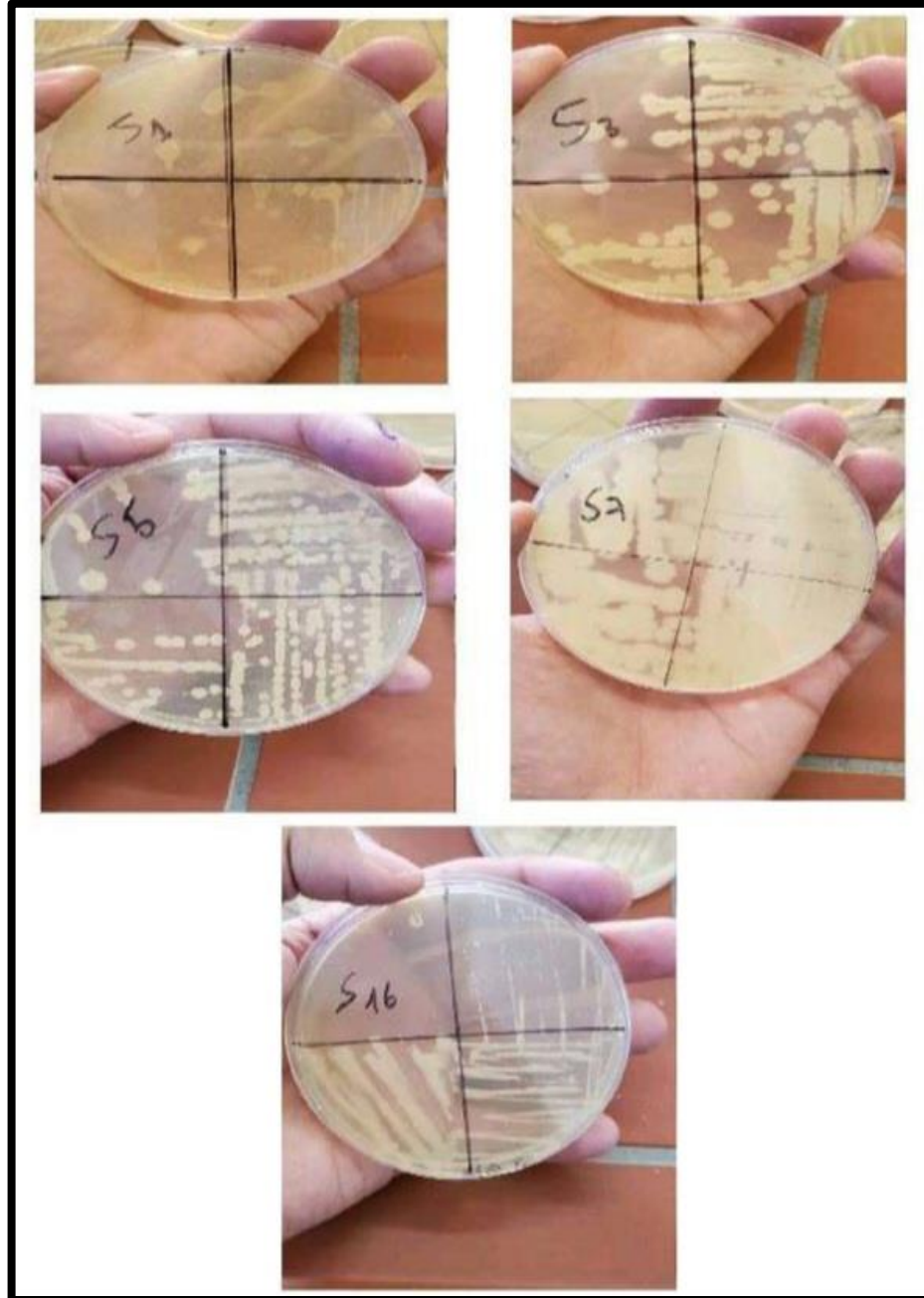


**Figure 09.** Histogramme reflétant le nombre des isolats de chaque sol

Le nombre réduit des isolats peut être expliqué par la toxicité des milieux artificiels due au mode d'action des herbicides Glyphosate qui agit en inhibant voie de l'acide shikimique, métabolique aboutissant à la biosynthèse de certains acides aminés aromatiques. La toxicité de l’herbicide est responsable de l’élimination d'une part importante du microbiote. Cela peut aussi s’expliquer par le fait qu’à des concentrations élevées du glyphosate, les enzymes cataboliques appropriées peuvent être réprimées chez certaines souches sensibles (**Tang et You, 2011**).

Les souches microbiennes isolées dans cette étude, ont facilement résisté à la toxicité du glyphosate présent en fortes concentrations dans les dernières fermentations, ce qui fait leur intérêt écologique. Pour cette raison nous nous sommes intéressé à l’identification de ces souches ainsi qu’à des éventuelles tests de confirmation de leur capacité de biodégradation du glyphosate. Dans cette étude cinq (S1, S3, S5, S7, et S16) souches ont été

sectionnées sur la base de leur caractères morphologiques, où elles ont été caractérisées par un ensemble de tests morphologiques et biochimiques (**Figure 10**).



**Figure 10.**Aspect macroscopique des 5 isolats bactériens sélectionnés

### 1.1. Examen macroscopique

L'observation macroscopique des isolats sélectionnés est résumée dans le **tableau 02** Les caractères de

taille, opacité, couleur, surface, odeur, et texture varient entre les 05 isolats permettant leur distinction comme souches différentes.

