



UNIVERSITE FRERES MENTOURI
CONSTANTINE 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

N° d'ordre : 64/D3C/2022

N° de série : 01/MB/2022

Thèse

Présentée pour l'obtention
Du Diplôme de Doctorat 3ème cycle
En Microbiologie générale et appliquée
Par

BOUFERCHA Oumeima

Thème

**Capacité des actinobactéries isolées à partir des stations d'épuration des
eaux usées ainsi que *Labrys portucalensis* F11 à dégrader certains
pesticides**

Soutenue le : 13/07/22

Membres de jury:

Président :	Mr. KITOUNI Mahmoud	Professeur U. Frères Mentouri-Constantine1
Directeur de thèse:	Mr. BOUDEMAGH Allaoueddine	Professeur U. Frères Mentouri-Constantine1
Examineur :	Mr. ALI-KHODJA Hocine	Professeur U. Frères Mentouri-Constantine1
Examineur :	Mr. SILINI Allaoua	Professeur U. Ferhat Abbas-Sétif

Année universitaire
2021 - 2022

À mon défunt cher frère **Oussama Taki Eddine**

Qui m'a soutenu, réconforté et encouragé tout au long de ma vie. Regarde cher frère j'y suis presque, j'espère que tu es fière de moi. Que ce travail soit l'expression de mon estime et mon amour pour toi. Puissant Dieu l'avoir en sa sainte miséricorde.

À la mémoire de mon grand-père paternel **Mohamed**

Qui a été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, à qui je dois ce que suis devenue aujourd'hui, je regrette qu'il ne soit plus là pour partager ma joie. Que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

À la mémoire de ma grand-mère paternelle **Hamdoud Bheidja**

C'est avec une joie immense et le cœur ému que je dédie cette thèse à ma chère grand-mère pour son affection généreuse. Elle n'a cessé de prier pour moi durant mon cursus scolaire et m'a encouragé régulièrement. Que son âme repose en paix.

À ma très chère mère **Bensihamdi Fouzia**

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur, quiétude et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

À mon père **Ahcene**

Autant de phrases et d'expressions aussi animées soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur et te protège de tout mal.

À ma chère sœur **Chaima**

Qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille, et qui n'a pas cessé de m'encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu te protège et t'offre la chance et le bonheur. Puisse nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

À mon petit frère **Mohamed Bahaa Eddine**

Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je te porte. Ta bonté, ton précieux soutien, ton encouragement, ton amour et ton affection, ont été pour moi l'exemple de persévérance. Je te souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.

À mes oncles et mes tantes, que Dieu vous préserve santé et longue vie.

À tous mes cousins, mes voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à ce jour.

À tous mes enseignants qui m'ont éclairée la route du savoir.

Je dédie le fruit de mes 24 ans d'études.

Mima

Ce projet est de loin l'accomplissement le plus important de ma vie et il n'aurait pas été possible sans les personnes qui m'ont soutenu et qui ont cru en moi.

Je souhaite exprimer mon profond sentiment d'appréciation et de gratitude à mon honorable superviseur, **Pr. BOUDEMAGH Allaoueddine**. Je le remercie sincèrement pour son égard, ses précieux conseils et son soutien indéfectible tout au long de mes recherches. Son mentorat m'a permis d'élargir mes connaissances et mon expérience dans le domaine de l'environnement et la microbiologie, plus spécialement dans le secteur de traitement des eaux usées et des biodégradations. Sa confiance et son soutien m'ont inspiré dans les moments les plus importants pour prendre les bonnes décisions et je suis heureuse de travailler sous sa supervision.

Mes sincères remerciements sont adressés au **Pr. KITOUNI Mahmoud** pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Je tiens également à remercier le **Pr. ALI-KHODJA Hocine** et le **Pr. SILINI Allaoua** de m'avoir accepté de juger ce travail.

J'exprime ma sincère gratitude à **Pr. Paula Maria Lima Castro** d'avoir accepté de m'accueillir dans son laboratoire ainsi que pour ses commentaires perspicaces et critiques constructifs et les facilités fournies tout au long de ma période de travail à Universidade Católica Portuguesa. Son véritable intérêt et sa vigilance dans la recherche m'ont vraiment motivé et m'ont aidé à l'achèvement de mes travaux de thèse.

De simples mots de remerciement sont inadéquats pour le **Dr. Irina Sousa Moreira** pour son accompagnement, sa patience et ses conseils en matière de formation ainsi que l'aide qu'elle m'a apportée de tout cœur en toutes occasions. Son intuition scientifique m'a inspiré et enrichi en tant que chercheur. Je lui en serai toujours reconnaissante.

À tous les membres du laboratoire de biotechnologie et ressources environnementales à Universidade Católica Portuguesa en particulier ; **Ana Paulo, Ana Couto, Ana Sofia Silva Sousa** et **Ana Oliveira** ; je suis reconnaissante de m'avoir fait sentir le bienvenu et de m'avoir offert un excellent environnement de travail. J'apprécie le fait que chacune prenne le temps d'écouter et de discuter des problèmes de nature scientifique et non scientifique.

Je chéris l'amitié de mes camarades **Cyntia Ely** et **Maidier Huizi** pour leur coopération active, leur suggestion, leur aide opportune et leur soutien moral durant ce voyage de recherche à Universidade Católica Portuguesa.

Je suis très redevable aux filles de Rosario ; **Talyta Albuquerque, Sabine Ben Amor, Azhar Bondi, Nesrine Bouguerra, Ines Bessrou** et **Kouather Arfaoui** pour leur affection fraternelle, leur encouragements et surtout leur conseils spirituels, qui m'ont aidé à surmonter les obstacles au cours de mon séjour à Porto.

Je suis sincèrement reconnaissante à tous mes collègues du laboratoire de génie microbiologique et application et le laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire pour leur amitié et sympathie, en particulier **Lefaida Cherifa** et **Silini Soumeya**.

Je reconnais avec gratitude le soutien et les encouragements reçus de ma copine **Benmalek Selma**.

Mes immenses remerciements à tout le personnel de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane pour l'aide apportée durant l'échantillonnage et la réalisation des analyses physico-chimiques.

J'aimerais remercier le ministère de l'enseignement supérieur pour la bourse qu'ils m'ont accordée afin de finaliser ma thèse. Cette bourse a été attribuée dans le cadre du Programme National Exceptionnel (PNE).

Remerciements

Par crainte d'oublier de nommer certaines personnes, j'exprime ma gratitude à tous ceux qui m'ont accompagné de près ou de loin jusqu'à aujourd'hui.

Enfin et surtout, j'adresse un grand merci à mes parents, mes frères et ma sœur bien-aimés, qui ont toujours soutenu mes ambitions et mes rêves et pour leur efforts dévoués et inlassables qu'ils m'ont prodigués de mener à bien ma thèse. Mon Dieu vous bénisse.

Mima

Résumé**Abstract****المخلص****Liste des abréviations****Liste des figures****Liste des tableaux****Introduction**1**Revue bibliographique****Chapitre I : Les eaux usées**

1. Types d'eaux usées

1.1. Les eaux usées domestiques.....4

1.2. Les eaux usées pluviales.....4

1.3. Les eaux usées industrielles.....4

1.4. Les eaux usées agricoles.....5

2. Paramètres clés pour l'évaluation de la qualité de l'eau.....5

3. Procédés d'élimination des micropolluants à partir des eaux usées.....6

3.1. Les procédés physiques.....7

3.1.1. L'adsorption.....7

3.1.2. Filtration sur membrane.....7

3.1.3. Coagulation-floculation et sédimentation.....7

3.2. Les procédés chimiques.....8

3.2.1. L'oxydation chimique.....8

3.3. Les procédés biologiques.....9

3.3.1. Système de croissance dispersée.....10

3.3.2. Système de croissance attachée.....11

Chapitre II : Les pesticides

1. Définition.....13

2. Historique.....13

3. Utilité et utilisation des pesticides dans le monde et en Algérie.....15

3.1. Utilisation mondiale.....15

3.2. Utilisation en Algérie.....16

4. Formulation.....16

5. Classification des pesticides.....17

5.1. Classification selon le type de l'organisme cible.....	17
5.1.1. Les fongicides.....	18
5.1.2. Les herbicides.....	19
5.1.3. Les insecticides.....	20
5.1.3.1. Cibles nerveuses et musculaires.....	20
5.1.3.2. Cibles de croissance et de développement.....	21
5.1.3.3. Objectifs de production d'énergie.....	21
5.2. Classification selon la structure chimique.....	21
5.2.1. Les organochlorés.....	22
5.2.2. Les organophosphorés.....	22
5.2.3. Les carbamates.....	22
5.2.4. Les pyréthrine et les pyréthroïdes.....	23
5.3. Les bio-pesticides.....	24
5.3.1. Pesticides biochimiques.....	24
5.3.2. Agents de protection incorporés dans les plantes.....	24
5.3.3. Pesticides microbiens.....	24
6. Impact des pesticides sur la santé humaine.....	25
6.1. Voies d'exposition de l'homme aux pesticides.....	25
6.1.1. Exposition cutanée.....	25
6.1.2. Exposition orale.....	26
6.1.3. Exposition respiratoire.....	26
6.1.4. Exposition des yeux.....	27
6.2. Impact des pesticides sur la santé humaine.....	27
6.2.1. Le cancer.....	27
6.2.2. Le diabète.....	28
6.2.3. Les troubles respiratoires.....	28
6.2.4. Les troubles neurologiques.....	28
6.2.5. Les syndromes reproductifs.....	29
7. Les pesticides dans l'environnement et leurs impacts sur l'écosystème.....	29
7.1. Devenir des pesticides dans l'environnement.....	29
7.1.1. Le transfert des pesticides.....	30
7.1.2. La Dégradation des pesticides.....	32
7.2. Impact des pesticides sur l'écosystème.....	33
7.2.1. Risque sur la biodiversité.....	33

7.2.2. Impact sur les organismes non ciblés.....	33
7.2.3. Impacts sur la microflore du sol.....	34
7.2.4. Impact sur les espèces aquatiques.....	34
8. Les pesticides dans les ressources d'eau.....	34
Chapitre III : La biodégradation des pesticides	
1. Stratégies de réduction de l'impact négatif des pesticides.....	37
1.1. La minéralisation.....	38
1.2. Le co-métabolisme.....	38
2. Mécanisme de la biodégradation des pesticides.....	38
3. Les principaux enzymes microbiens et réactions interviennent lors de la biodégradation des pesticides.....	39
3.1. Les enzymes microbiens.....	39
3.1.1. Les hydrolases.....	40
3.1.2. Les oxydoréductases.....	41
3.1.3. Les transférases.....	41
3.1.4. Les translocases.....	41
3.2. Les réactions enzymatiques impliquées dans la biodégradation des pesticides.....	41
3.2.1. L'oxydation.....	41
3.2.2. L'hydrolyse.....	42
3.2.3. La réduction.....	42
3.2.4. La conjugaison.....	42
3.2.5. Le réarrangement.....	42
3.2.6. La cyclisation.....	42
4. Critères de la biodégradation.....	43
4.1. La souche.....	43
4.2. Les conditions environnementales optimales.....	43
4.3. La disponibilité des nutriments.....	44
4.4. La toxicité.....	44
4.5. La structure des pesticides.....	44
5. Micro-organismes impliqués dans la biodégradation des pesticides.....	45
5.1. La dégradation par les champignons.....	45
5.2. La dégradation par les bactéries.....	46
5.2.1. Dégradation des pesticides par les actinobactéries.....	46

6. Stratégies d'amélioration de la biodégradation des pesticides.....	47
6.1. Utilisation de cultures mixtes.....	48
6.2. Immobilisation des cellules.....	48
7. Application de la remédiation microbienne.....	49
7.1. Techniques <i>in situ</i>	49
7.1.1. L'atténuation naturelle.....	49
7.1.2. La biostimulation.....	49
7.1.3. La bioaugmentation.....	50
7.1.4. La bioventilation.....	50
7.1.5. Le biosparging.....	50
7.2. Technique <i>ex situ</i>	50
7.2.1. Les Bioréacteurs.....	50
7.2.2. Le compostage.....	51
8. Applications sur le terrain.....	51
 Chapitre IV : Les actinobactéries	
1. Historique et généralités sur les actinobactéries.....	53
2. Morphologie et développement des actinobactéries.....	54
2.1. Le mycélium de substrat.....	55
2.2. Le mycélium aérien.....	55
2.3. Morphologie de la spore.....	56
2.4. La pigmentation.....	58
3. Ecologie des actinobactéries.....	58
3.1. Environnement terrestre.....	59
3.2. Environnement aquatique.....	59
3.2.1. Eau douce.....	59
3.2.2. Eau marine.....	60
4. Taxonomie des actinobactéries.....	61
4.1. Classification morphologique.....	61
4.2. Classification chimiotaxonomique.....	61
4.3. Classification moléculaire.....	61
5. Actinobactéries utilisés dans la biodégradation des pesticides.....	64

Matériel et Méthodes

1. Présentation de la zone d'étude.....	69
1.1. Description des STEPs.....	69
1.1.1. STEP Ibn Ziad.....	69
1.1.2. STEP Oued El Athmania.....	69
1.1.3. STEP Sidi Merouane.....	69
1.2. Etapes d'épuration des eaux usées dans les trois STEPs.....	69
1.2.1. Le prétraitement.....	70
1.2.2. Le traitement secondaire.....	70
1.2.3. Traitement tertiaire.....	71
2. Prélèvements et mesure des paramètres physico-chimiques.....	72
2.1. Prélèvements.....	72
2.2. Paramètres physico-chimiques et méthodes d'analyse.....	72
2.2.1. Le pH, la température, la conductivité, la salinité et l'oxygène dissous.....	72
2.2.2. La turbidité.....	73
2.2.3. Les Matières en suspension (MES).....	73
2.2.4. La DCO.....	73
2.2.5. La DBO5.....	74
3. Isolement et identification des actinobactéries.....	74
3.1. Isolement, purification et conservation des actinobactéries.....	74
3.2. Identification des actinobactéries.....	75
3.2.1. Identification phénotypique.....	75
3.2.1.1. Préparation des inoculums.....	75
3.2.1.2. Caractérisation morphologique.....	76
3.2.1.3. Caractérisation biochimique.....	76
3.2.1.4. Caractérisation physiologique.....	79
3.2.2. Identification moléculaire.....	79
3.2.2.1. Extraction de l'ADN.....	79
3.2.2.2. Réaction de polymérisation en chaîne.....	80
3.2.2.3. Electrophorèse.....	80
3.2.2.4. Purification et séquençage.....	80
3.2.2.5. Arbre phylogénétique.....	80
4. Criblage des actinobactéries capables de dégrader les pesticides.....	81
4.1. Préparation des suspensions de spores.....	81

4.2. Biodégradation des pesticides sur milieu solide.....	82
4.3. Biodégradation de l'herbicide 2,4-DCP et l'insecticide thiaméthoxame en milieu liquide.....	83
4.3.1. Cinétique de dégradation.....	84
4.3.2. Méthodes analytiques.....	84
4.3.2.1. Dosage par HPLC de l'herbicide 2,4-DCP et l'insecticide thiaméthoxame.....	84
4.3.2.2. Détermination de la concentration en chlorure.....	85
5. Biodégradation de l'insecticide thiaméthoxame par <i>Labrys portucalensis</i> F11.....	86
5.1. Culture.....	86
5.2. Préparation de l'inoculum bactérien.....	86
5.3. Biodégradation de différentes concentrations de l'insecticide thiaméthoxame en tant que seule source de carbone.....	86
5.4. Biodégradation de différentes concentrations de l'insecticide thiaméthoxame en présence d'acétate de sodium.....	87
5.5. Biodégradation de l'insecticide thiaméthoxame en tant que seule source de carbone et d'azote.....	87
5.6. Biodégradation de l'insecticide thiaméthoxame en tant que seule source de carbone et du soufre.....	87
5.7. Cinétique de croissance et de dégradation.....	88
5.8. Spectrométrie de masse.....	88
5.9. Quantification du carbone et d'azote.....	89
5.10. Test de toxicité.....	89
5.10.1. Test de phytotoxicité.....	89
5.10.2. Inhibition de la bioluminescence de <i>Vibrio fischeri</i>	90
5.10.3. Test Toxi-Chromo.....	90