**Tableau 02.**Aspect macroscopique des colonies des isolats sélectionnés

Souche Caractères	Taille	Opacité	Couleur	Surface	Odeur	Texture
S1	Moyenne	Transparent	Blanche	Lisse	Légere	Muqueuse
S3	Petite	Opaque	Beige	Lisse	Fort	Lisse granuleuse
S5	Grand	Transparent	Beige	Lisse	Mauvaise	Lisse granuleuse
S7	Grand	Transparent	Beige	Lisse	Sans odeur	muqueuse
S16	Moyenne	Transparent	Beige	Lisse	légère	Lisse

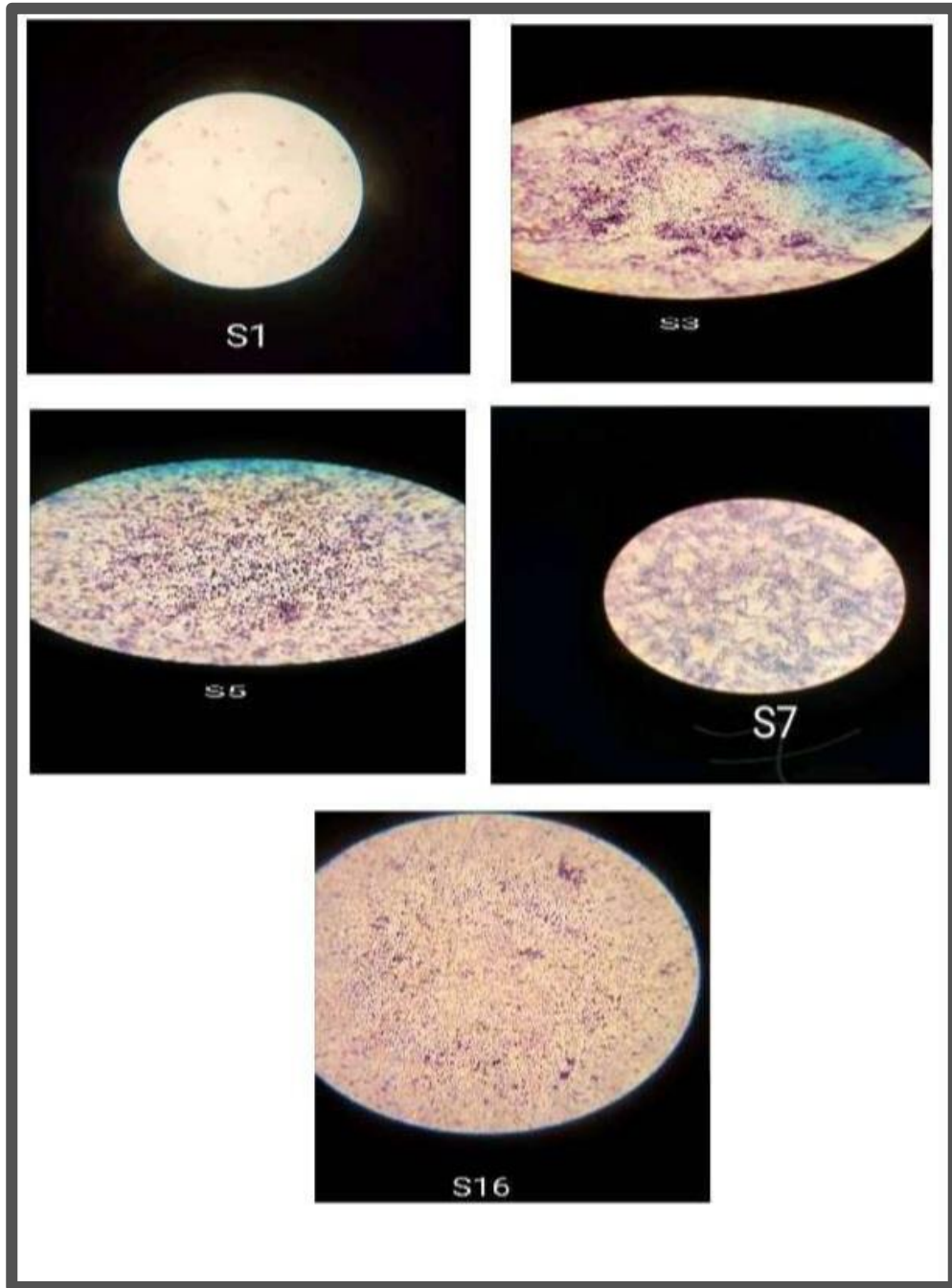


Figure 11. Quelques photos de la coloration de Gram des isolats

**Tableau03.** Résultats de la coloration de Gram pour les cinq souches sélectionnées

	Gram	Forme	Regroupement
S1	-	Cocci	En amas
S3	-	Bacille	Séparés
S5	+	Cocci	Diplocoque
S7	+	Bacille	En chaînette
S16	+	Bacille	Séparés

**1.2. Examen biochimique**

Les résultats des tests biochimiques des 05 souches sont représentées dans le **tableau04.**

**Tableau 04.** Résultats de l'identification biochimique des souches sélectionnées

Les tests souches	Eau peptone Extrait d'indol	Bouillon nitraté	Clark Lubs et	Citrate simmons de	Manitol mobilité
S1	-	+	+	+	+/Mobile
S3	-	+	+	+	-/Immobile
S5	-	+	+	+	-/Immobile
S7	-	+	+	+	-/Immobile
S16	+	+	+	+	-/Immobile