Résultats et Discussion

1. Caractérisation physico-chimique des échantillons d'eaux usées.....	92
2. Isolement et identification des actinobactéries.....	99
2.1. Isolement des actinobactéries.....	99
2.2. Identification morphologique, biochimique, physiologique et moléculaire des actinobactéries.....	101
2.2.1 Caractérisation morphologique des actinobactéries.....	101

2.2.1.1 Observation macroscopique et caractères cultureux.....	101
2.2.1.2 Observation microscopique.....	105
2.2.2. Caractérisation biochimique et physiologique des isolats.....	106
2.2.3. Identification moléculaire des actinobactéries.....	110
3. Biodégradation des pesticides par les isolats actinobactériens.....	117
3.1. Test de biodégradation des pesticides sur milieu solide.....	117
3.1.1. Biodégradation des fongicides.....	117
3.1.2. Biodégradation des Herbicides.....	119
3.1.3. Biodégradation des insecticides.....	120
3.2. Biodégradation des pesticides 2,4-DCP et thiaméthoxame en milieu liquide.....	122
3.2.1. Biodégradation du 2,4-DCP.....	122
3.2.2. Biodégradation du thiaméthoxame.....	128
4. Biodégradation du thiaméthoxame par <i>L. portucalensis</i> F11.....	143
4.1. Cinétique de biodégradation du thiaméthoxame par <i>L. portucalensis</i> F11.....	143
4.2. Cinétique de croissance de <i>L. portucalensis</i> F11 lors de la biodégradation du thiaméthoxame.....	146
4.3. Évaluation de l'activité de déchlorination.....	149
4.4. Évaluation du carbone organique totale et de l'azote totale.....	150
4.5. Identification des métabolites de biodégradation du thiaméthoxame par <i>L. portucalensis</i> F11.....	151
4.6. Évaluation de la toxicité du thiaméthoxame et de ces métabolites.....	157
Conclusion et perspective.....	163
Références bibliographique.....	166

Annexes

Valorisation des travaux de thèse

Résumé

Dans cette étude, une analyse physico-chimique a été menée afin d'évaluer la fonctionnalité et la qualité des eaux usées de la station d'épuration des eaux usées (STEP) d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane. Les résultats physico-chimiques ont révélé que les effluents d'eaux usées à la sortie des trois STEPs présentent une charge organique moins élevée qu'à l'entrée. À partir des échantillons d'eaux usées brutes, épurées et celles des bassins d'aération de ces STEPs, 15 souches d'actinobactéries ont été isolées et purifiées. Sur la base des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques, combinées à l'analyse phylogénétique du gène de l'ARNr 16S ; 13 isolats ont été affiliés au genre *Streptomyces* sp., un au genre *Actinomadura* sp. et un autre isolat à *Micrococcus* sp. Le criblage préliminaire de ces souches sur des milieux minimum gélosés additionnée séparément de 17 pesticides différents a permis de sélectionner 13 souches capables de dégrader 9 pesticides différents comme seule source de carbone. Le criblage secondaire sur milieu minimum liquide, nous a permis d'évaluer la cinétique de dégradation des pesticides 2,4-dichlorophénol (2,4-DCP) et thiaméthoxame par les souches d'actinobactéries sélectionnées. *Streptomyces* sp. ML et OV ont été considérés comme les souches les plus performantes pour la dégradation de ces deux pesticides. Dans ce travail nous avons également étudié la biodégradation de thiaméthoxame par la souche bactérienne *Labrys portucalensis* F11. Les résultats montrent que cette souche peut dégrader 41%, 35% et 100% du thiaméthoxame (10,84 mg/L) comme seule source de carbone-azote, de carbone-soufre et de carbone, respectivement après 30 jours d'incubation. L'alimentation périodique avec de l'acétate de sodium a entraîné une dégradation plus rapide du thiaméthoxame. La détection et l'identification des intermédiaires de biodégradation ont été réalisées par UPLC-QTOF/SM/SM et la structure chimique de 12 métabolites a été proposée. La dégradation du thiaméthoxame par la souche F11 se fait principalement par des réactions de déchloration, de réduction des nitrates et de clivage du cycle oxadiazine. L'impact du thiaméthoxame et de ses intermédiaires de dégradation sur la germination du *Lactuca sativa*, la bioluminescence de *Vibrio fischeri* ainsi que sur le test Toxi-Chromo ont montré que *L. portucalensis* F11 dégrade efficacement le thiaméthoxame en métabolites non toxique. Le présent travail démontre que les actinobactéries et *L. portucalensis* F11 peuvent être utilisés efficacement pour la détoxification de ce genre de sites contaminés par ces pesticides.

Mots clés : Actinobactéries, biodégradation, *Labrys portucalensis* F11, paramètres physico-chimiques, pesticides, station d'épuration des eaux usées.

Abstract

In this study, physico-chemical analysis was conducted to evaluate the functionality and quality of effluent from the wastewater treatment plant (WWTP) of Ibn Ziad, Oued El Athmania and Sidi Merouane. The physico-chemical results revealed that the effluents of wastewater at the outlet of the three WWTPs were loading with lower organic matter than the inlet. From the samples of raw, treated wastewater and from the aeration basins of these WWTPs, 15 strains of actinobacteria were isolated and purified. On the basis of morphological, physiological and biochemical characteristics, combined with phylogenetic analysis of the 16S RNAr gene; 13 isolates were affiliated to the genus *Streptomyces* sp., one to the genus *Actinomadura* sp. and another isolate to *Micrococcus* sp. Preliminary screening of these strains on minimum agar media separately supplemented with 17 different pesticides resulted in the selection of 13 strains capable of degrading 9 different pesticides as the sole carbon source. Secondary screening on minimum liquid medium allowed us to evaluate the degradation kinetics of the pesticides 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP) and thiamethoxam by the selected actinobacteria strains. *Streptomyces* sp. ML and OV were considered as the most efficient strains for the degradation of these two pesticides. In this work we also studied the biodegradation of thiamethoxam by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11. The results show that this strain can degrade 41%, 35% and 100% of thiamethoxam (10,84 mg/L) as sole source of carbon-nitrogen, carbon-sulfur and carbon, respectively after 30 days of incubation. Periodic feeding with sodium acetate resulted in faster degradation of thiamethoxam. Detection and identification of biodegradation intermediates were performed by UPLC-QTOF/MS/MS and the chemical structure of 12 metabolites was proposed. Degradation of thiamethoxam by strain F11 is achieved mainly by dechlorination reactions, nitrate reduction and oxadiazine ring cleavage. The impact of thiamethoxam and its degradation intermediates on the germination of *Lactuca sativa*, the bioluminescence of *Vibrio fischeri* as well as on the Toxi-Chromo assay showed that *L. portucalensis* F11 efficiently degrades thiamethoxam to non-toxic metabolites. The present work demonstrates that actinobacteria and *L. portucalensis* F11 can be used effectively for the detoxification of such sites contaminated by these pesticides.

Keywords: Actinobacteria, biodegradation, *Labrys portucalensis* F11, physico-chemical parameters, pesticides, wastewater treatment plant.

ملخص

في هذه الدراسة، تم إجراء تحليل فيزيائي-كيميائي لتقييم وظيفة و جودة مياه الصرف الصحي لمحطة معالجة مياه الصرف الصحي لابن زياد، وادي العثمانية وسيدي مروان. أظهرت النتائج الفيزيائية والكيميائية أن المياه القذرة عند مخرج محطات معالجة مياه الصرف الصحي الثلاثة تحتوي على حمولة عضوية أقل منه في المدخل. من عينات مياه الصرف الصحي الخام، المعالجة، و من أحواض التهوية لمحطات معالجة مياه الصرف الصحي، تم عزل و تنقية 15 سلالة من الأكتينوبكتيريا. استنادًا إلى الخصائص المورفولوجية والفسولوجية والكيميائية الحيوية، جنبًا إلى جنب مع التحليل الوراثي لجين الحمض النووي الريبي 16S؛ وجدنا أن 13 عزلة تنتمي إلى جنس *ستربتومييسيس*، واحدة إلى جنس *أكتينومادورا* و أخرى إلى *ميكروككيس*. أدى الفرز الأولي لهذه السلالات على أوساط صلبة مكملة بشكل منفصل بـ 17 مبيدًا مختلفًا إلى اختيار 13 سلالة قادرة على تحليل 9 مبيدات مختلفة كمصدر وحيد للكربون. مكننا الفحص الثانوي في وسط سائل من تقييم حركية التحلل لمبيدات 2،4-ديكلوروفينول (2،4-دي سي بي) و الثياميثوكسام بواسطة سلالات الأكتينوبكتيريا المختارة. *ستربتومييسيس* ML و OV يعتبران أكثر السلالات كفاءة في تحليل هذين المبيدات. في هذا العمل، درسنا أيضًا التحلل البيولوجي للثياميثوكسام بواسطة السلالة البكتيرية *Labrys portucalensis* F11. أظهرت النتائج أن هذه السلالة يمكن أن تحلل بنسبة 41%، 35% و 100% من ثياميثوكسام (10,84 ملغ / لتر) كمصدر وحيد للنيتروجين-كربون، للكربون-كبريت وللكربون، على التوالي بعد الحضانة لمدة 30 يومًا. أدت التغذية الدورية بأسيتات الصوديوم إلى تحلل أسرع للثياميثوكسام. تم إجراء الكشف عن وسائط التحلل البيولوجي وتحديدًا بواسطة UPLC-QTOF / SM / SM و تم اقتراح التركيب الكيميائي لـ 12 مستقلب. يحدث تحلل الثياميثوكسام بواسطة سلالة F11 بشكل رئيسي من خلال تفاعلات إزالة الكلور ، تقليل النترات و انقسام حلقة أوكساديازين. تأثير الثياميثوكسام و وسائط التحلل في إنبات *Lactuca sativa*، على الاضاءة البيولوجية لـ *Vibrio fischeri* وكذلك اختبار Toxi-Chromo أظهروا أن *L. portucalensis* F11 تحلل الثياميثوكسام بشكل فعال إلى مستقلبات غير سامة. يوضح هذا العمل أن سلالات الأكتينوبكتيريا و *L. portucalensis* يمكن استخدامها بشكل فعال لإزالة السموم من هذه المواقع الملوثة بهذه المبيدات.

الكلمات المفتاحية: الأكتينوبكتيريا، التحلل البيولوجي، *Labrys portucalensis* F11، المعايير الفيزيائية والكيميائية، المبيدات، محطة معالجة مياه الصرف الصحي.

2,4-DCP :	2,4-Dichlorophénol
2,4-D :	2,4-Dichlorophénoxyacétique acide
[C] :	Concentration
BA :	Bassin d'Aération
BLAST:	Basic Search Tool Alignment
DBO5 :	Demande Biochimique en Oxygène
DCO :	Demande Chimique en Oxygène
DDT	Dichloro-Diphényle-Trichloro-éthane
DO :	Densité Optique
DSMZ :	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
EqH :	Équivalent habitant
EUB :	Eau Usée Brute
EUE :	Eau Usée Épurée
FAO :	Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture
GC%:	Pourcentage de la guanine et la cytosine.
HCH:	Héxachlorocyclohexane
ISP :	Milieu International <i>Streptomyces</i> Project
J :	Jour
m/z :	Masse/charge
MEGA 11:	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
MES :	Matière en Suspension
MM :	Milieu Minimum
p/v :	Poids par volume
PCR:	Polymerase Chain Reaction
rpm :	Rotation par minute
SM :	Spectrométrie de Masse
STEP :	Station d'épuration des eaux usées
TAE :	Tris-Acétate-EDTA
TMX :	Thiaméthoxame

Figure 1 : Représentation schématique des processus de coagulation-floculation (Teh et al., 2016).....	8
Figure 2 : Exemples typiques de systèmes de croissance suspendus et attachés (Sehar et Naz, 2016).....	9
Figure 3 : Schéma d'un système typique à boues activées (Xu, 2014).....	10
Figure 4 : Comportement des pesticides dans l'environnement naturel (Rajmohan et al., 2020).....	30
Figure 5 : Occurrence des pesticides dans les eaux de surface de 2012 à 2019 dans le monde (de Souza et al., 2020).....	36
Figure 6 : Étapes de la dégradation des résidus de pesticides en composés inorganiques plus simples.....	39
Figure 7 : Morphologie commune des actinobactéries sur gélose, montrant le mycélium de substrat et le mycélium aérien avec des chaînes de spores (Prescott et al., 2003).....	54
Figure 8 : Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries montrant la sporulation et la maturation des spores (Law et al., 2019).....	55
Figure 9 : La fragmentation du mycélium de substrat des <i>Nocardiaasteroides</i> (Atlas, 1997).....	56
Figure 10 : Clichés de microscopie électronique illustrant la production de spores uniques et de spores en chaînes courtes. (A) <i>Micromonospora</i> sp. SF2259T. (B) <i>Thermobifida alba</i> JCM 3077T. (C) <i>Saccharomonospora viridis</i> IFO 12207T. (D) <i>Thermoactinomyces daqus</i> H-18. (E) <i>Microbispora rosea</i> JCM 3006T. (F) <i>Nocardia brevicatena</i> A444. (G) <i>Catellatospora</i> sp. MB-VE 1321 (Atlas, 1997).....	57
Figure 11 : Clichés de microscopie électronique illustrant la production de spores dans une longue chaîne. (A) Chaînes de spores rectiflexibles de <i>Streptomyces actuosus</i> U 227. (B) Chaînes de spores bouclées de <i>Streptomyces vinaceus</i> . (C) Chaînes de spores spira de <i>Streptomyces</i> sp. SF 2587. (D) Chaînes de spores verticillati de <i>Streptomyces verticillus</i> AT 291 (Atlas, 1997).....	58
Figure 12 : Arbre phylogénétique basé sur 97 séquences génomiques de l'embranchement des actinobactéries (Barka et al., 2016).....	63

Figure 13 : Représentation schématique des étapes de traitement des eaux usées dans les trois STEPs étudiées.....	71
Figure 14 : Représentation générale des étapes d'isolement et d'identification des actinobactéries.....	81
Figure 15: Structures chimiques des substances actives des pesticides utilisés dans l'étude.....	Annexes
Figure 16 : Courbe d'étalonnage des pesticides 2,4-DCP et de thiaméthoxame (Tiam et Actara 25 WG).....	Annexes
Figure 17 : Représentation schématique de la sélection primaire et secondaire des actinobactéries dégradant les pesticides. A : Dégradation du 2,4-DCP ou thiaméthoxame (TMX) comme unique source de carbone. B : Dégradation du 2,4-DCP ou thiaméthoxame en présence du co-substrat.....	85
Figure 18: Schéma représentative du teste d'inhibition de la bioluminescence de la bactérie <i>Vibrio fischeri</i> par le thiméthoxame ou son produit de dégradation finale.....	Annexes
Figure 19: Procédure du Toxi-Chromo test. (a) : la préparation des microplaques, (b) : Préparation et ajout de bactéries, (c) : Ajout du chromogène et développement de la couleur.....	Annexes
Figure 20 : Représentation schématique des expériences de dégradation de l'insecticide thiaméthoxame (TMX) par la souche <i>L. portucalensis</i> F11. A : Comme unique source de carbone. B : Avec alimentation périodique en acétate de sodium. C: Comme unique source de carbone et d'azote, D: Comme unique source de carbone et de soufre.....	91
Figure 21 : Aspect macroscopique de quelques actinobactéries cultivé sur milieu ISP2.....	100
Figure 22: Observation microscopique de quelques isolats d'actinobactéries après coloration de Gram, grandissement $\times 100$	106
Figure 23 : Activités enzymatiques (a : amylase, b : catalase, c : cellulase, d : caséinase, e : tyrosinase, f : lécithinase, g : estérase, h : pectinase et i : gélatinase).....	109
Figure 24: Amplification du gène ARNr 16S des isolats d'actinobactéries.....	110
Figure 25: Arbre phylogénétique selon la méthode des distances (Neighbor-Joining) basé sur les séquences du gène de l'ARNr 16S, montrant les voisins les plus proches des souches isolées. Des souches de type <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> ont servi d'outgroup. Les valeurs Bootstrap de 1000 sont indiquées aux points de branchement. Les numéros	

d'accession à la GenBank sont indiqués entre parenthèses. La barre représente 0,02 substitutions par site.....	112
Figure 26: Nombre des actinobactéries capable de dégrader différentes concentrations des fongicides testés.....	118
Figure 27: Photographies représentant la croissance des isolats d'actinobactéries sur le milieu minimum additionné des différents fongicides.....	118
Figure 28: Nombre des actinobactéries capable de dégrader différentes concentrations des herbicides testés.....	119
Figure 29: Photographies représentant la croissance des isolats d'actinobactéries sur le milieu minimum additionné du 2,4-DCP.....	119
Figure 30 : Nombre des actinobactéries capable de dégrader différentes concentrations des insecticides testés.....	121
Figure 31: Photographies représentant la croissance des isolats d'actinobactéries sur le milieu minimum additionné des différents insecticides.....	121
Figure 32 : Biodégradation du 50 mg/L de l'herbicide 2,4-DCP pendant 30 jours d'incubation par les 4 souches d'actinobactéries (a) : comme unique source de carbone, (b) : en présence de glucose, (c) : en présence d'acétate de sodium.....	123
Figure 33: Taux de biodégradation du 50 mg/L du 2,4-DCP après 30 jours d'incubation par les 4 souches d'actinobactéries (a) : comme unique source de carbone, (b) : en présence de glucose, (c) : en présence d'acétate de sodium.....	124
Figure 34 : Pourcentage de libération du chlorure par les actinobactéries actives lors de la biodégradation du 2,4-DCP.....	124
Figure 35: Croissance cellulaire des 4 souches d'actinobactéries dans le MM1 pendant 30 jours (Contrôle biotique) (a) : MM1 sans aucune source de carbone, (b) : MM1 additionné du glucose (10 mM), (c) : MM1 additionné d'acétate de sodium (5,9 mM).....	126
Figure 36: Croissance des 4 souches d'actinobactéries dans le milieu MM1 pendant 30 jours d'incubation. (a) : MM1 contenant du 2,4-DCP (50 mg/L) comme seule source de carbone,	