**1.2.1. Test d'indole**

Après l'ajout du réactif de Kovacs, une seule souche, S16, a produit un anneau rouge, suggérant sa capacité à produire de l'indole par la désamination et l'hydrolyse du tryptophane présent dans le milieu de culture. La production d'indole est catalysée par une enzyme bactérienne appelée « la tryptophanase », qui dégrade le tryptophane en indole, acide pyruvique et ammoniac. Comme l'indole est apolaire, il est soluble dans les solvants organiques et réagit fortement en milieu acide avec le para diméthylamino-benzaldéhyde présent dans le réactif de Kovacs, ce qui explique l'apparition de l'anneau rouge



**Figure 12 :** Test d'indole

### **1.2.2. Recherche de la nitrate réductase**

D'après les résultats de la recherche de la nitrate réductase, toutes les souches ont montré une réaction positive (indiquée par l'apparition d'une couleur rouge après l'ajout des réactifs NIT1 et NIT2), ce qui indique leur capacité à utiliser le nitrate comme accepteur final d'électrons dans leur processus de respiration anaérobie, et à le réduire en nitrite.

### **1.2.3. Test du citrate**

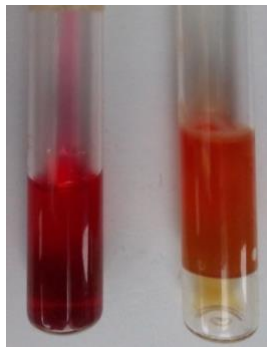
Après au moins 3 jours d'incubation, toutes les souches ont provoqué un changement de couleur du milieu de citrate de Simmons, passant du vert au bleu. Ce changement indique que ces souches sont capables d'utiliser le citrate, ce qui suggère la présence d'un citrate perméase et d'enzymes impliquées dans le catabolisme du citrate. Seules les bactéries autotrophes sont capables de croître en utilisant le citrate comme seule source de carbone, ce qui provoque une augmentation du pH du milieu, car le citrate est le premier composé du cycle de Krebs. Par conséquent, si une souche utilise le citrate, elle se développera et le milieu s'alcalinise, entraînant un changement de couleur du vert au bleu.



**Figure 13** : test de citrate

- **1.2.4. Test du mannitol mobilité**

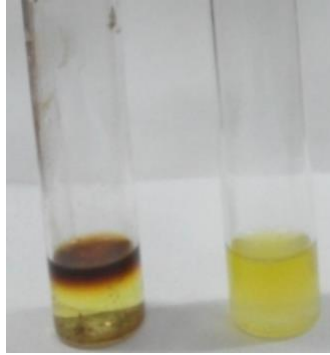
Seule la souche S1 a présenté une réaction positive pour l'utilisation du mannitol, comme indiqué par un changement de couleur du milieu vers le jaune après 24 heures d'incubation



**Figure 14:** Test de Mannitol Mobilité

**1.2.5. Test VP**

Pour toutes les souches, une couleur rouge est observée après ajout des réactifs VP1 et VP2 dans le milieu Clarck et Lubs, indiquant que ces souches empruntent la voie fermentative butanédiolique.



**Figure 15:** Test de la voie fermentative VP+/RM-



**Figure16.** Résultats des tests biochimiques des 05 isolats sélectionnés

En raison du nombre limité de tests biochimiques disponibles dans notre étude, en particulier le test de catalase et d'oxydase, l'identification des isolats sera difficile. L'utilisation de tests supplémentaires est donc indispensable. Ces tests supplémentaires pourraient inclure des tests de fermentation de différents sucres, des tests

de coagulase, des tests d'hydrolyse d'amidon, etc. En utilisant une combinaison de tests, il sera plus facile de différencier les isolats et de les identifier avec précision.

Plusieurs espèces de bactéries ont été isolées à partir d'environnements préalablement traités et non traités, qui peuvent dégrader le glyphosate soit de manière co-métabolique, soit en tant que source de phosphore. Plusieurs espèces de *Pseudomonas* capables de dégrader le glyphosate ont été isolées (Moore, 1983 ; Quinn, 1989). De même, un *Flavobacterium* sp. (Balthazor & Hallas, 1986), un *Alcaligenes* sp. (Tolbot, 1984), *Bacillus megaterium* souche 2BLW (Quinn, 1989), plusieurs espèces de *Rhizobium* (Liu, 1991), trois espèces d'*Agrobacterium* (Liu, 1991) et un *Arthrobacter* sp. (Pipke, 1987) ont également été signalés comme dégradant cet herbicide.

## 2. Suivre de l'évolution de la biomasse des différentes souches en présence du glyphosate comme seule source de carbone par spectrophotométrie