(b): MM1 contenant 50 mg/L du 2,4-DCP et 10 mM du glucose, **(c):** MM1 contenant 50 mg/L du 2,4-DCP et 5,9 mM d'acétate de sodium.....127

Figure 37: Biodégradation du 35 mg/L de l'insecticide thiaméthoxame par les 5 souches d'actinobactéries **(a)** : comme unique source de carbone (30 jours d'incubation), **(b)** : en présence de glucose (18 jours d'incubation), **(c)** : en présence d'acétate de sodium (18 jours d'incubation).....129

Figure 38: Croissance cellulaire des 5 souches d'actinobactéries dans le milieu MM1. **(a)** : MM1 contenant 35 mg/L du thiaméthoxame comme seule source de carbone (30 jours d'incubation), **(b):** MM1 contenant 35 mg/L du thiaméthoxame et 10 mM du glucose (18 jours d'incubation), **(c):** MM1 contenant 35 mg/L du thiaméthoxame et 5,9 mM d'acétate de sodium(18 jours d'incubation).....130

Figure 39: Croissance des 5 souches d'actinobactéries dans le milieu MM1 (Contrôle biotique). **(a)** : MM1 sans aucune source de carbone, **(b):** MM1 additionné du glucose (10 mM), **(c)** : MM1 additionné d'acétate de sodium (5,9 mM).....130

Figure 40 : Biodégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11 à la concentration de 10,84 mg/L pendant 30 jours d'incubation, en tant que : (♦) seule source de carbone et d'azote ; (■) seule source de carbone et de soufre ; (▲) seule source de carbone ; et (×) avec alimentation périodique en acétate de sodium (5,9 mM).....143

Figure 41 : Biodégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11 aux concentrations : 37,34 mg/L (♦), 68,64 mg L (■) et 128,72 mg/L (▲) pendant 30 jours d'incubation. **(a)** comme seule source de carbone et **(b)** avec une alimentation périodique en acétate de sodium (5,9 mM).....144

Figure 42 : Photographie de la souche *L. portucalensis* F11 cultivé sur le milieu gélose nutritive.....145

Figure 43: Croissance de *L. portucalensis* F11 pendant 30 jours d'incubation dans les milieux minimums supplémentés avec 10,84 mg/L du thiaméthoxame comme : seule source de carbone et d'azote (♦), seule source de carbone et de soufre (■), seule source de carbone (▲) et en présence d'acétate (×).....147

Figure 44 : Effet des concentrations initiales du thiaméthoxame: 37,34 mg/L (♦), 68,64 mg/L (■) et 128,72 mg/L (▲) sur la croissance de *L. portucalensis* F11 dans le milieu MM2

pendant 30 jours d'incubation. **(a)** comme seule source de carbone et **(b)** avec une alimentation périodique en acétate de sodium.....147

Figure 45: Croissance de *L. portucalensis* F11 pendant 30 jours d'incubation en MM2 sans aucune source de carbone (\blacktriangle), MM2 supplémenté avec l'acétate de sodium comme seule source de carbone (\times), MM3 (\blacklozenge) sans aucune source de carbone et d'azote, et MM4 (\blacksquare) sans aucune source de carbone et de soufre (Contrôles biotiques).....148

Figure 46: Pourcentage de la libération du chlorure à la fin des expériences de dégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11 à différentes concentrations initiales : (i) : 10,84 mg/L, (ii) : 37,4 mg/L, (iii) : 67,64 mg/L et (iiii) : 128,76 mg/L. **(a)** : comme seule source de carbone et **(b)** : avec l'acétate de sodium.....149

Figure 47: Réduction du COT et du AT pendant la dégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11. **(a)** comme seule source de carbone et **(b)** avec alimentation périodique en acétate de sodium.....150

Figure 48: L'air des pics de la formation des intermédiaires TMX-1 à TMX-12 pendant la biodégradation du thiaméthoxame comme seule source de carbone par *L. portucalensis* F11 en fonction du temps.....154

Figure 49 : Voie de biodégradation proposée pour le thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11.....156

Tableau 1 : Classification des pesticides selon l'organisme nuisible ciblé (Yusoff et al., 2016).....	17
Tableau 2 : Structure chimique des pesticides (Raffa et Chiampo, 2021).....	23
Tableau 3 : Exemple d'enzymes bactériens pertinents dans la biodégradation des pesticides (Ortiz-Hernández et al., 2013).....	40
Tableau 4 : Réactions chimiques impliquées dans la biodégradation des pesticides (Hugo et al., 2016).....	43
Tableau 5 : Microorganisme dégradant communément les pesticides (Huang et al., 2018).....	47
Tableau 6 : Quelques exemples d'études de cas.....	51
Tableau 7 : Caractéristiques générales des principaux genres d'actinobactéries dégradant les pesticides (Alvarez et al., 2017).....	67
Tableau 8 : Périodes de prélèvements des échantillons d'eaux usées au niveau des trois STEPs.....	72
Tableau 9 : Méthodes d'analyse des différents paramètres physico-chimiques au niveau de chaque STEP.....	74
Tableau 10 : Pesticides étudiés et leurs caractéristiques.....	82
Tableau 11 : Caractérisation physico-chimique des échantillons collectés à la STEP d'Ibn Ziad.....	92
Tableau 12 : Caractérisation physico-chimique des échantillons collectés à la STEP de Oued El Athmania et de Sidi Merouane.....	92
Tableau 13 : Coefficient de biodégradabilité DCO/DBO5 des EUB et EUE des STEPs d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane.....	93
Tableau 14 : Nombre d'actinobactéries isolés à partir des échantillons d'eaux usées brutes (EUB), épurées (EUE) et du bassin d'aération (BA) des trois STEPs étudiées.....	100
Tableau 15 : Caractères cultureux des isolats d'actinobactéries provenant des trois STEPs sur différent milieux ISP.....	102
Tableau 16 : Caractéristiques physiologiques et biochimiques des d'actinobactéries isolées de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane.....	107

Tableau 17: Identification moléculaire des souches d'actinobactéries isolées des STEPs...111	111
Tableau 18 : Résultats de test de biodégradation des pesticides à différentes concentrations [C] (mg/L) par les souches d'actinobactéries isolées des trois STEPs.....Annexes	Annexes
Tableau 19 : Constante de vitesse (k) et temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de la dégradation de 50 mg/L du 2,4-DCP comme seule source de carbone.....124	124
Tableau 20: Constante de vitesse (k) et temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de la dégradation de 50 mg/L du 2,4-DCP en présence de co-substrat.....125	125
Tableau 21: Taux de croissance des 4 souches d'actinobactéries pendant la dégradation du 50 mg/L de l'herbicide 2,4-DCP.....128	128
Tableau 22 : Paramètres cinétiques de la biodégradation du thiaméthoxame à la concentration 10,84 mg/L par <i>L. portucalensis</i> F11.....145	145
Tableau 23 : Paramètres cinétiques de biodégradation du thiaméthoxame par <i>L. portucalensis</i> F11 aux concentrations 37,34 ; 68,64 et 128,7 mg/L.....145	145
Tableau 24 : Taux de croissance de <i>L. portucalensis</i> F11 dans les milieux MM contenant le thiaméthoxame à la concentration de 10,84 mg/L.....148	148
Tableau 25 : Taux de croissance de <i>L. portucalensis</i> F11 en présence de la concentration 37,34 ; 68,64 et 128,73 mg/L du thiaméthoxame.....148	148
Tableau 26 : Taux de croissance de <i>L. portucalensis</i> F11 dans le milieu MM2 additionné de l'acétate de sodium comme seule source de carbone.....149	149
Tableau 27 : Produits de biodégradation du thiaméthoxame par <i>L. portucalensis</i> F11 détectés par UPLC-QTOF/SM/SM.....153	153

INTRODUCTION

En raison des activités humaines, un grand nombre de substances chimiques considérées comme xénobiotiques sont rejetées dans l'environnement. Dans le monde entier une quantité d'environ un demi-milliard de kilogrammes de composés toxiques sont rejetés dans les différents segments de la nature (air, sol et eau). Parmi ces composés figurent les pesticides, qui sont définis comme une substance ou un mélange de substances utilisées pour lutter contre les parasites (**Rodríguez *et al.*, 2020**). Selon des études récentes, environ 30 % des produits agricoles sont perdus à cause des parasites (**Meleiro Porto *et al.*, 2011**). Par conséquent, l'utilisation de pesticides est devenue indispensable en agriculture afin de minimiser les infestations par les ravageurs, protéger les cultures, maximiser les rendements et maintenir la qualité adéquate des produits agricoles (**Ortiz-Hernández *et al.*, 2013; Verma *et al.*, 2014**). En outre, ces molécules chimiques, sont utilisés dans l'hygiène humaine et animale (**Baémaga *et al.*, 2015**). Il est certain que les pesticides ont amélioré la longévité et la qualité de vie mais leur application extensive a également entraîné des effets néfastes sur la santé humaine, sur l'environnement et même sur l'efficacité des produits alimentaires eux-mêmes (**Polti *et al.*, 2014**). Les rapports des Nations Unies ont estimé que seulement 1% des pesticides appliqués en agriculture atteignent les organismes cibles. Cette situation engendre la contamination des sols, des sédiments, des légumes et des eaux souterraines et de surface (**Rodríguez *et al.*, 2020**).

La contamination de l'écosystème aquatique est due aux rejets de pesticides des usines de fabrication, du ruissellement agricole, du lessivage et des déversements accidentels (**Yin *et al.*, 2013**). La majorité des contaminants sont acheminés vers les stations d'épuration des eaux usées (**Olabode *et al.*, 2020**) et les pesticides sont les contaminants les plus répandus dans les STEPs. Cependant, le comportement et les effets écotoxicologiques de nombreux pesticides dans les STEPS n'ont pas encore été correctement clarifiés (**Köck-Schulmeyer *et al.*, 2013**). Les résidus de pesticides dans l'environnement, en particulier dans les stations d'épuration des eaux usées; suscitent de vives inquiétudes. À cet effet, des efforts remarquables sont déployés afin de mettre en œuvre de nouvelles technologies de réduction ou d'élimination de ces dangereux contaminants des effluents d'eaux usées (**Jiang et Li, 2018**). Une variété de méthodes physiques et chimiques tel que l'adsorption, la coagulation, la précipitation, la filtration et l'oxydation chimique sont utilisées pour l'assainissement des effluents d'eaux usées (**Mishra *et al.*, 2021**). Bien qu'elles puissent être très efficaces pour réduire une large gamme de contaminants, elles présentent en même temps plusieurs inconvénients. Ces

méthodes peuvent générer des sous-produits toxiques qui sont parfois plus dangereux que le composé parent, sont onéreuses et complexes (**Karigar et Rao, 2011**).

Les déficiences associées aux méthodes physico-chimiques, ont concentré les efforts sur l'employabilité de divers organismes pour l'élimination des polluants (**Mishra et al., 2021**). Ce sont les processus de traitement biologique connu sous le nom de bioremédiation, qui actuellement sont considérée comme une alternative moins invasive, efficace, moins coûteuse, peu dangereuse, polyvalente, respectueuse de l'environnement pouvant donner des produits finis stables et non toxiques (**Meerbergen et al., 2018**).

Dans ce contexte, la biodégradation, en particulier la dégradation microbienne, a reçu une attention considérable. Les microorganismes présentent plusieurs particularités singulières et très avantageuses, à cause de leurs reproductions rapides, du type métabolique diversifié, de la variabilité génétique et de la forte adaptabilité environnementale. La bioremédiation microbienne des pesticides a une histoire de plusieurs décennies, qui a commencé par la remédiation de la dieldrine. Il existe divers microorganismes utilisés pour la dégradation des pesticides, notamment les bactéries, les algues, les champignons et les actinobactéries (**An et al., 2020**). À ce jour, de nombreux rapports ont décrit la biodégradation de pesticides par diverses bactéries, mais il existe peu de recherches décrivant la biodégradation des pesticides par les actinobactéries malgré leurs caractéristiques environnementales et biotechnologiques très intéressantes (**Briceño et al., 2012**).

Les actinobactéries présentent une distribution cosmopolite puisque leurs membres sont largement répartis dans les écosystèmes aquatiques et terrestres (**Alvarez et al., 2017**). Ce sont des bactéries Gram-positives, historiquement connues pour leur forte teneur en guanine et cytosine (55-75 % mol%); cependant, on connaît de nouvelles espèces aquatiques, qui ne répondent pas à cette règle (**Medjmadj et al., 2020**). Ce groupe est très hétérogène, puisqu'il comprend une large gamme de bactéries qui sont chimiquement, morphologiquement, physiologiquement et métaboliquement très différents (**Polti et al., 2014**). Ces microorganismes ont été reconnus comme ayant un grand potentiel pour la biodégradation de certains composés organiques, tels que les pesticides.

Dans la présente étude, les paramètres physico-chimiques des eaux usées brutes, épurées et des bassins d'aération de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane situées dans l'Est-Nord de l'Algérie, ont été déterminés. Ces stations très polluées, reçoivent des eaux usées domestiques, agricoles et industrielles très diverses. Il est question aussi dans

les principaux objectifs de cette étude, d'évaluer la biodiversité des actinobactéries de ces stations et de tester la capacité des isolats actinobactériens à dégrader des pesticides parmi les plus utilisés en Algérie. L'intérêt d'étudier la cinétique de dégradation de certains pesticides par les isolats les plus performants fait aussi partie de nos objectifs.