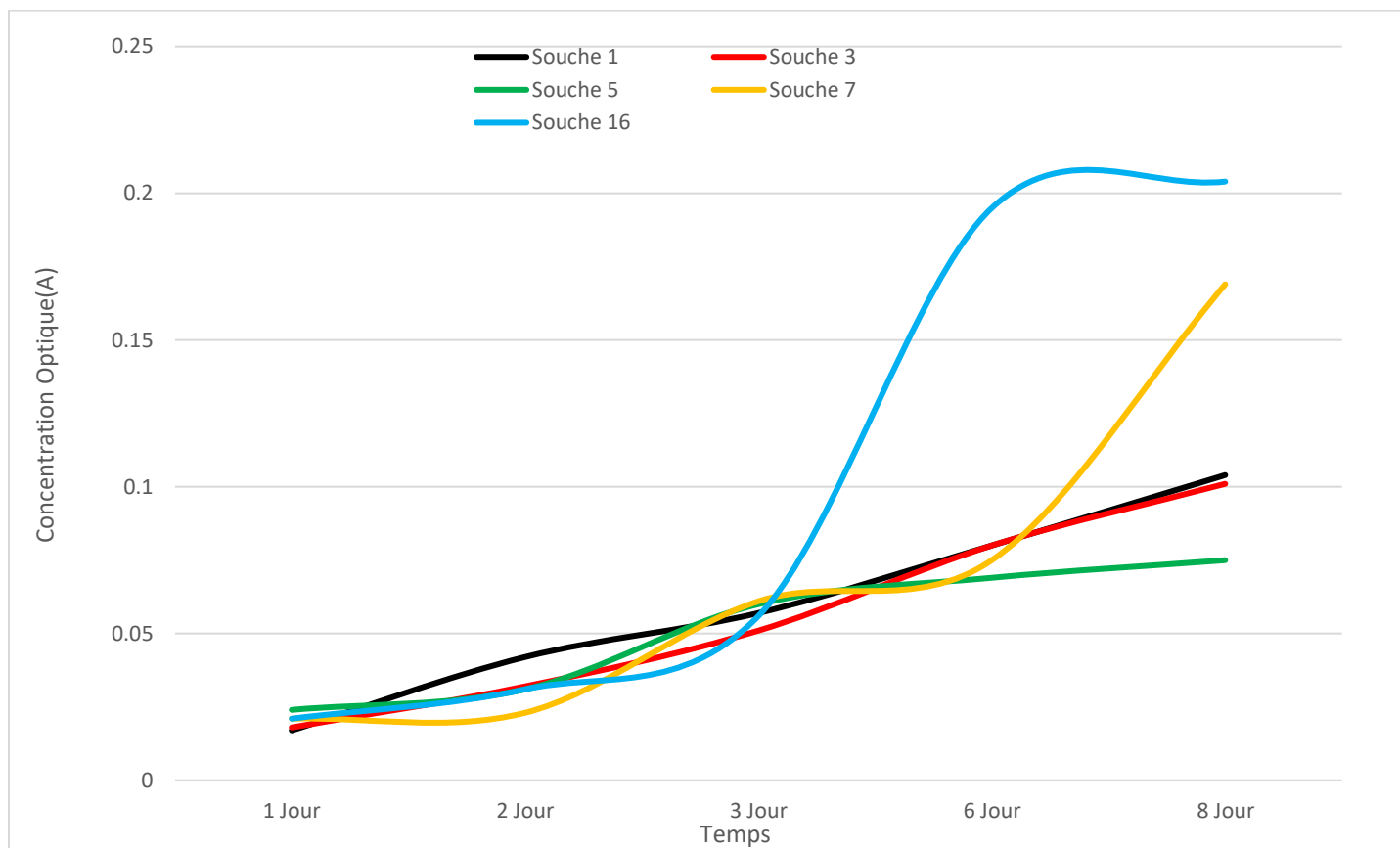
Les cinq souches S1, S3, S5, S7, S16 ont été sélectionnées dans l'expérience de la dégradation de l'herbicide glyphosate comme seule source de carbone.

Les cinétiques de croissance des 05 souches ont été suivies dans le temps à 600 nm, en utilisant le MMM enrichi de l'herbicides à 100 mg/l comme seule source de carbone. Les différents DO sont pris chaque 24 heures durant 8 jours, et les courbes de croissances sont tracées et représentées dans le **Tableau 05** et la **figure 17**

**Tableau 05.** Mesures de DO prises durant huit jours de fermentation

	S1	S3	S5	S7	S16
J1	0.017	0.018	0.024	0.021	0.021
J2	0.042	0.032	0.031	0.023	0.031
J3	0.057	0.051	0.060	0.061	0.056
J6	0.080	0.101	0.069	0.169	0.195
J8	0.104	0.050	0.075	0.075	0.204

Les cinq courbes  $DO = f(t)$  obtenues ont l'allure de courbes de croissance bactérienne classique.



**Figure 17:** Cinétique de croissance des souches sélectionnées en présence du glyphosate comme seule source de carbone

Au jour 1 (J1), on observe que la souche S5 a une densité optique légèrement plus élevée que les autres souches, tandis que la souche S3 a la densité optique la plus faible. Cela suggère que la souche S5 peut avoir une croissance de base plus rapide et une meilleure adaptation au substrat glyphosate.

En observant les courbes de croissance des souches sur les 8 jours, on remarque que la souche S3 semble être la plus affectée par la présence de glyphosate. Sa densité optique reste relativement basse par rapport aux autres souches tout au long de l'expérience. Cela suggère que la souche S3 pourrait être plus sensible au glyphosate ou à l'un de ses sous-produits de dégradation qui peut inhiber sa croissance.

Du J1 au J3 Les autres souches (S1, S3, S5, S7, S16) semblent montrer une croissance plus similaire les unes aux autres en présence de glyphosate. Cependant, des différences subtiles peuvent être observées. Par exemple, la souche S7 et S16 conserve généralement une densité optique légèrement plus élevée dès le 3<sup>ème</sup> jour par rapport, suggérant une résistance relative au glyphosate et une utilisation plus efficace de l'herbicide.

Au sein de chaque souche, on peut observer des variations dans les profils de croissance. Par exemple, la souche S16 montre une augmentation progressive de la densité optique au fil du temps, atteignant une valeur relativement élevée au jour 8 (J8). En revanche, la souche S16 atteint rapidement un pic de densité optique au jour 3 (J3), puis connaît une stabilisation de la croissance.

Les variations observées dans la croissance des différents isolats testés dans cette expérience peuvent être attribuées à leur différence de tolérance aux herbicides. Ces microorganismes peuvent présenter des niveaux variables de résistance ou de sensibilité aux herbicides étudiés. De plus, ces différences de croissance peuvent également être influencées par les compétences métaboliques spécifiques de chaque souche vis-à-vis des herbicides.