En outre et pour ne pas cerner notre travail uniquement sur les actinobactéries nous nous sommes assigné d'explorer les aptitudes de dégradation des pesticides par d'autres bactéries. Dans cette optique, la bactérie *Labrys portucalensis* F11, isolée précédemment à partir des échantillons de sédiments d'une retenue hydrique, contaminé par des effluents industriels au Nord du Portugal (**Carvalho et al., 2005**) a été sélectionné pour l'étude de la dégradation de l'insecticide thiaméthoxame. Le choix de cette bactérie est non arbitraire. Il repose sur les caractéristiques de dégradation impressionnantes de plusieurs xénobiotiques comme les composés pharmaceutiques et aromatiques divers (**Carvalho et al., 2008 ; Moreira et al., 2012 ; Amorim et al., 2014 ; Moreira et al., 2014 ; Carvalho et al., 2016 ; Moreira et al., 2018 ; Bessa et al., 2019**). Les composés intermédiaires formés au cours du processus de biotransformation doivent être analysé, afin de proposer une voie de biodégradation de ce pesticide. Le potentiel de toxicité des produits de biotransformation et leurs tests biologiques doivent également être évalués.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Types d'eaux usées

La pollution de l'eau est devenue une préoccupation majeure et une priorité pour la société et les pouvoirs publics. La pollution de l'eau se produit lorsqu'une ou plusieurs substances qui vont modifier l'eau de façon négative sont déversées dans celle-ci. Ces substances peuvent causer des problèmes pour les personnes, les animaux ainsi que pour l'environnement. En effet, les eaux usées, également appelées effluents, sont des eaux qui subissent une altération suite aux activités humaines, industrielles et agricoles. Cette altération entraîne une modification des propriétés physico-chimiques et biologiques de l'eau (**Rathoure et Dhatwalia, 2016**). Il existe quatre types d'eaux usées, ou eaux d'égout :

1.1. Les eaux usées domestiques

Ce sont les eaux usées des maisons. On distingue les eaux ménagères qui proviennent des cuisines et des salles de bains. Elles contiennent généralement des substances alimentaires, des produits d'hygiène corporelle, des détergents et des pesticides à usage ménagé. Il existe aussi dans cette catégorie, les eaux de vannes provenant des rejets sanitaires. Ils sont susceptibles de contenir des germes pathogènes et plusieurs autres produits toxiques comme les médicaments (**Elskens, 2010**). Les eaux usées domestiques sont principalement composées de 99,9% d'eau et 0,1 % de solides organiques et inorganiques en suspension et dissous (**Puyol et al., 2017**).

1.2. Les eaux usées pluviales

Les eaux usées pluviales, ou eaux d'orage, sont les eaux de ruissellement provenant des précipitations qui sont collectées dans un système de tuyaux ou de canaux ouverts. Les eaux usées pluviales transportent des matières organiques, des solides en suspension et dissous, et d'autres substances ramassées lors de leur déplacement (**Sperling, 2007**).

1.3. Les eaux usées industrielles

Les eaux usées industrielles/commerciales sont des eaux usées provenant d'activités manufacturières et commerciales telles que l'imprimerie, la transformation et la production de produits alimentaires et pharmaceutiques. Ces eaux contiennent généralement des composés chimiques spécifiques, en fonction de la nature du processus industriel (**Sun et al., 2016**).

1.4. Les eaux usées agricoles

Les eaux usées agricoles générées par diverses activités agricoles, notamment les opérations d'alimentation des animaux et la transformation des produits agricoles. Les exemples d'eaux usées agricoles comprennent, sans s'y limiter, le fumier, les eaux de lavage des centres de traite, les eaux de ruissellement des basses-cours et des parcs d'engraissement, les eaux usées des abattoirs et les eaux de ruissellement associées au compostage. En outre, les eaux de ruissellement des terres cultivées peuvent contribuer à l'apport de sédiments, d'engrais et de pesticides dans les eaux de surface (**Samer, 2015**).

2. Paramètres clés pour l'évaluation de la qualité de l'eau

Il a été constaté que plusieurs éléments essentiels influencent l'efficacité de la technologie de traitement des eaux usées et la qualité de l'eau rejetée. La Demande Biochimique en Oxygène (DBO), l'oxygène dissous, les Matières en Suspension (MES) et les microbes en font partie (**Wijaya et Soedjono, 2018**).

La DBO est l'un des indicateurs les plus importants pour l'analyse de la qualité de l'eau traitée en fonction des matières organiques putrescibles présentes dans les eaux usées. Plus il y a d'impuretés organiques, plus la DBO est élevée, ce qui correspond à la quantité d'oxygène nécessaire par le consortium microbien pour décomposer les contaminants organiques dans les eaux usées. La valeur de la DBO en combinaison avec la Demande Chimique en Oxygène (DCO) et le Carbone Organique Total (COT) est largement considérée comme une indication de la contamination des échantillons d'eau par la mesure de la matière organique des eaux usées. Les effluents industriels peuvent avoir des niveaux de DBO plusieurs fois supérieurs à ceux des eaux usées domestiques (**Choi et al., 2017**).

L'oxygène dissous dans l'eau, est également un paramètre important de la qualité de l'eau pour les eaux de surface. Plus la concentration d'oxygène non dissous est élevée, meilleure est la qualité de l'eau. La biodégradation des contaminants organiques commence lorsque les flux de déchets rejoignent les masses d'eau. Les micro-organismes ont besoin d'oxygène pour leur respiration, leur activité métabolique et leur croissance. La quantité d'oxygène libre dans l'eau est considérablement réduite en raison de cette situation. Lorsque la teneur en oxygène de l'eau devient trop faible pour qu'ils puissent respirer, les organismes aquatiques tels que le brochet, l'achigan, les larves de phryganes et la truite périssent. En effet, si la concentration d'oxygène dans une masse d'eau tombe à zéro, celle-ci devient septique. Ainsi, en absence d'oxygène, la biodégradation des contaminants organiques produit des gaz indésirables

généralement associés à des conditions putrides. En raison de la présence d'un plus grand nombre de composés organiques dans les eaux usées domestiques, la concentration d'oxygène diminue et la DBO augmente (**Bo et Zhang, 2018**).

Un autre facteur essentiel de la détermination et de la surveillance de la qualité de l'eau est les MES. Par rapport aux effluents domestiques, il est largement reconnu que les eaux usées industrielles et agricoles contiennent des niveaux plus élevés de particules en suspension. L'efficacité de la procédure de traitement est déterminée par le succès avec lequel un système de traitement élimine la DBO et les MES (**Henze *et al.*, 2008**).

En outre, chaque gallon d'eaux usées contient des millions de germes. L'indication la plus courante du niveau de pollution est la bactérie coliforme fécale. Un niveau élevé de coliformes indique généralement que les eaux usées ont été contaminées récemment. Bien que les coliformes ne soient pas une cause de maladie, leur présence indique la présence d'autres organismes pathogènes fécaux tels que des bactéries et des protozoaires. De plus, l'élimination de deux importants nutriments nécessaires des effluents d'eaux usées, l'azote et le phosphore, est devenue un problème croissant car ces composants favorisent l'eutrophisation des masses d'eau en favorisant l'établissement de proliférations d'algues (**Anukool et Shivani, 2011**).

3. Procédés d'élimination des micropolluants à partir des eaux usées

Plusieurs auteurs signalent la présence de micropolluants dans différentes masses d'eaux telles que les influents et les effluents des stations d'épuration des eaux usées (**Grandclément *et al.*, 2017**). Les deux principaux polluants chimiques présents dans les eaux usées sont l'azote et le phosphore. Bien qu'il existe d'autres polluants chimiques, tels que les métaux lourds, les détergents et les pesticides, l'azote et le phosphore restent les nutriments limitant les plus fréquents dans l'eutrophisation. À ce jour, plusieurs stratégies ont été développées pour minimiser les rejets d'eaux usées et atténuer les dangers de ces polluants (**Rajasulochana et Preethy, 2016**).

Selon la nature du processus, le traitement des eaux usées peuvent être divisées en trois catégories : physique, chimique et biologique ; afin d'améliorer la qualité de l'eau pour que les humains et les animaux puissent la consommer et l'utiliser à d'autres fins (**Lee *et al.*, 2016**). Les caractéristiques uniques de chaque méthode de traitement peuvent être avantageuses sous un aspect mais restrictives sous un autre. Les méthodes de traitement qui présentent des coûts d'installation et de fonctionnement élevés, des temps de traitement longs, un rendement limité et des résidus nocifs après traitement sont souvent moins adaptées à l'utilisation (**Wong *et al.*,**

2019). Par conséquent, il est crucial de trouver un système de traitement alternatif qui puisse dégrader ou éliminer complètement les polluants.

3.1. Les procédés physiques

3.1.1. L'adsorption

L'adsorption est un processus de transfert de masse dans lequel un soluté ou une espèce amovible est transféré d'une phase liquide à la surface d'une phase solide (Manchisi *et al.*, 2020). Les espèces adsorbées sont attachées à la surface solide par des interactions physico-chimiques. Le matériau adsorbant le plus efficace pour éliminer plusieurs types de contaminants des eaux usées est le charbon actif (Azam *et al.*, 2020). En raison de sa nature poreuse et de son énorme surface, le charbon actif est un matériau non toxique, peu coûteux et très efficace (Kamaraj *et al.*, 2020). Dans la recherche d'adsorbants pratiques et rentables, les bio-adsorbants ont fait preuve d'une grande compétence dans l'élimination des déchets. Ils présentent toutefois certains inconvénients, comme l'augmentation de la COT, de la DBO et de la DCO dans les eaux usées (Chatterjee *et al.*, 2020). Les particules nanoporeuses, en particulier l'oxyde de titane (TiO₂), l'oxyde de fer magnétique (Fe₃O₄), l'oxyde de zinc (ZnO) et leurs composites, ont suscité un grand intérêt en tant qu'adsorbants dans la décontamination des eaux usées en raison de leur énorme surface spécifique, de la diminution de la formation des floes et de l'abondance de sites actifs accessibles pour la liaison des espèces (Jaseela *et al.*, 2019).

3.1.2. Filtration sur membrane

En raison des contraintes réglementaires et de la nécessité de respecter des règles strictes en matière de qualité de l'eau, la technologie membranaire devient de plus en plus populaire dans le traitement des eaux usées. La microfiltration, l'ultrafiltration et la nano-filtration sont les technologies membranaires couramment utilisées pour le traitement de l'eau. Les membranes peuvent éliminer les particules colloïdales et les macromolécules en fonction de la taille des pores. Cette technologie est de plus en plus utilisée pour éliminer les débris organiques et les germes des eaux usées (Almandoz *et al.*, 2015).

3.1.3. Coagulation-floculation et sédimentation

Les particules colloïdales produites dans les eaux usées sont chargées négativement, ce qui les rend stables et résistantes à l'agrégation. Des coagulants avec des ions chargés positivement sont ajoutés à une cuve de réacteur contenant des eaux usées afin de déstabiliser

les particules colloïdales pour former des flocs et faciliter le processus de sédimentation (**Figure 1**). Des produits chimiques tels que le chlorure ferrique (FeCl_3), le sulfate ferrique ($\text{Fe}_2\text{SO}_4)_3$, le sulfate d'aluminium ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) et le chlorure de poly-aluminium (AlCl_3) ont été utilisés comme coagulants pour le traitement des eaux usées (**de Sena et al., 2008**).

La coagulation/floculation peut éliminer une variété de contaminants des eaux usées qui seraient autrement difficiles à éliminer sans l'utilisation de ces produits chimiques. Néanmoins, les coûts d'exploitation constituent un inconvénient majeur de cette stratégie. Dans certaines situations, des quantités importantes de coagulant et de floculant sont nécessaires pour atteindre le niveau de floculation requis (**Mittal, 2006**).

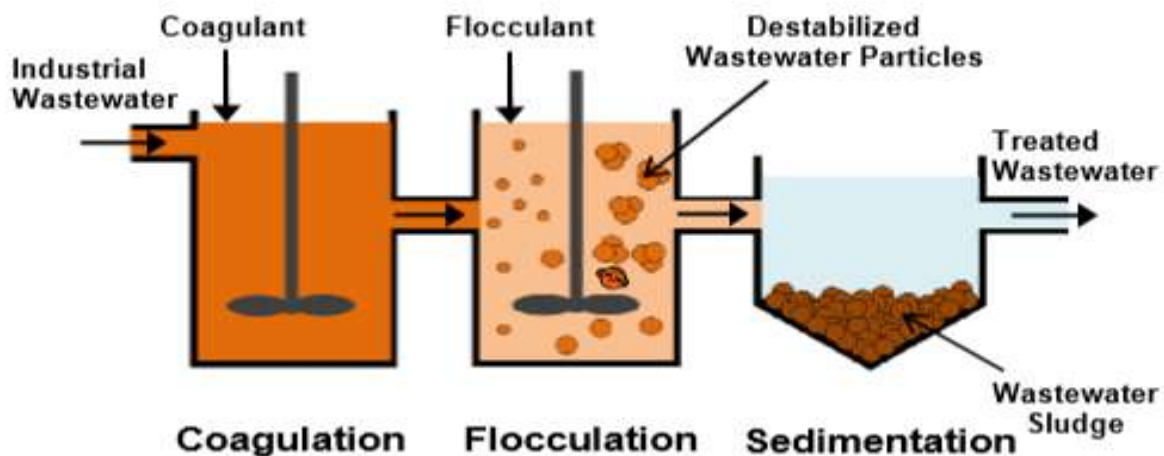


Figure 1 : Représentation schématique des processus de coagulation-floculation (**Teh et al., 2016**).

3.2. Les procédés chimiques

3.2.1. L'oxydation chimique

L'oxydation peut impliquer l'oxydation électrochimique, l'oxydation photo-électrochimique, l'oxydation de Fenton assistée par les ultraviolets et l'ozonation (**Shafiq et al., 2021**). Généralement, les catalyseurs et le pH jouent un rôle essentiel dans le processus d'oxydation (**Ahmad et al., 2015**).

- **L'ozonation**

L'ozone est impliqué dans plusieurs réactions chimiques avec des composés organiques et inorganiques, car c'est un agent oxydant puissant. Les radicaux hydroxyles sont créés à partir

de la décomposition de l'ozone. Dans l'ozonation, sous l'influence du pH, deux réactions sont envisagées :

- La réaction de la voie directe $\text{pH} < 4$: se produit entre les composés dissous dans l'eau et l'ozone moléculaire.
- La réaction de la voie indirecte $\text{pH} > 10$: se produit entre les radicaux hydroxyles produits par la dégradation de l'ozone et les composés dissous.

L'ozone peut être utilisé avec d'autres technologies comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les ultraviolets, les ultrasons et d'autres, pour augmenter l'efficacité de l'élimination de la matière organique (Sicardi, 2020).

3.3. Les procédés biologiques

L'élimination physique et chimique des contaminants est utilisée dans diverses techniques de traitement des eaux usées. En plus de présenter des inconvénients environnementaux et économiques, ces méthodes ont des degrés d'efficacité variables. Toutefois, les technologies de traitement biologique des eaux usées ont suscité beaucoup d'intérêt ces dernières années. Ils ont des coûts d'exploitation peu élevés, sont simples à manipuler et ont comparativement moins de conséquences négatives sur l'environnement. Les systèmes de traitement biologique des eaux usées peuvent être divisés en deux types principaux en fonction du mode de croissance ou de la structure de la biomasse microbienne: système de croissance dispersé et attaché (Figure 2) (Kanaujiya *et al.*, 2019).

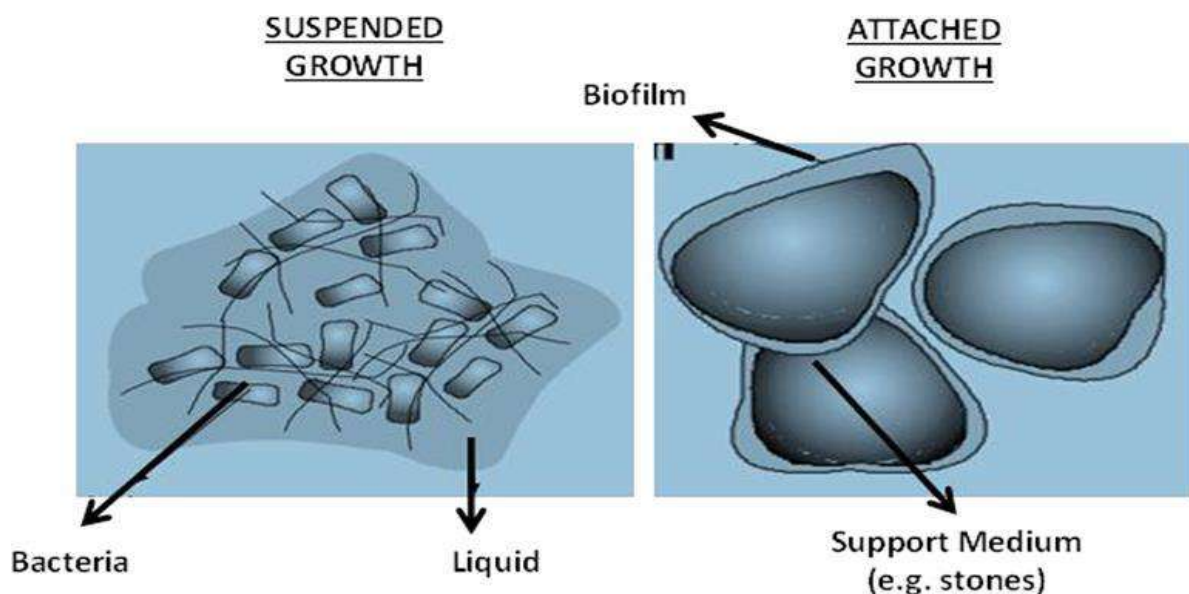


Figure 2 : Exemples typiques de systèmes de croissance suspendus et attachés (Sehar et Naz, 2016).