Les phases de latence observées indiquent que les souches bactériennes se sont adaptées plus ou moins rapidement à la source de carbone utilisée, c'est-à-dire le glyphosate. L'augmentation de la biomasse microbienne pendant les premiers jours correspond à la phase exponentielle de croissance, au cours de laquelle la disponibilité du substrat (glyphosate) est suffisante pour répondre aux besoins métaboliques des souches.

Cependant, la stabilisation de la concentration microbienne au-delà de 5 jours pour les souches S1, S3, S5 et S7 indique que les exigences nutritionnelles des souches dépassent la vitesse de dissolution du substrat. Cela signifie que la biodisponibilité du glyphosate devient limitante, entraînant une phase stationnaire de croissance.

Les observations suggèrent que chaque souche bactérienne présente une adaptation différente à la source de carbone (glyphosate) utilisée. Les variations dans la croissance peuvent être attribuées à la tolérance individuelle aux herbicides et aux compétences métaboliques spécifiques des souches vis-à-vis des herbicides étudiés. De plus, la limitation de la biodisponibilité du glyphosate peut entraîner une stabilisation de la concentration microbienne, caractérisant une phase stationnaire de croissance.

# Conclusion

## CONCLUSION

---

---

L'objectif de cette étude était d'isoler et de caractériser des souches bactériennes à partir de différents sols agricoles de trois régions de la wilaya d'Oum El Bouaghi en Algérie, afin de mettre en évidence leur capacité de biodégradation de l'herbicide glyphosate. 16 isolats bactériens ont démontré la capacité de croître dans un milieu contenant uniquement le glyphosate comme source de carbone et d'énergie. Les souches microbiennes isolées dans cette étude ont montré une résistance à la toxicité du glyphosate, ce qui suggère leur intérêt écologique dans la dégradation de cet herbicide.

Parmi les 16 souches isolées, cinq souches (S1, S3, S5, S7 et S16) ont été sélectionnées pour une caractérisation plus approfondie. Les caractères morphologiques, macroscopiques et microscopiques de ces souches ont été étudiés. Les résultats ont révélé des variations dans la taille, l'opacité, la couleur, la surface, l'odeur et la texture des colonies des souches, permettant leur distinction en tant que souches différentes. De plus, les tests de coloration de Gram ont révélé que S1 et S3 étaient Gram négatif, tandis que S5, S7 et S16 étaient Gram positif.

Les tests biochimiques ont également été effectués pour identifier les caractéristiques métaboliques des souches sélectionnées. Les résultats ont montré des réponses différentes pour chaque souche dans les tests, tels que le test d'indole, le bouillon nitrate, le test de Clark et Lubs, le citrate de Simmons et le mannitol.

L'évolution de la biomasse des cinq souches sélectionnées en présence du glyphosate comme seule source de carbone a été suivie par spectrophotométrie. Les courbes de croissance obtenues ont montré une augmentation de la densité optique au cours des premiers jours, correspondant à une phase exponentielle de croissance. Les variations observées dans la croissance des différentes souches peuvent être attribuées à leur tolérance individuelle aux herbicides et à leurs compétences métaboliques spécifiques. Certaines souches ont montré une croissance plus rapide et une meilleure adaptation au glyphosate, tandis que d'autres ont été plus sensibles à cet herbicide.

Ces résultats suggèrent que ces souches bactériennes présentent une diversité dans leur capacité d'adaptation à la source de carbone utilisée (glyphosate) et à leur tolérance aux herbicides.

En conclusion, dans cette étude on a réussi à isoler des souches bactériennes susceptibles de dégrader le glyphosate à partir de sols agricoles. Les souches sélectionnées ont montré des caractéristiques morphologiques et biochimiques distinctes, suggérant une diversité microbienne dans les sols étudiés. Ces souches pourraient avoir un intérêt potentiel dans la biodégradation du glyphosate, offrant ainsi des perspectives pour la bioremédiation des sols contaminés par cet herbicide. Des études supplémentaires seront nécessaires pour approfondir la compréhension des mécanismes de biodégradation du glyphosate par ces souches bactériennes et pour évaluer leur efficacité dans des conditions environnementales réelles.

**Références**

**bibliographique**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

---

- Acquavella J, Garabrant D, Marsh G, et al.** (2016) Glyphosate epidemiology expert panel review: a weight of evidence systematic review of the relationship between glyphosate exposure and non-Hodgkin's lymphoma or multiple myeloma. *Critical Reviews in Toxicology* 46(sup1):28-43.
- ACTA.** (2006). Index phytosanitaire, Association De Coordination Technique Agricole, 194 rue de Bercy, 75595 Paris.
- Aris, A., & Leblanc, S.** (2011). Maternal and fetal exposure to pesticides associated to genetically modified foods in Eastern Townships of Quebec, Canada. *Reproductive toxicology*, 31(4), 528-533.  
<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.02.004>
- Ayad Mokhtari N.** (2012). Identification et dosages des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés. Mémoire magister, Oran. 87p
- Balthazor TM & Hallas LE** (1986) Glyphosate-degrading microorganisms from industrial activated sludge. *Appl Environ Microbiol* 51: 432-434.
- Barriuso, E. et Calvet, R.** (1992). Soil Type and Herbicides Adsorption. *Environmental Analytical Chemistry*. 46: 117-128.
- Baylis A.,** 2000- Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects, *Journal of Pest Management Science*, Vol. 56, p 302.
- Bonanomi A, Giorgetti L, L'Abbate A, et al.** (2019) Glyphosate persistence in seawater microcosms at environmentally relevant concentrations. *Marine Pollution Bulletin* 146:665-670.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

---

**Bragança, Ryan, et al.** "Glyphosate-based herbicide alters the soil microbial community and nutrient dynamics in two contrasting agricultural soils." *Scientific Reports* 10.1 (2020): 13634.