3.3.1. Système de croissance dispersée

Dans les systèmes de croissance dispersés, la biomasse se développe sous forme suspendue dans un milieu liquide sans aucune fixation à la surface. Les micro-organismes de la biomasse absorbent la matière organique et les nutriments à proximité, ce qui leur permet de se développer et de se reproduire pour former des micro-colonies. Ces micro-colonies se déposent sous forme de boues, qui sont ensuite soit éliminées ou traitées dans un processus de traitement des boues, soit réutilisées dans le processus en étant remises en suspension (Shuokr Qarani et Sazan, 2016).

- **Le procédé à boues activées**

Les stations d'épuration municipales utilisent fréquemment le traitement par boues activées. Il consiste à mélanger les eaux usées prétraitées avec des micro-organismes afin d'oxyder les matières carbonées et azotées. Dans un réacteur aéré, l'influent pollué provenant des eaux usées industrielles ou des eaux d'égout est mélangé à une culture bactérienne aérobie, puis la période de rétention dans le bassin d'aération est contrôlée pour s'assurer que l'effluent a été correctement traité avant de subir une séparation solide/liquide dans un clarificateur gravimétrique. Les boues activées collectées et décantées sont ensuite principalement recyclées dans le bassin d'aération afin de maintenir une concentration fixe de micro-organismes dépolluants (Figure 3) (Eckenfelder et Cleary, 2014).

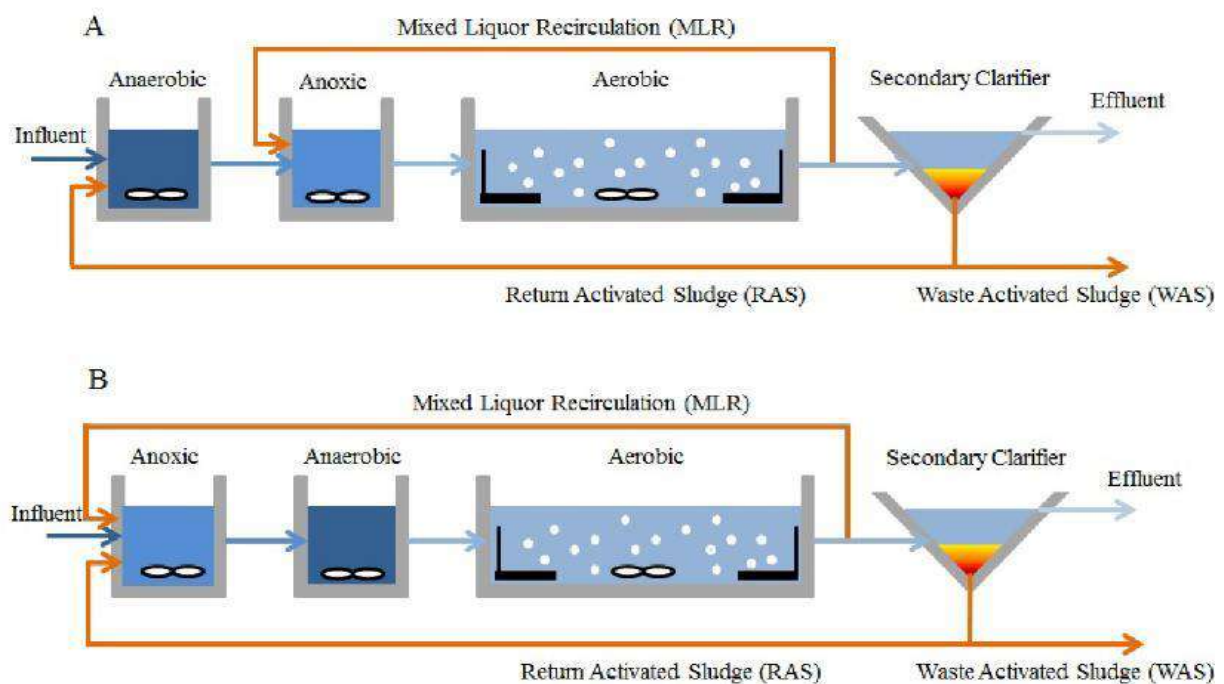


Figure 3 : Schéma d'un système typique à boues activées (Xu, 2014).

Au cours du traitement par boues activées, trois principaux mécanismes d'élimination des polluants existent : la biodégradation métabolique ou co-métabolique, la sorption sur les floccs de boue et la volatilisation (principalement pendant l'aération). En raison de la valeur de la constante de Henry des polluants, la volatilisation peut être considérée comme minime pour la plupart des produits pharmaceutiques et de soins personnels (**Joss *et al.*, 2006**). En raison de l'hydrophobie de certains composés, tels que les parfums de musc ou les œstrogènes, l'adsorption sur les floccs de boues activées pourrait être une voie importante pour eux (**Maeng *et al.*, 2013**). Selon certains auteurs, la biodégradation co-métabolique, pourrait jouer un rôle important dans le mécanisme d'élimination des micropolluants lors du traitement par boues activées des eaux usées municipales, car les concentrations de micropolluants peuvent être trop faibles pour servir de substrat de croissance directe (**Fischer et Majewsky, 2014**). La nitrification se produit dans ce réservoir aéré, entraînant la conversion de l'ammoniac en nitrates grâce aux bactéries nitrifiantes. Les bactéries oxydant l'ammoniac peuvent éventuellement co-métaboliser les micropolluants et ainsi améliorer l'élimination des micropolluants organiques (**Margot *et al.*, 2016**).

3.3.2. Système de croissance attachée

La biomasse se développe attachée à un milieu de support pour créer un biofilm dans les systèmes de croissance attachés. La composition du milieu de support, les interactions cellule-cellule et la présence de molécules de polymère à la surface influencent l'attachement au milieu de support. Le milieu de support peut être immergé dans le milieu liquide ou exposé à des décharges intermittentes ou continues. Ce dernier peut être solide naturel (roches, pierres, graviers, sable et sol), artificiel (caoutchouc, plastique) ou constitué d'agglomérats de biomasse (granules). Les biofilms se nourrissent de la matière organique et des nutriments contenus dans les eaux usées qui s'écoulent sur eux pour se développer sur le milieu de support. Certains des systèmes de croissance fixés couramment utilisés sont décrits dans les sous-sections suivantes (**Boks *et al.*, 2008**).

- **Les lits bactériens**

Le traitement des eaux usées par les lits bactériens ou également appelé filtre bactérien est l'une des technologies de traitement les plus anciennes et les mieux caractérisées. Les filtres bactériens se composent généralement d'une cuve remplie d'un matériau inerte. Les eaux usées sont arrosées régulièrement sur le support par le système de distribution. Au fur et à mesure que les eaux usées cascaded de manière aléatoire à travers les espaces entre le

support, une couche de biomasse immobilisée se forme sur le support, et le traitement est fourni par les micro-organismes qui ingèrent la matière organique dissoute pour leur développement et leur reproduction (**Pal et al., 2010**). Les filtres bactérien sont idéals pour les petites et moyennes collectivités et se distinguent par leur facilité d'utilisation, leur capacité d'auto-nettoyage et leur élimination efficace de l'ammoniac. Cependant, comme l'effluent génère d'énormes volumes de boues et présente une forte incidence de colmatage, un traitement supplémentaire peut être nécessaire pour respecter les réglementations strictes en matière de rejet (**Donlan et Costerton, 2002**).

- **Les bio-disques**

Le bio-disque est un système de croissance attaché efficace qui purifie les eaux usées de différentes industries, à savoir des aliments et des boissons, des raffineries et de pétrochimies. En outre, il est efficace pour purifier les eaux usées municipales, les lixiviats de décharges et les effluents de lagunes. Le système se compose d'un support de biomasse sous forme de disque, généralement en plastique (polyéthylène, chlorure de polyvinyle et polystyrène expansé), qui sont partiellement immergés dans les eaux usées. En tournant lentement, il soulève un film d'eaux usées dans l'air. L'eau usée ruisselle à travers le milieu, absorbant l'oxygène de l'air fourni par l'action rotative. Les composants organiques et les nutriments contenus dans les eaux usées sont absorbés par une biomasse vivante (biofilm) adhérant aux disques. Toute biomasse supplémentaire qui se détache des disques en raison des forces de cisaillement imposées par la rotation des disques et de la force gravitationnelle est ensuite éliminée de l'eau claire en utilisant une procédure de clarification standard (**Sehar et Naz, 2016**).

1. Définition

Le terme pesticide est d'origine latin, composée de préfixe « peste » désignant tout organisme vivant indésirables pour l'agriculture ou l'hygiène publique. Le suffixe « cide » vient du verbe « caedere » qu'il signifie « tuer » (Hassaan et El Nemr, 2020).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS, 2018)¹, un pesticide est défini comme un composé chimique utilisé pour contrôler la population d'insectes, de parasites, de rongeurs et pour lutter contre les maladies des plantes. Différents types de pesticides sont utilisés pour différentes raisons dans la production agricole et chacun d'entre eux cible une variété de parasites. Ils ont également été utilisés dans le domaine de la santé publique afin d'enrayer les maladies transmises par les moustiques comme le paludisme et la dengue.

De plus, Les régulateurs de croissance des insectes ou des plantes, les agents de nouaison, d'éclaircissage ou d'évitement de la chute prématurée des fruits, sont également inclus dans cette catégorie. Elle comprend également les synergistes et les phyto-protecteurs liés à des pesticides spécifiques lorsqu'ils sont nécessaires au bon fonctionnement de ces derniers (OMS, 2017).

2. Historique

Depuis l'antiquité, les civilisations humaines ont tenté d'utiliser les méthodes les plus efficaces et les moins chronophages pour cultiver et stocker leurs aliments. Selon Tudi *et al.*, (2021), l'histoire de l'utilisation des pesticides comporte trois périodes distinctes :

- **Avant les années 1870 :**

Il n'y avait pas d'industrie chimique, les nuisibles étaient combattus à l'aide de divers produits naturels. Les Sumériens ont utilisé des insecticides pour la première fois il y a environ 4500 ans. Pour éloigner les insectes et les acariens, ils utilisaient des composés soufrés. Il y a environ 3200 ans, les Chinois utilisaient des produits à base de mercure et d'arsenic pour lutter contre les poux de corps. Tous les produits utilisés dans cette période étaient dérivés des sources animales ou végétales facilement disponibles. Par exemple, la paille, des déchets de haies, des crabes et du poisson, étaient fréquemment brûlés et appliqués au tant que fumage. Il était largement considéré que cette fumée empêcherait le développement du mildiou ou de l'oïdium (Unsworth, 2010). Depuis plus de 2000 ans, la

¹ OMS Organisation Mondiale de la Santé. (2018). Pesticides. Consulté le 24/11/2021, sur le site <https://www.who.int/topics/pesticides/en/>

nicotine tirés du tabac été utilisé comme un insecticide contre les pucerons de la pêche. La poudre pyréthrine issue des fleurs du *Chrysanthème cinerariaefolium* et la roténone extraite des racines de la légumineuse *Derris elliptica* ont été utilisés comme des insecticides. Le sel ou l'eau de mer ont été utilisés pour contrôler les mauvaises herbes (**Kheddam-Benadjal, 2012**).

- **Entre 1870 et 1945 :**

Suite au progrès de la chimie minérale, les gens ont commencé à utiliser des produits synthétiques inorganiques. Des composés de cuivre et de soufre ont été employés en Suède à la fin des années 1800 pour protéger les fruits et les pommes de terre des attaques fongiques. Plusieurs produits chimiques inorganiques ont été employés comme pesticides, notamment la bouillie bordelaise (basée sur le sulfate de cuivre et la chaux), qui est utilisée à la France en 1885 contre le mildiou de la vigne (**Pflieger, 2009**). Un événement capital dans l'histoire des pesticides représente la découverte du dichloro-diphényle-trichloro-éthane (DDT) en tant que pesticide organique synthétique potentiel par Paul Herman-Muller en 1939. Cette découverte lui a valu quelques années plus tard le prix Nobel. Le développement des pesticides s'est accéléré au cours de la Seconde Guerre Mondiale (1939-1945), car il était urgent d'améliorer la production alimentaire et de trouver des agents de guerre chimique potentiels. En conséquence, les pesticides synthétiques tels que le DDT, l'aldrine, la dieldrine, l'endrine, le parathion et le 2,4-dichlorophénoxyacétique acide (2,4-D) ont connu une augmentation significative dans les années 1940 (**Gyawali, 2018**).

- **Après 1945 :**

L'utilisation des pesticides dans l'agriculture était considérée comme avantageuse, et aucune préoccupation quant aux risques potentiels de ces produits chimiques pour l'environnement et la santé humaine. Malgré son attrait, l'utilisation du DDT ne durera pas longtemps. En 1962, le livre de Rachel Carson "Printemps silencieux" a décrit en détail les dangers du DDT (**Bertomeu-Sánchez, 2019**). Dans les années qui ont suivi, de nombreux États ont interdit l'utilisation du DDT au profit d'organophosphorés et de carbamates moins dangereux. L'accueil favorable réservé aux pesticides dans la lutte contre les parasites agricoles a incité et encouragé divers scientifiques et chercheurs à consacrer davantage de temps et de ressources à la recherche et au développement de pesticides. En conséquence,

dans les années 1970-1990 de nombreux pesticides aux mécanismes d'action variés ont été découverts (**Bernardes et al., 2015**).

3. Utilité et utilisation des pesticides dans le monde et en Algérie

Les pesticides ont été salués comme l'arme la plus efficace de l'homme dans la lutte contre les parasites agricoles qui font des ravages sur les rendements des cultures. L'application de ces pesticides a permis de réduire considérablement les nuisibles, qui peuvent améliorer de manière significative la productivité agricole et les marges économiques. L'application des pesticides en industrie aide à préserver les produits (papier, textile) au cours de la fabrication. également, ils protègent le bois de la destruction par les termites et d'autres insectes xylophages, ainsi qu'à contrôler la propagation du vecteur du paludisme et le typhus et les moustiques anophèles (**Abubakar et al., 2020**).

3.1. Utilisation mondiale

Un large éventail d'organismes devient la cible des pesticides, 80 % visent à tuer les insectes, 15 % sont des herbicides, 1,46 % sont destinés aux maladies fongiques des plantes, tandis que 3 % sont d'autres formes de pesticides (**Rajmohan et al., 2020**).

De 1990 à 2018, tous les pays du monde ont enregistré des quantités de pesticides utilisés, notamment en Asie et en Amérique. La quantité moyenne mondiale a augmenté de 1,55 kg/ha en 1990 à 2,63 kg/ha en 2018.

La FAO (Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture) a indiqué que de 2015 à 2018, la part de la consommation mondiale de pesticides était de 52,2 % en Asie, 32,4 % aux États-Unis, 11,8 % en Europe, 2 % en Afrique et 1,6 % en Océanie. La consommation de pesticides à l'hectare par pays est la plus élevée pour la Chine, suivie par le Royaume-Uni, et la moins élevée en Inde (**FAO**)².

En 2019, un revenu de 84,5 milliards a été généré et d'ici 2023, il devrait atteindre la valeur de 130,7 milliards de dollars (**The Business Research Company, 2020**). Environ 2 millions de tonnes de pesticides sont utilisées chaque année dans le monde et on estime que ce chiffre atteindra 3,5 millions de tonnes en 2021. Cependant, la consommation mondiale d'herbicides représente environ 47,5 %, celle des insecticides environ 29,5 %, celle des fongicides 17,5 %

² FAO, Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture, Pesticides. Disponible en ligne: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP> (consulté le 10 novembre 2021).

et le reste représente 5,5 %. Les dix premiers pays consommateurs de pesticides dans le monde sont la Chine, les États-Unis, l'Argentine, la Thaïlande, le Brésil, l'Italie, la France, le Canada, le Japon et l'Inde (**Sharma et al., 2019**).