**Calvet, R., Barriuso, E., Bedos, P., Benoit, P., Charnay, M.P. et Coquet, P.** (2005). *Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales*, France agricole, Paris.

**Calvet, R., Barriuso, E., Bedos, P., Benoit, P., Charnay, M.P. et Coquet, P.** (2005). *Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales*, France agricole, Paris.

**Calvet, R., Barriuso, E., Bedos, P., Benoit, P., Charnay, M.P. et Coquet, P.** (2005). *Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales*, France agricole, Paris.

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

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

**Chaplain V., Mamy L., Vieublé-Gonod L., Mougou C., Benoit P., Barriuso E., Néliu S.,**2011 - Fate of pesticides in soils: toward an integrated approach of the most influential factors. In: *Pesticides in the Modern World / Book 3*, ISBN 978-953-307-458-0, Ed. Stoytcheva M.

**Coulibaly, H.** (2005). *Le SCV (Semis direct sous Couverture Végétale), un élément*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

---

Couture G., Legris J. et Langevin R., 1995- Évaluation des impacts du glyphosate utilisé dans le milieu forestier. Direction de l'environnement forestier, Service du suivi environnemental, Ministère des Ressources naturelles, gouvernement du Québec, Québec, 199 p.

**Doliner L.H.** (1991). Emploi avant récolte du glyphosate (RoundupMD). Document de travail, Agriculture Canada, Direction des pesticides. 107 p.

**Duke, S. O.** (2018). Glyphosate: A unique global herbicide. American Chemical Society Publications, 118, 65-88. <https://doi.org/10.1021/bk-2018-1270.ch005>

FAOSTAT,2017.FAOSTAT, [http:// http://www.fao.org/faostat/en/#data.15/05/2017](http://www.fao.org/faostat/en/#data.15/05/2017).

**Flogeac ,K.** (2004). Etude de la capacité de rétention de produits phytosanitaires par deux solides modèles des sols, Influence de la présence des cations métalliques. Thèse de doctorat, Université de Reims, France, 162 p.

**Flogeac, K.** (2004). Etude de la capacité de rétention de produits phytosanitaire par deux solides modèles des sols. Influence de la présence des cations métalliques. Thèse (docteur de l'université de Reims Champagne-Ardenne). Chapitre 1 (p10-20).

**Gagné C.**2003. L'utilisation des pesticides en milieu agricole. Mémoire de fin d'étude.Université du Québec à Rimouski.17p

**Garon-Boucher, C.**(2003). Contribution à l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulements dans les fosses : caractérisation physico-chimique et hydrodynamique. Thèse de Doctorat, Université Joseph-Fourier, Grenoble, p 15.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

---

**Guiraud, J.P.** (1998). Microbiologie Alimentaire. Dunod (Ed.). Paris. France. 652 p.

**Hichem B., Fadhela M M., Amel H Z., Arezki B.,** 2022. Chronic Effect Six Pesticides Mixture Traces On Biochemical, Hematological, and Histological Parametres Of Liver and Kidney In Female Wistar rats. Nutrition & Santé, 11: p.118-129.

**Ibanez M., Pozo O., Sancho J., Lopez E. et Hernandez F.,** 2005- Residue determination of glyphosate, glyphosinate and aminomethylphosphonicacid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. Journal of chromatography, p 146

**Ioppolo, A., et al.** "Glyphosate and AMPA effects on soil microbial biomass and bacterial community structure." PLOS ONE 9.12 (2014): e113895.

**Joffin, J., Leyral, G.** (2002). Microbiologie Technique. CNDP d'Aquitaine (2eEd.). Bordeaux. 299 p.

**Jones, F. T.** (1926). The Nitrate Reduction Test for the Differentiation of Bacteria. The Journal of Infectious Diseases, vol. 39, no. 3, pp. 302-311.

**Kligler IJ** (1917). The Lactose Fermentation of Certain Members of the Colon Aerogenes Group, and Its Significance in Bacteriology. The Journal of Infectious Diseases, vol. 21, no. 2, pp. 159-174.

**Kovacs N** (1956). Identification of Pseudomonas pyocyanea by the oxidase reaction. Nature, vol. 178, no. 4535, pp. 703-704.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

---

**Liu CM Mclean PA Sookdeo CC & Cannon FC** (1991) Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family Rhizobiaceae. *Appl Environ Microbiol*57: 1799–1804.

**Mac Conkey, AT.** (1905). Lactose-fermenting bacteria in faeces. *The Lancet*, vol. 166, no.4274, pp. 1664-1665

**MACCARIO S.,** 2020.risque de persistance et Impact sur les fonctions du sol des herbicides à base de glyphosate en grandes cultures de maïs et soya. thèse de doctorat: sciences de l'environnement , p254.

**MacFaddin, J.F** (2000). *Biochemical tests for identification of medical bacteria.* Lippincott Williams & Wilkins

**Mahmood, I., Imadi, S.R., Shazadi, K., Gul, A., Hakeem, K.R.** (2016). Effects of Pesticides on Environment. In: Hakeem, K., Akhtar, M., Abdullah, S. (eds) *Plant, Soil and Microbes.* Springer, Cham.