3.2. Utilisation en Algérie

Au cours de la dernière décennie, la pratique agricole en Algérie a connu une croissance significative en termes de production, de rendement et d'utilisation de pesticides. Ces composés chimiques sont réglementés et approuvés par le ministère algérien de l'agriculture ; cependant, pour maximiser la production, certains agriculteurs appliquent des pesticides plus fréquemment et plus abondamment que ce qui est recommandé (**Saidi et al., 2017**). En effet, selon les données de la **FAO, (2014)**³, le marché algérien des pesticides représente 6,09 % du marché africain, qui, à son tour, représente 4,14% du marché mondial.

L'index Algérien des produits phytosanitaires agricoles (**2015**)⁴ liste les insecticides, acaricides, fongicides et herbicides autorisés, avec plus de 200 matières actives qui entrent dans les formulations de près de 900 produits commerciaux. En 2007, environ 400 ingrédients actifs ont été enregistrés en Algérie. Ainsi, en 10 ans, le nombre de matières actives enregistrées a diminué de moitié suivant la diminution observée dans la communauté européenne; cependant, la liste algérienne a maintenu quelques matières actives qui sont interdits dans la communauté européenne. Par ailleurs, **Ould El Hadj et al., (2011)** ont évoqué l'utilisation d'autres matières actives qui ne figurent pas dans l'indice phytosanitaire algérien de 2015 ou 2007, notamment les polluants organiques persistants organochlorés : l'aldrine, la dieldrine, le toxaphène et l'Hexachlorocyclohexane (HCH), utilisés dans la lutte antiacridienne dans le Sahara algérien.

4. Formulation

Dans les formulations de pesticides, l'ingrédient actif est combiné à des ingrédients inertes. Les ingrédients inertes tels que l'eau, les solvants pétroliers et les agents mouillants sont des éléments ajoutés à l'ingrédient actif pour rendre les pesticides plus sûrs, plus efficaces et plus

³ FAO, Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture. (2014). Algérie. URL: <http://faostat.fao.org/>

⁴ Index Algérien des Produits Phytosanitaires. (2015). Téléchargeable sur le site : http://www.minagri.dz/pdf/Dpvct/INDEX_PRODUIITS_PHYTO_2015.pdf.

faciles à mesurer, à mélanger et à appliquer (Rojas, 2012). Les formulations les plus couramment utilisées sont:

- **Les solides** : Il en existe trois variétés : la poudre mouillable (WP), la poudre soluble (SP) et les granulés dispersables (WG).
- **Les liquides** : On distingue les concentrés solubles (SL), les suspensions concentrées (SC), les concentrés émulsionnables (EC) et les émulsions aqueuse (EW).

Certaines formulations sont prêtes à être utilisées immédiatement, tandis que d'autres nécessitent une dilution supplémentaire.

5. Classification des pesticides

La révolution verte a entraîné une forte augmentation de l'application des pesticides, ce qui a permis d'accroître la productivité et d'élargir la gamme de produits pesticides. À cet égard, il est essentiel de créer une classification des pesticides qui fournira des indices cruciaux pour naviguer dans le grand nombre de composés disponibles et sélectionner celui qui convient le mieux à l'application prévue. Il est assez difficile de respecter un seul principe lors de la classification des pesticides, c'est pourquoi, dans la plupart des cas, il est préférable d'utiliser plusieurs techniques. Les pesticides peuvent être classés en trois catégories sur la base des caractéristiques générales.

5.1. Classification selon le type de l'organisme cible

Les pesticides sont classés en fonction du rôle qu'ils jouent et des parasites qu'ils ciblent. Le **tableau 1** présente la classification des pesticides en fonction du parasite visé. Les fongicides, les herbicides et les insecticides, sont les types les plus courants.

Tableau 1 : Classification des pesticides selon l'organisme nuisible ciblé (Yusoff *et al.*, 2016).

Type de pesticide	Exemple	Organisme cible/Fonction
Avicide	Avitrol	Tue les oiseaux
Acaricide	Bifenazate	Tue les acariens
Attractant	Phéromone	Attire un large éventail de parasites
Algaecide	Sulfate de cuivre	Contrôle la croissance des algues
Bactéricide	Complexe de cuivre	Agit contre les bactéries
Lampricide	Trifluorométhyl	Cible les larves de lamproies

Larvicide	Méthoprène	Inhibe la croissance des larves
Molluscicide	Métaldéhyde	Inhibe ou tue les mollusques
Nematicide	Aldicarb, Ethoprop	Tue les nématodes
Piscicide	Roténone	Agit contre les poissons
Prédacide	Strychnine	Prédateur de mammifères
Rodenticide	Warfarin	Lutte contre les souris et autres rongeurs
Termiticide	Fipronil	Tue les termites
Virucide	Scytovirin	Agit contre les virus

5.1.1. Les fongicides

Sont des composés qui tuent les champignons parasites ou leurs spores. Ils permettent de lutter contre les infestations fongiques, qui sont particulièrement fréquentes dans l'ensemble de l'alimentation. Ils perturbent divers processus métaboliques dans le cytoplasme et les mitochondries des champignons (**Thind et Hollomon, 2018**). Il existe des modes d'action communs des fongicides comme indiqué ci-dessous :

- **Inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol**

Les canazoles bloquent la formation d'ergostérol, qui est un composant important de la membrane cellulaire des champignons. Tout d'abord, ils inhibent le cytochrome P450 (CYP-51) ou lanostérol-14a déméthylase, qui est l'un des composants uniques de la famille des cytochromes que l'on trouve chez les champignons, les procaryotes, les plantes et les animaux. Ils ont une large action antifongique et sont donc utilisés dans les médicaments pour traiter les maladies fongiques systémiques et tropicales (**Bolognesi et Merlo, 2011**).

- **Inhibiteurs de la biosynthèse des protéines**

Certains fongicides, agit comme un inhibiteur de la synthèse des protéines en modifiant les groupes sulfhydryles de nombreuses protéines. De plus, l'inhibition des protéines empêche la germination des spores et la formation des tubes germinatifs. Les benzimidazoles, par exemple, empêchent les microtubules dépolymérisés du fuseau de se réassembler. Ces produits chimiques sont efficaces contre les espèces fongiques, mais ils affectent également la dynamique de l'assemblage des microtubules des mammifères (**Oruc, 2010**).

- **Inhibiteurs de la respiration mitochondriale**

L'azoxystrobine inhibe le transport des électrons au niveau du site extérieur de la quinone du complexe cytochrome bc₁ entre le cytochrome b et le cytochrome c₁, ce qui entraîne le blocage de la respiration mitochondriale et la production d'énergie (Casida et Durkin, 2017).

- **Fongicides multi sites**

Certains fongicides affectent multiples processus biochimiques en ciblant plusieurs sites des champignons visés. Cela implique l'inhibition de la suppression de la respiration, des enzymes antioxydantes pour perturber l'équilibre redox cellulaire (Rath *et al.*, 2011).

5.1.2. Les herbicides

Sont des agents chimiques appliqués pour contrôler ou tuer les mauvaises herbes. Ils sont utilisés à la place de la méthode mécanique. Chaque herbicide possède un mode d'action distinct, qui est présenté ci-dessous :

- **Régulateurs de croissance**

Ce type d'herbicide peut être utilisé pour contrôler les mauvaises herbes à larges feuilles en affectant les hormones de croissance des plantes comme le 2,4-D (Jablonkai, 2011).

- **Inhibiteurs de la photosynthèse**

Ces herbicides entraînent la suppression de la photosynthèse en interférant avec les bio-membranes par le biais des molécules hautement actifs. Les plantes finissent par mourir en raison de l'augmentation des molécules hautement actives qui endommagent les membranes cellulaires (Sathiakumar *et al.*, 2011).

- **Inhibiteurs de la biosynthèse des lipides**

Le fluazifop et le sethoxydim sont des exemples d'herbicides qui empêchent la formation de lipides, ce qui entraîne l'absence de membrane biologique (Rani *et al.*, 2021).

- **Inhibiteur de la biosynthèse des acides aminés**

L'herbicide Roundup contient du glyphosate comme constituant actif qui inhibe la biosynthèse des acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, phénylalanine et la tyrosine. En outre, il existe différents composés qui agissent comme de puissants inhibiteurs de la glutamine synthétase qui catalyse l'incorporation de l'ammoniaque dans l'organisme (Tarazona *et al.*, 2017).

- **Inhibiteurs de la biosynthèse des pigments**

Les herbicides à base de clomazone inhibent la biosynthèse des pigments photosynthétiques, à savoir la biosynthèse des caroténoïdes. Ces pigments protègent la chlorophylle de la lumière, et si les caroténoïdes ne sont pas présents dans la plante, la chlorophylle sera détruite, rendant la plante incapable d'entreprendre la photosynthèse (Corniani *et al.*, 2014).

5.1.3. Les insecticides

Sont des composés chimiques qui sont utilisées pour tuer les insectes. Les larvicides sont des insecticides qui ciblent le stade larvaire du cycle de vie d'un insecte. Ces composés sont utilisés dans l'agriculture, l'horticulture, la sylviculture et le jardinage, mais aussi pour lutter contre les vecteurs comme les moustiques et les tiques qui transmettent des maladies comme la dengue et le paludisme aux humains et aux animaux (Haddi *et al.*, 2017; Kleinschmidt *et al.*, 2018). Les insecticides agissent principalement sur trois sites cibles :

5.1.3.1. Cibles nerveuses et musculaires

- **Inhibition du cholinestérase**

Les insecticides de type carbamate et organophosphoré, qui provoquent une sur-stimulation du système neurologique des insectes, ont présenté cette forme d'inhibition. L'insecte finit par mourir à cause de ce phénomène (Rajashekar *et al.*, 2016).

- **Stimulation des récepteurs de l'acétylcholine**

Les insecticides néonicotinoïdes agissent sur le neurotransmetteur acétylcholine. Ils se fixent aux récepteurs de l'acétylcholine, provoquant une excitation à long terme et, finalement, la mort de l'insecte. Ils n'avaient aucun effet sur l'enzyme cholinestérase (Sparks et Nauen, 2015).

- **Modulateur des canaux sodiques**

Cette forme d'action est démontrée par les insecticides pyréthrines et pyréthroïdes, qui se lient aux canaux sodiques, entraînant la fixation des insectes dans un état ouvert, provoquant des tremblements et entraînant la mort des insectes (Lushchak *et al.*, 2018).

5.1.3.2. Cibles de croissance et de développement

- **Inhibiteurs de la synthèse de la chitine**

Certains composés hormonaux inhibent la formation de chitine chez les insectes, entraînant leurs morts au cours des premiers stades du développement embryonnaire (Yu, 2011).

- **Régulateurs de la croissance des insectes**

Les insecticides ont un effet sur le système endocrinien, qui est directement responsable de la production d'hormones de croissance. Le signal de la métamorphose n'est pas reçu par les insectes empoisonnés par les régulateurs de croissance des insectes. Certains d'entre eux ont été conçus pour imiter les effets de l'hormone juvénile nécessaire à la métamorphose (Lushchak *et al.*, 2018).

5.1.3.3. Objectifs de production d'énergie

- **Inhibition du transport d'électrons**

Ce mode d'action fausse l'approvisionnement en énergie de l'organisme cible en entravant le transport des électrons. Les insecticides organochlorés aliphatiques ont démontré ce mécanisme (Jayaraj *et al.*, 2016).

- **Interruption de la phosphorylation oxydative**

Les acaricides organostanniques inhibent les chaînes de transport d'électrons des mitochondries ; les pyrroles, quant à eux, découplent le transport d'électrons et la phosphorylation oxydative. Par conséquent, la production d'ATP est inhibée, ce qui entraîne la mort de l'insecte (Thapa *et al.*, 2017).

5.2. Classification selon la structure chimique

La manière la plus courante et la plus appropriée pour classer les pesticides est basée sur leurs compositions chimiques et la description de leurs matières actives. Il s'agit d'une sorte de classification qui permet de prouver l'efficacité, les qualités chimiques et physiques d'un pesticide. Les pesticides sont divisés en quatre catégories principales en fonction de leur composition chimique : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyrèthrine et les pyrèthroïdes. La structure générale est présentée dans le **tableau 2** (Hassaan et El Nemr, 2020).

5.2.1. Les organochlorés

Également appelés hydrocarbures chlorés, sont principalement composés de carbone, de chlore et d'hydrogène (**Satish et al., 2017**). Ils sont l'un des premiers pesticides synthétisés et sont largement utilisés dans l'agriculture. La majorité d'entre eux sont des pesticides qui ont un effet résiduel à long terme dans l'environnement et sont utilisés pour lutter contre un large éventail d'insectes (**El Nembr et El-Sadaawy, 2016**). Le DDT, le lindane, l'endosulfan, l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore, le toxaphène et le chlordane sont quelques exemples de ces pesticides (**Jayaraj et al., 2016**).

5.2.2. Les organophosphorés

Ils ont été présentés comme une alternative plus écologique aux organochlorés. Sont des pesticides dérivés de l'acide phosphorique, considérés comme l'un des pesticides à large spectre composé d'un groupe hétérogène de produits chimiques, dont le plus courant est le glyphosate (**Vale et Lotti, 2015**). Ce sont des inhibiteurs du cholinestérase, perturbant le neurotransmetteur à travers une synapse. L'hexaéthyl tétraphosphate été le premier pesticide organophosphoré synthétisé (**Rathnayake et Northrup, 2016**).

5.2.3. Les carbamates

Sont des composés dérivés de l'acide carbamique. Un groupe amine couplé à un groupe ester caractérise leurs structures chimiques, comme indiqué dans le **tableau 2**. Typiquement, R1 et R2 sont des radicaux organiques ou d'hydrogène. Si R2 est un hydrogène, la cible peut être déduite en regardant le groupe fonctionnel R1 (**Dhouib et al., 2016**). Il est possible d'avoir :

- Des insecticides, lorsque R1 est un groupe méthyle ;
- Des herbicides, lorsque R1 est un groupe aromatique ;
- Des fongicides, lorsque R1 est un groupe benzimidazole.

Les carbamates sont également des biocides pour l'industrie et des produits ménagers pour le contrôle des parasites domestiques (**Struger et al., 2016**). Les pesticides carbamates courants sont l'aldicarbe, le carbofuran, le fenoxycarb, le carbaryl, l'éthiénocarb et le fenobucarb (**Arif et al., 2012**).

5.2.4. Les pyréthrines et les pyréthroïdes

Les pyréthrines sont des insecticides naturels dérivés des fleurs de *Tanacetum cinerariaefolium*, également connu sous le nom de *Chrysanthemum cinerariaefolium* ou *Pyrethrum cinerariaefolium*. Leurs principes actifs sont des esters de l'acide 2,2-diméthyl-3-(2-méthyl-1-propényl) cyclopropanecarboxylique (acide chrysanthémique) et de l'acide 3-(2-méthoxycarbonyl-1-propényl)- 2,2-diméthyl-1-cyclopropanecarboxylique (acide pyréthrique). Six types ont été identifiés, comme le montre le **tableau 2** (Ullah *et al.*, 2019).

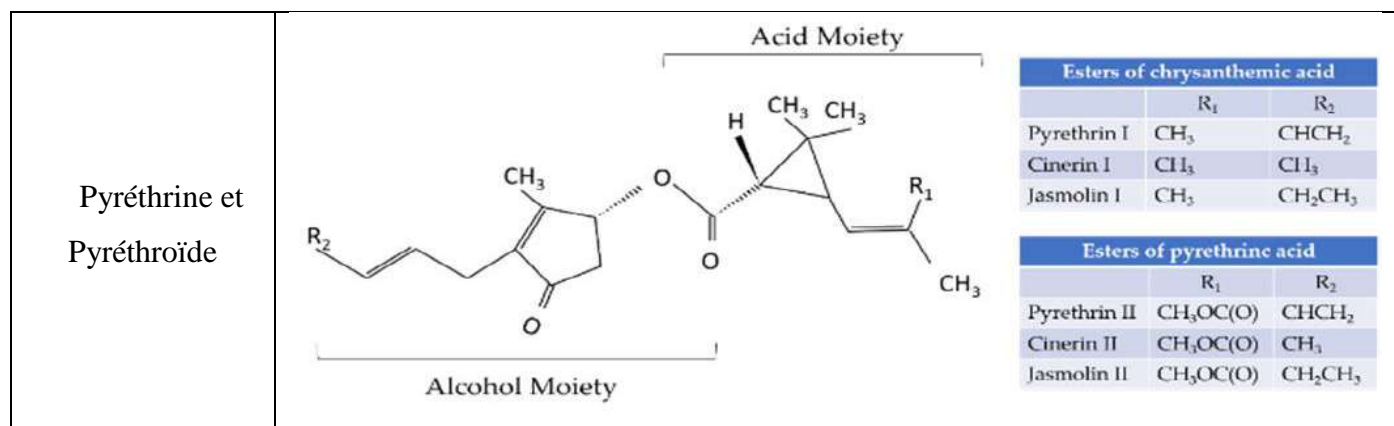
Les pyréthroïdes sont des composés synthétiques qui sont obtenus en modifiant la partie acide chrysanthémique de la pyréthrine I et en estérifiant les alcools. Ils peuvent être divisés en deux catégories (Grdiša *et al.*, 2020):

- Pyréthroïdes de la première génération : esters d'acide chrysanthémique et d'un alcool, ayant un cycle furanique et des fragments de la chaîne latérale terminale.
- Pyréthroïdes de la deuxième génération : ils contiennent des dérivés de l'alcool 3-phénoxybenzyle dans la partie alcool, ainsi que des cycles aromatiques et des substitués dichlorovinyles ou dibromovinyles dans certaines parties de la chaîne latérale terminale.

Par rapport aux pyréthrines, les pyréthroïdes sont fabriqués pour renforcer le pouvoir insecticide tout en réduisant la sensibilité à l'air et à la lumière.

Tableau 2 : Structure chimique des pesticides (Raffa et Chiampo, 2021).

Groupe	Structure chimique
Organochloré	$R - Cl$
Organophosphoré	$ \begin{array}{c} O \\ \\ R_1O - P - R_3O \\ \\ R_2O \end{array} $
Carbamate	$ \begin{array}{c} O \\ \\ R_1 - NH - C - O - R_2 \end{array} $



5.3. Les bio-pesticides

Sont des substances dérivées de la nature ayant la capacité d'agir comme des pesticides. Ils sont biodégradables et n'ont aucun effet négatif sur les organismes non ciblés. Ils peuvent être d'origine biochimique, végétal ou microbien (Meleiro Porto *et al.*, 2011).

5.3.1. Pesticides biochimiques

Ce sont des substances naturelles qui utilisent des techniques inoffensives pour contrôler les nuisibles (Mishra *et al.*, 2015). Les plantes et les animaux émettent des molécules chimiques appelées sémio-chimiques. Ces substances comprennent les phéromones, les allomones, les kairomones et les attractifs. Elles sont liées aux processus vitaux des parasites tels que l'alimentation, l'accouplement et la ponte des œufs (oviposition). Par conséquent, la manipulation de leur concentration peut être utilisée pour avoir un impact sur le cycle de vie du parasite (Sarwar, 2015).

5.3.2. Agents de protection incorporés dans les plantes

Lorsque le ravageur se nourrit des plantes, les agents protecteurs incorporés aux plantes peuvent être produits par les plantes elles-mêmes. Les plantes peuvent être génétiquement modifiées pour forcer leur production en ajoutant un gène qui agit sur une protéine pesticide spécifique dans le matériel génétique de la plante. La plante peut alors créer les produits chimiques toxiques pour certains ravageurs (Parker et Sander, 2017).

5.3.3. Pesticides microbiens

Les pesticides microbiens sont des organismes vivants qui contrôlent les nuisibles tels que les bactéries, les champignons, les algues et les virus. Ils suppriment les nuisibles soit en

produisant des métabolites toxiques qui causent des dommages et des maladies, soit en empêchant l'établissement d'autres micro-organismes. Les deux pesticides les plus courants qui entrent dans ce groupe sont la toxine bactérienne produite par *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus sphaericus* (Montesinos, 2003).

6. Impact des pesticides sur la santé humaine

Les pesticides visent à prévenir, éliminer et contrôler les nuisibles, mais ils peuvent être nocifs pour la santé humaine. Leur utilisation excessive peut donner lieu à de fortes concentrations de substances polluantes dans l'environnement. Au fil des ans, l'OMS a classé les pesticides et a signalé leur toxicité et leurs effets sur la santé humaine. Plusieurs pesticides ont été interdits dans certains pays en raison de leur forte toxicité. Cependant, à l'heure actuelle, leur production et leur utilisation se poursuivent, notamment dans les pays en développement.

6.1. Voies d'exposition de l'homme aux pesticides

L'exposition aux pesticides peut provenir de diverses sources, notamment de l'utilisation professionnelle, de l'agricole et domestique, ainsi qu'indirectement de l'alimentation. En outre, les pesticides peuvent être appliqués sur les terrains de golf, aux abords des routes principales et dans d'autres zones publiques, exposant ainsi le grand public aux pesticides. La chaîne alimentaire, l'air, l'eau, le sol, la flore et la faune sont les principales voies d'exposition aux pesticides pour les humains (Anderson et Meade, 2014). Les pesticides sont transportés dans tout le corps par la circulation sanguine, mais ils peuvent aussi être éliminés par l'urine, la peau et l'air expiré (Damalas et Eleftherohorinos, 2011). Les pesticides peuvent pénétrer dans le corps humain par quatre voies différentes : cutanée, orale, oculaire et respiratoire. La toxicité des pesticides varie en fonction de la voie d'exposition. Comme on peut le supposer, le risque de contamination par les pesticides augmente avec la concentration et les temps d'intervention, ainsi qu'avec la toxicité du produit chimique en question (Meenakshi et al., 2012).

6.1.1. Exposition cutanée

L'exposition cutanée est l'une des voies les plus courantes par laquelle les applicateurs de pesticides sont exposés aux pesticides (Anderson et Meade, 2014). Lors du mélange, du chargement, de l'élimination et/ou du nettoyage des pesticides, une absorption cutanée peut se produire à la suite d'une éclaboussure, d'un déversement ou d'une dérive de pulvérisation

(**Salvatore et al., 2008**). La quantité et la durée de l'exposition, la présence d'autres matières sur la peau, la température et l'humidité peuvent toutes modifier les qualités physico-chimiques des formulations de pesticides et leur capacité à être absorbées par la peau (**Beard et al., 2014**).

Les pesticides solides poudres et granulés ne sont pas aussi facilement absorbés par la peau et les autres tissus humains que les formulations liquides. Lorsque les employés manipulent par exemple, en les mélangeant des pesticides concentrés ayant une forte proportion de composant actif, le risque d'absorption cutanée augmente. L'absorption de pesticides est plus probable dans certaines régions du corps comme la zone génitales et le canal auditif que dans d'autres (**Dennis et al., 2010**). Par conséquent, le taux d'absorption cutanée varie en fonction de la partie du corps.

6.1.2. Exposition orale

L'empoisonnement le plus grave peut se produire lorsqu'un pesticide est introduit par exposition orale. L'exposition orale aux pesticides se produit fréquemment à la suite d'une négligence ou pour des causes délibérées (**Damalas et Eleftherohorinos, 2011**). Les cas les plus fréquents d'exposition orale involontaire ont été documentés lorsque des pesticides ont été transférés de leur contenant original étiqueté à une bouteille ou un contenant alimentaire non étiqueté (**Gilden et al., 2010**).

De nombreuses personnes ont été empoisonnées après avoir bu des pesticides stockés dans des bouteilles de boissons gazeuses ou de l'eau stockée dans des bouteilles contaminées par des pesticides. Si les travailleurs qui manipulent des pesticides ou le matériel utilisé pour les appliquer ne se lavent pas les mains avant de manger ou de fumer, ils peuvent consommer des pesticides (**USEPA, 2007**). Par conséquent, les applicateurs doivent recevoir des instructions spécifiques sur la manière de manipuler les pesticides.

6.1.3. Exposition respiratoire

Les pesticides présentent un potentiel élevé d'exposition respiratoire en raison de la présence de composants volatils (**Amaral, 2014**). L'inhalation d'une quantité suffisante de pesticides peut causer des dommages importants aux tissus du nez, de la gorge et des poumons (**Damalas et Eleftherohorinos, 2011**). Lorsque les pesticides sont appliqués dans des endroits confinés, il est bien connu que l'exposition respiratoire aux pesticides peut être importante par exemple, une zone de stockage ou une serre non ventilée. En outre, les niveaux

de vapeur de nombreux pesticides augmentent avec la température. Par conséquent, les pesticides ne doivent pas être administrés à des températures supérieures à 30°C (USEPA, 2007).

6.1.4. Exposition des yeux

Le risque de dommages chimiques pour les tissus oculaires est très élevé. Il a été démontré que certains pesticides sont absorbés en quantités suffisamment importantes par les yeux pour provoquer des maladies graves, voire mortelles (Gilden *et al.*, 2010). Lorsque les pesticides sont appliqués à l'aide d'un équipement motorisé, ils peuvent rebondir sur la végétation ou d'autres surfaces à un rythme élevé, provoquant de graves lésions oculaires (Fareed *et al.*, 2012). Lors de la mesure ou de la combinaison de pesticides puissants ou hautement toxiques, la protection des yeux est également requise.

6.2. Impact des pesticides sur la santé humaine

L'exposition aux pesticides peut induire deux types d'effets toxiques : aigus et chroniques. On parle d'intoxication aiguë lorsque les symptômes tel que des maux de tête et des nausées apparaissent peu de temps après l'exposition au produit chimique. Le diagnostic de ce type d'intoxication est très simple, rapide, et dispose d'une thérapie bien établie. Les effets chroniques sur la santé surviennent lorsque les individus sont exposés de manière continue ou répétée aux pesticides, notamment des cancers, de diabète, des troubles respiratoires, neurologiques, des problèmes de reproduction ou de développement (Benedetti *et al.*, 2014).

6.2.1. Le cancer

Le contact direct avec les pesticides est la première cause de cancer dans le monde. Il s'agit d'un sujet global qui attire actuellement des chercheurs du monde entier (Samanic *et al.*, 2008). Quelques preuves fournies par une recherche en santé agricole dans le contexte de l'exposition aux pesticides augmentant l'incidence des cancers de la prostate, du sein, de la vessie, des poumons, du colon, de la leucémie et du myélome multiple (Huang *et al.*, 2019). Les deux pesticides arsenic et 2, 3, 7,8-tétrachlorodibenzène-p-dioxine ont été classés comme cancérigènes par le centre international de recherche sur le cancer (IARC, 1991). Une étude de cohorte aux États-Unis a établi un lien entre le risque de cancer de la vessie et l'exposition aux pesticides, notamment l'herbicide imidazolinone, imazethyper et imazaquin (Koutros *et al.*, 2016).

6.2.2. Le diabète

Les résultats de nombreuses enquêtes ont montré le lien entre l'exposition aux pesticides et le diabète. Le risque de diabète était accru lorsque les personnes étaient exposées régulièrement aux pesticides. Il existe une association positive entre les composés organochlorés et le diabète, et une corrélation similaire a été observée entre l'incidence du diabète de type 2 et les organophosphorés (**Velmurugan et al., 2017**).

6.2.3. Les troubles respiratoires

L'exposition aux produits chimiques et aux gaz dangereux peut provoquer des troubles pulmonaires tels que l'asthme, la bronchite, la pneumonie et l'insuffisance respiratoire neuromusculaire chez les ouvriers agricoles (**Kirkhorn et Garry, 2000**). De nombreuses recherches ont suggéré qu'il existe un lien entre l'asthme et l'exposition aux pesticides. Les pesticides peuvent provoquer le développement de l'asthme avec impatience, gonflement, perturbation endocrinienne ou suppression (**Langley, 2011**). Il a été démontré que l'exposition aux pesticides agricoles était liée à des taux plus élevés de cancer du poumon, en particulier lorsque l'exposition durait plus de 2 jours par mois (**Faria et al., 2005**).

6.2.4. Les troubles neurologiques

L'exposition aux pesticides contribue au développement de troubles neurologiques. Selon les données recueillies, il existe un lien entre l'exposition aux pesticides et les troubles neurologiques. La maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson sont les troubles les plus courants liés à la neuro-toxicité des pesticides.

- **La maladie d'Alzheimer**

La maladie d'Alzheimer est un type de démence marqué par une perte progressive de la mémoire et l'incapacité de maintenir l'énergie en raison de la neuro-dégénérescence du cortex cérébral. En raison de différences dans leurs activités professionnelles, on a constaté que les hommes étaient exposés à davantage de pesticides que les femmes (**Li et al., 2014**). En ce qui concerne les maladies neuro-dégénératives, Il a été constaté que les pesticides organophosphorés et organochlorés affectent la régulation de l'acétylcholine-estérase aux jonctions synaptiques dans le système nerveux, ce qui peut contribuer à la maladie d'Alzheimer (**Hayden et al., 2010**).

- **La maladie de Parkinson**

Lorsque la dopamine n'est pas produite par le neurone substantia nigra (dopaminergique) dans le cerveau, la maladie de Parkinson se développe, entraînant des tremblements, un manque de coordination et une perte de contrôle musculaire (**Hatcher *et al.*, 2008**). Il a été démontré que certains pesticides, comme la roténone, le paraquat et le 2,4-D, endommagent ces neurones dopaminergiques, inhibant la synthèse de la dopamine et provoquant la maladie de Parkinson (**Rani *et al.*, 2021**). Dans une étude distincte, il a été démontré que lorsque des rats sont exposés à la roténone, on observe une neuro-dégénérescence du système nerveux périphérique au fil du temps, ainsi qu'une diminution de la vitesse de conduction des nerfs moteurs, en particulier dans les nerfs sciatiques. Ce phénomène est dû à un manque de dopamine et à une dégradation chimique des synapses dans le système nerveux périphérique (**Mitra *et al.*, 2015**).

6.2.5. Les syndromes reproductifs

De multiples études ont prouvé que l'exposition aux pesticides peut causer des problèmes de fertilité chez les hommes et les femmes (**Hanke et Jurewicz, 2004**). Les produits chimiques perturbateurs endocriniens ont la capacité d'affecter la signalisation hormonale, y compris les œstrogènes, les hormones thyroïdiennes et les androgènes, qui sont tous des composants importants du système endocrinien normal (**Czene *et al.*, 2002**). Le contact avec les acides phénoxyacétiques et les triazines s'est avéré augmenter le risque d'avortements prématurés avant la conception (**Arbuckle *et al.*, 2001**). Les pesticides de type thiocarbamate et glyphosate étaient liés à une probabilité plus élevée d'avortement différé (**Jurewicz *et al.*, 2008**). Chez les hommes, le sang, les hormones sexuelles, les spermatozoïdes (morphologie, concentration et motilité), la qualité du sperme et l'anatomie des gonades peuvent tous être affectés par l'exposition aux pesticides. Une réduction du nombre de spermatozoïdes a été observée chez des hommes travaillant dans une serre pendant plus de dix ans (**Neghab *et al.*, 2014**). De plus, les personnes qui sont en contact avec l'abamectine ont été détectées une diminution de la maturité et de la motilité des spermatozoïdes (**Celik-Ozenci *et al.*, 2012**).

7. Les pesticides dans l'environnement et leurs impacts sur l'écosystème

7.1. Devenir des pesticides dans l'environnement

Lorsque les pesticides sont appliqués sur une plante cible, ils ont le potentiel de pénétrer dans l'environnement. En entrant dans l'environnement, les pesticides peuvent subir des

processus tels que le transfert (ou le mouvement) et la dégradation (Liu *et al.*, 2015). La dégradation des pesticides dans l'environnement entraîne la production de nouveaux produits chimiques. Les pesticides se déplacent du site cible vers d'autres milieux environnementaux ou vers des plantes non ciblées par des processus de transfert tels que l'adsorption, la lixiviation, la volatilisation, la dérive de pulvérisation et le ruissellement (Figure 4) (Marie *et al.*, 2017). Les différents types de produits chimiques indiquent leurs différences de comportement dans l'environnement. Par exemple, les composés organochlorés tels que le DDT ont une faible toxicité aiguë mais montrent une capacité significative à s'accumuler dans les tissus et à persister en causant des dommages à long terme. Leur vente a été interdite dans la plupart des pays, mais leurs résidus restent longtemps dans l'environnement en raison de leur nature. Alors que les pesticides organophosphorés sont peu persistants, ils ont une toxicité aiguë appréciable chez les mammifères (Lawler, 2017).