**ManseurAissa.,** (2018). Algérie, utilisation des pesticides, un meilleur contrôle s'impose.

**Mesnager R, Biserni M, Wozniak E, et al.** (2021) Environmental and human exposure to glyphosate-derived pesticides and potential associated health impacts: A scoping review of epidemiological studies. *Environmental Health: A Global Access Science Source* 20(1):19.

**Mesnager R., & Antoniou, M. N.** (2017). Glyphosate and cancer: Time to move beyond genotoxicity. *Frontiers in public health*, 5, 316. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00316>

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

---

**Moore IK Braymer HD & Larson AD** (1983) Isolation of a *Pseudomonas* sp. which utilises the phosphonate herbicide glyphosate. *Appl Environ Microbiol*46: 316–320.

**NDJOUHOU M N** .,2012 . Caractérisation de la birnessite electrodeposee: application a la dégradation du glyphosate . thèse de doctorat.universite d'Evry val d'Essonne,p64.

**Noriane C.**, 2022. Exposition résidentielle aux pesticides pendant la grossesse et santé du jeune enfant.Thèse de doctorat:Épidémiologie, Analyse de Risque et Recherche Clinique.L&#39;université de Rennes 1,176p.

**Pesticide Manuel.** (1995). 10th . Ed. C. Tomlin, Ed., Crop Protection Publication, BritishCrop Protection Council, The Royal Society of Chemistry, London, UK.

**Pipke R Amrhein N Jacob GS Kishore GM & Schaefer J** (1987) Metabolism of glyphosate in an *Arthrobacter* sp. GLP-1. *Eur J Biochem*165: 267–273.

**Quinn JP Peden JMM & Dick RE** (1989) Carbon-phosphorus bond cleavage by gram-positive and gram-negative soil bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol*31: 283–287.

**Rueppel M.L., Brightwell B.B., Schaefer J. et Marvel J.T.** (1977). Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. *J. Agric. Food Chem.* 25: 517-528.

**Sammons RD, Gaines TA** (2014) Glyphosate resistance: state of knowledge. *Pest Management Science* 70(9):1367-1377.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

---

**Semple, K.T. Reid, B.J. et Fermor, T.R.** (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution*.112: 269-283.

**Simmons, H. A.** (1926). Citrate utilization by bacteria of the colon-aerogenes family. *Journal of Bacteriology*, vol. 12, no. 2, pp. 161-176

**SimranjeetSingh , Vijay Kumar , Jatinder Pal Kaur Gill , Shivika Datta , Satyender Singh , Vaishali Dhaka , Dhriti Kapoor , Abdul Basit Wani , Daljeet Singh Dhanjal , Manoj Kumar , S L Harikumar , Joginder Singh.** *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Oct; 17(20): 7519. doi: 10.3390/ijerph17207519

**Singh BK.**(2019). Microbial degradation of herbicides. In: Singh BK. (eds) *Environmental Microbiology*. Springer, Singapore.

**Sprankle P., Meggitt W.F. et Penner D.** (1975). Adsorption, Mobility, and Microbial Degradation of Glyphosate in the Soil. *Weed science*. 23(3): 229-234.

**Stephenson C L ., Harris C A.,** 2016. An assessment of dietary exposure to glyphosate using refined deterministic and probabilistic methods *Food and chemical toxicology* 95(2016) 28-41.stratégique de gestion durable des terres agricoles : uneexpérience française comme base de réflexion pour le Mali. Mémoire (DEPA. France). Chapitre 2 (p13-20).

**Tahar W.,BordjibaO.,Aimeur N.,**2017.Effet de l'&#39;hymexazole et de la promethryne sur la qualité physico-chimique et biologiques des sols agricoles .*Rev.sci.technol.*, synthèse 35:p37-44.

**Tang, M. et You, M.** (2011). Isolation, identification and characterization of a novel triazophos-degrading *Bacillus* sp. (TAP-1). *Microbial Research*. 167:299–305.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

---

**Tolbot HW Johnson LM & Munneck DM** (1984) Glyphosate utilization by *Pseudomonas* sp. and *Alcaligenes* sp. isolated from environmental sources. *Curr Microbiol* 10: 255–259

**Voges, O. and Proskauer, B.** (1898). Die Beziehungen der Harnsäure zur Nucleinsäure und zuden Purinkörpern. *Zeitschrift für Physiologische Chemie*, vol. 26, no. 6, pp. 441-476.

**Ying Hou; Jian Tao; Wenjing Shen; Juan Liu; Jingquan Li; Yongfeng Li; Hui Cao; Zhongli Cui**, 2011: Isolation of the fenoxaprop-ethyl FE-degrading bacterium *Rhodococcus* T1, and cloning of FE hydrolase gene *feh*. *FEMS Microbiology Letters* 323(2): 196-203.

**Zabaloy, María Celina, et al.** "Glyphosate reduces spore viability and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi." *Applied Soil Ecology* 144 (2019): 211-219.

**ZHANG Yu, CHEN Hua-feng, WANG Lei, CHEN Feng.** Residual Dynamic Analysis of Haloxypop-(R)-methyl in Cabbage and Soil[J]. *Pesticides*, 2009, 48(1).

**Zhang, X., Mao, D., & Wu, Y.** (2019). Glyphosate exposure, oxidative stress, and antioxidant status in humans: A systematic review and meta-analysis. *Environmental science and pollution research international*, 26(4), 3353-3363. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3867-6>

# **Annexe**

# ANNEXE

---

---

## Gélose Nutritive additionnée

Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Peptone	5g
Chlorure de sodium	5g
Herbicide	100mg
Agar	15g
Eaudistillée	1000ml

pH final : 7,4

## Milieu minéral minimum (MMM)

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1,5g
$\text{NO}_2\text{HPO}_4$	0,6 g
NaCl	0,5 g
$\text{NH}_4\text{SO}_4$	2g
$\text{MgSO}_4$	0,2g
$\text{CaCl}_2$	0,01g
$\text{FeSO}_4$	0,001g
Eau distillée	1000ml

pH : 7

## Solution d'eau physiologique :

- NaCl : 9g.
  - Eau distillée : 1000ml.
- Stérilisation à 120 °C pendant 20m

## Milieu Gélose nutritive (ordinaire)

Extrait de viande	:	1g
Extrait de levure	:	2.5g
Peptone	:	5g
Chlorure de Sodium	:	5g
-Agar	:	15g
Eau distillé	:	1000ml

## ANNEXE

---

---

### Géloseminérale minimum additionnée

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,5g
NO <sub>3</sub> HPO <sub>4</sub>	0,6g
NaCl	0,5g
NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub>	0,2g
CaCl <sub>2</sub>	0,01g
FeSO <sub>4</sub>	0,001g
Herbicide	300mg
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

pH :  
7

### Bouillon nutritif

Peptone	10 g
Extrait de levure	5 g
NaCl	5 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7,2

### Citrate de Simmons

Citrate de sodium	1g
Chlorure de sodium	5g
Sulfate de magnésium	0,2g
Phosphate mono-ammonique	1g
Phosphate dipotassique	1g
Bleu de bromothymol	0,08g
Agar	15g
Eaudistillée	1000ml

pH : 6,8 ± 0,2

### Clark et Lubs

Peptone	7g
Glucose	5g
Phosphate dipotassique	5g

pH : 6,9 ± 0,2

### Eaupeptonéexempted'indole

Tryptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillée	1000ml

pH : 7,2

# ANNEXE

---

---

## **Bouillon nitraté**

Infusion coeur-cervelle	25g
Nitrate de sodium	10g
Eaudistillée	1000ml

pH : 7,2

## **Mannitol-Mobilité**

Hydrolysate trypsique de caséine	10g
Mannitol	7,5g
Rouge de phénol	0,0004g
Nitrate de potassium	1g
Agar	3,5g
Eau distillée	1000ml

pH : 7,6

## **T.S.I. Triple Sugar Iron :**

Tryptone	14g
Extrait autolytique de levure	3g
Extrait de viande	3g
Glucose	1g
Lactose	10g
Saccharose	10g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	0,3g
Citrate ferrique ammoniacal	0,3g
Rouge de phénol	0,024g
Agar	13,5g
Eaudistillée	1000ml

pH : 7,4 ± 0,2

# Résumé

# RESUME

---

---

## Résumé

Cette étude porte sur l'isolement et la caractérisation de souches bactériennes capables d'utiliser le glyphosate provenant de sols agricoles de la wilaya d'Oum El Bouaghi, ainsi que sur l'évaluation de leur capacité de croissance en utilisant le glyphosate comme seule source de carbone. 16 souches bactériennes ont été isolées à partir de ces sols. Malgré la toxicité du glyphosate, ces souches bactériennes ont montré une résistance à cet herbicide, ce qui suggère leur potentiel dans la biodégradation de celui-ci. Cinq souches (S1, S3, S5, S7, S16) ont été sélectionnées pour une caractérisation approfondie, révélant des caractéristiques morphologiques et biochimiques distinctes. Les cinq souches ont été et suivies dans le temps par spectrophotométrie pour évaluer l'évolution de leur biomasse. Les résultats ont montré que toutes les souches étaient capables de croître en utilisant le glyphosate comme unique source de carbone et d'énergie. Les courbes de croissance obtenues ont révélé une phase exponentielle de croissance initiale, suivie d'une phase stationnaire au-delà de cinq jours. Des variations ont été observées entre les souches, suggérant une diversité dans leur tolérance et leur adaptation au glyphosate. Ces résultats soulignent la diversité dans l'adaptation et la tolérance des souches au glyphosate, ce qui suggère leur potentiel pour la bioremédiation des sols contaminés par cet herbicide. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes de biodégradation et évaluer l'efficacité de ces souches bactériennes dans des conditions environnementales réelles.

**Mots Clés :** Isolement, Glyphosate, Biodégradation, Sols agricoles

# RESUME

---

---

## Abstract

This study focuses on the isolation and characterization of glyphosate-competent bacterial strains from agricultural soils in the wilaya of Oum El Bouaghi, and the evaluation of their growth capacity using glyphosate as the sole carbon source. Sixteen bacterial strains were isolated from these soils. Despite glyphosate toxicity, these bacterial strains showed resistance to this herbicide, suggesting their potential in glyphosate biodegradation. Five strains (S1, S3, S5, S7, S16) were selected for in-depth characterization, revealing distinct morphological and biochemical characteristics. The five strains were monitored over time by spectrophotometry to assess changes in their biomass. The results showed that all strains were able to grow using glyphosate as their sole source of carbon and energy. The growth curves obtained revealed an initial exponential growth phase, followed by a stationary phase beyond five days. Variations were observed between strains, suggesting diversity in their tolerance and adaptation to glyphosate. These results underline the diversity in adaptation and tolerance of strains to glyphosate, suggesting their potential for bioremediation of soils contaminated by this herbicide. Further research is needed to understand the biodegradation mechanisms and assess the efficacy of these bacterial strains under real environmental conditions.

**Keywords:** Isolation, Glyphosate, Biodegradation, Agricultural soils