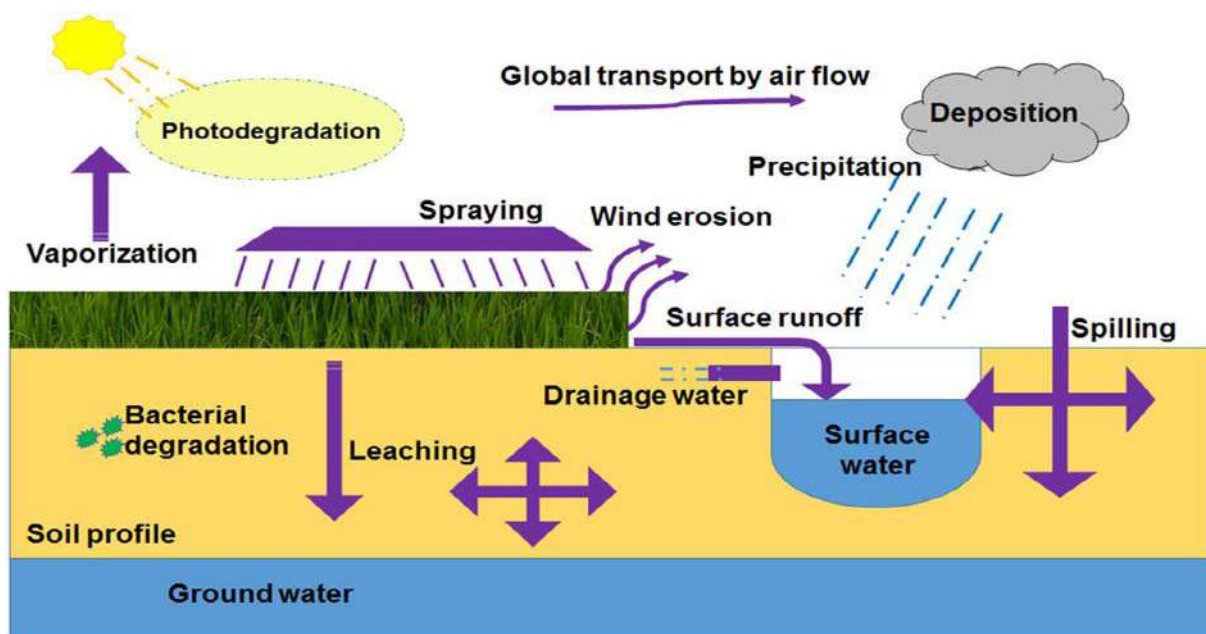


Figure 4 : Comportement des pesticides dans l'environnement naturel (Rajmohan *et al.*, 2020).

7.1.1. Le transfert des pesticides

- **L'adsorption**

Lorsque des pesticides sont utilisés, seul un petit pourcentage des pesticides appliqués a un effet préventif contre les maladies des plantes. Une grande quantité de pesticides n'est pas utilisée et atteint le sol, ce qui entraîne une grave pollution du sol (Qin *et al.*, 2014). Le processus d'adsorption est un phénomène dans lequel les pesticides se lient aux particules du

sol en raison de l'attraction entre les produits chimiques et les particules du sol (**Bošković et al., 2020; Obregón Alvarez et al., 2021**). L'adsorption des pesticides est influencée par un certain nombre d'éléments présents dans le sol, notamment le pH, la matière organique et l'amendement du sol (**Yue et al., 2017**). En outre, les sols riches en matière organique ou en argile sont beaucoup plus absorbants pour les pesticides que les sols grossiers et sablonneux, car l'argile ou les sols organiques ont une plus grande surface de particules ou plus de sites de liaison pour les pesticides (**Wu et al., 2018**). En général, les sols secs absorbent plus de pesticides que les sols humides car les molécules d'eau entrent en compétition avec les pesticides pour les sites de liaison dans les sols humides (**Duan et al., 2013**).

- **La lixiviation**

Les pesticides homologués, sont utilisés en grandes quantités dans le monde. Certains d'entre eux, sont susceptibles de s'infiltrer dans les eaux souterraines et de polluer l'eau (**Fontana et al., 2010**). Il existe plusieurs facteurs qui influencent le lessivage (**Han et al., 2013**). Selon **Singh, (2012)**, les pesticides dissous dans l'eau peuvent migrer avec l'eau dans le sol, ce qui fait de la solubilité un facteur important de la lixiviation. Un autre facteur important qui influence le lessivage des pesticides est la perméabilité du sol. Plus la perméabilité du sol est grande, plus le risque de lixiviation de pesticides est élevé (**Fontana et al., 2010**).

De plus, les conditions météorologiques, notamment les précipitations annuelles et la température moyenne annuelle, sont les principaux facteurs qui influencent les caractéristiques de lixiviation des pesticides (**Singh, 2012**). Les précipitations sont un facteur clé qui influence le flux de lixiviation vers les eaux souterraines avec les solutés des pesticides (**Labite et al., 2013**). Cependant, la température a un impact sur l'évapotranspiration du sol qui, à son tour, influence le comportement de la lixiviation des pesticides dans le sol (**Geng et al., 2017**).

- **Ruissellement de surface**

L'écoulement des pesticides dans l'eau sur une surface en pente est appelé ruissellement. Les pesticides peuvent se déplacer sous forme de composés dissous dans l'eau ou attachés aux particules du sol en érosion. Le ruissellement est lié à un certain nombre de caractéristiques, notamment la pente ou la déclivité d'une zone, la comestibilité, la texture et la teneur en humidité du sol, la quantité et le moment des précipitations et l'irrigation (**Das et al., 2020**).

Lorsque l'eau est appliquée sur un champ à un taux si élevé qu'elle ne peut être absorbée par le sol, le ruissellement se produit. L'excès d'eau de surface s'accumule à la suite d'une irrigation excessive, ce qui entraîne le ruissellement des pesticides. La pollution par les pesticides dans les cours d'eau, les étangs, les lacs et les puits résulte du ruissellement des pesticides (**Tudi et al., 2021**).

- **La dérive de pulvérisation**

La dérive de pulvérisation est le mouvement dans l'air des gouttelettes de pulvérisation qui s'éloignent d'un lieu de traitement après l'application d'un pesticide, ce qui entraîne une pollution et une contamination de l'environnement et des aliments (**Grella et al., 2020**).

- **La volatilisation**

Le processus de transformation d'un solide ou d'un liquide en un gaz est connu sous le nom de volatilisation. Une fois que les pesticides ont été volatilisés, ils peuvent être transportés par les courants d'air loin de la surface traitée. Le niveau de volatilisation des pesticides est déterminé par un certain nombre de paramètres, notamment la pression de vapeur, la température, l'humidité et le mouvement de l'air (**Zhu et al., 2017**). Plus la pression de vapeur est élevée, plus le pesticide est volatil. Les températures élevées, la faible humidité relative et le mouvement de l'air contribuent tous à une augmentation de la volatilisation (**Connell, 2005**).

7.1.2. La Dégradation des pesticides

Après l'application des pesticides sur les organismes cibles, ils peuvent être dégradés et transformés en un ou plusieurs métabolites par le biais de processus abiotique ou biotique. Selon les conditions environnementales et les caractéristiques chimiques du pesticide, la dégradation peut prendre des heures, des jours, voire des années (**Tcaciuc et al., 2018; Wu et al., 2018**). La photodégradation est un processus abiotique induit par l'absorption de l'énergie lumineuse qui conduit à la décomposition des molécules polluantes. Ce processus se déroule plus difficilement dans le sol, qui est un système hétérogène. La dégradation chimique et biologique se produit par des réactions telles que l'hydrolyse, l'oxydation, la réduction, la déshydrogénation, la déshalogénéation, la décarboxylation et la condensation. La dégradation biologique des pesticides est influencée par des facteurs tels que la température et le pH (**Qian et al., 2017**).

7.2. Impact des pesticides sur l'écosystème

L'application extensive des pesticides par les agriculteurs, institutions et le public en général offrent de nombreuses sources possibles de pesticides dans l'environnement. Il est presque impossible de limiter la zone d'action des pesticides. Même lorsqu'ils sont appliqués sur une très petite surface, ils se propagent dans l'air, s'absorbent dans le sol ou se dissout dans l'eau et finit par atteindre une zone beaucoup plus grande. Comme les pesticides sont conçus pour être toxiques pour des organismes spécifiques, ils peuvent avoir des effets environnementaux négatifs importants sur d'autres êtres vivants.

7.2.1. Risque sur la biodiversité

La biodiversité est souvent considérée comme une mesure de la santé des systèmes biologiques. Plus le nombre d'espèces vivant en harmonie dans une zone donnée est élevé, plus celle-ci est en bonne santé. Un environnement diversifié abrite de nombreux types de formes de vie, qui sont tous interdépendants. Les microbes, les insectes, les oiseaux et les grands animaux, ainsi que les prédateurs, en sont autant d'exemples. Un tel système peut maintenir son équilibre de sorte qu'aucune espèce ne devienne dominante. Parfois, un parasite peut aussi être bénéfique au système biologique en consommant et en contrôlant d'autres nuisibles. Par conséquent, l'élimination d'une seule espèce à l'aide de pesticides peut entraîner des changements spectaculaires et l'extinction de nombreuses autres espèces dans cette zone. Dans certains cas, un pesticide peut éliminer une espèce essentielle au fonctionnement de l'ensemble de la communauté, ou bien il peut favoriser la dominance d'espèces indésirables ou simplement réduire le nombre et la variété des espèces présentes dans la communauté. Cela peut perturber la dynamique des réseaux alimentaires dans la communauté en rompant les liens alimentaires existants entre les espèces (**Schafer *et al.*, 2019**).

7.2.2. Impact sur les organismes non ciblés

La plupart des pesticides, une fois appliqués pour tuer les nuisibles, peuvent également avoir un effet négatif sur les organismes non ciblés tels que les vers de terre et les pollinisateurs. Il a été démontré que les pesticides de type carbamate et organophosphorés diminuent les populations de vers de terre. L'utilisation de pesticides peut entraîner une perte directe d'insectes pollinisateurs et une perte indirecte de cultures (**Aktar *et al.*, 2009**).

7.2.3. Impacts sur la microflore du sol

Les pesticides peuvent modifier l'activité biochimique et physiologique des bactéries du sol. Ils peuvent également perturber d'importantes activités métaboliques dans le sol, comme la fixation de l'azote, la nitrification et l'ammonification, en activant ou en désactivant certains microbes et/ou enzymes du sol (**Muñoz-Leoz *et al.*, 2011**). Il a également été démontré que les pesticides affectent la minéralisation de la matière organique du sol, qui est une caractéristique importante qui influence sa qualité et sa production. Plusieurs recherches récentes ont montré que les pesticides ont un impact négatif sur la biomasse du sol. L'utilisation de pesticides a réduit la diversité microbienne tout en augmentant la variété fonctionnelle des groupes microbiens et présente occasionnellement l'affinité d'une influence stimulante/inhibitrice rescindable sur les microbes du sol (**Harding et Raizada, 2015**).

7.2.4. Impact sur les espèces aquatiques

Les pesticides présentent le plus grand risque pour les masses d'eau, principalement en réduisant le niveau d'oxygène dissous dans l'eau. Ils peuvent influencer les espèces aquatiques à de nombreux niveaux trophiques, des algues aux poissons. L'utilisation massive de pesticides pourrait entraîner une diminution du nombre de poissons (**Scholz *et al.*, 2012**). Cependant, après un traitement à la simazine, les bactéries aquatiques psychrophiles hétérotrophes, ainsi que les microbes mésophiles et cultivables solubilisant le phosphate, ont été stimulés dans les échantillons d'eau du lac (**Yadav et Devi, 2017**).

8. Les pesticides dans les ressources d'eau

L'eau est l'une des ressources naturelles les plus précieuses au monde. Tous les êtres vivants ont besoin d'eau pour survivre. L'eau est utilisée par les humains dans l'industrie, la sylviculture, les ménages et les loisirs. Dans de nombreux pays, l'état des eaux de surface est alarmant. Ces dernières années, les pesticides qui atteignent les eaux de surface ont été une source de préoccupation dans plusieurs pays du monde. En outre, en raison des coûts élevés et des exigences technologiques importantes, il est difficile de traiter les eaux de surface polluées, en particulier les eaux polluées par les pesticides (**Lai, 2017**).

Les eaux de surface, y compris les rivières, les lacs, les ruisseaux, les stations d'épuration et les estuaires, sont particulièrement vulnérables à l'accumulation de pesticides et d'autres produits chimiques (**Ansara-Ross *et al.*, 2012**), car ils constituent de petits puits captifs des sous-produits des activités humaines. Les eaux de surface sont liées aux eaux souterraines et à

l'eau atmosphérique par le biais du cycle hydrologique. En outre, les pesticides présents dans les eaux de surface peuvent être transférés vers les eaux souterraines par infiltration du sol. Elles entrent également dans l'atmosphère par évaporation (**Adams et al., 2016**). L'eau atmosphérique et les eaux souterraines peuvent également recharger les eaux de surface.

Selon l'analyse documentaire présentée dans la **figure 5**, ils apparaissent que certaines régions ne sont pas concernées par la contamination des eaux souterraines. Ce fait est vérifié par le manque de données scientifiques publiées sur le suivi des contaminants dans ces régions, donc cela n'exclut pas la présence de pesticides. De fortes concentrations de pesticides sont détectées dans les eaux de surfaces.

Il existe de nombreux rapports sur la contamination des eaux de surface par les pesticides dans le monde entier. La Commission géologique des États-Unis a trouvé plusieurs pesticides dans plus de 90 % des échantillons d'eau et de poisson prélevés dans les cours d'eau américains (**Rose et al., 2018**). Selon **Tudi et al., (2021)**, l'agriculture à l'union européen contribue à 40-80% de l'azote total et à 20-40% du phosphore à la pollution des eaux de surface. **Mazlan et al., (2017)** a reporté que les herbicides ont contaminé 37 000 à 500 000 m² des zones humides de la Saskatchewan (Canada), et les niveaux de contamination ont dépassé la norme nationale. À Californie, les rivières étaient contaminées par le prometon, le diuron, le chlorpyrifos, le diazinon et le 2,4-DCP (**Anderson et al., 2018**). Une telle contamination de l'eau par les pesticides a non seulement un impact direct sur la qualité de l'eau potable dans les zones locales, mais elle a aussi des effets indirects en se transmettant à l'espèce suivante, comme dans la chaîne alimentaire.

Cependant, Les utilisateurs de pesticides doivent être conscients du cycle de contamination des pesticides dans les eaux souterraines et de surface. Ils doivent appliquer des pratiques sûres qui réduisent le mouvement des pesticides hors du site.



Figure 5 : Occurrence mondiale des pesticides dans les eaux de surface de 2012 à 2019 (de Souza *et al.*, 2020).

1. Stratégies de réduction de l'impact négatif des pesticides

En raison des problèmes de contamination par les pesticides, le développement de technologies qui garantissent leur élimination de manière sûre, efficace et rentable est essentiel pour l'assainissement efficace d'un site pollué. Diverses approches ont été développées pour réduire les impacts des pesticides sur l'environnement et la santé humaine, pour assainir les sites contaminés et pour traiter les résidus de pesticides.

Parmi les technologies existantes, il y a celles qui appliquent des traitements physiques, tel que l'adsorption; des traitements chimiques tel que l'oxydation avancée qui implique l'utilisation de molécules puissantes, principalement le radical hydroxyle (**Ferrusquía-García et al., 2008**). Une autre méthode utilisée est l'incinération à haute température dans des fours spéciaux : les pesticides sont conditionnés dans les lieux où ils abandonnés, puis transportés vers un pays qui dispose d'installations spéciales pour éliminer les déchets dangereux. Le coût de ces activités, selon la FAO, se situe entre 3 000 et 4 000 USD par tonne (**Ortiz-Hernández et al., 2013**). Ces approches physico-chimiques conventionnelles sont généralement coûteuses et le processus de remédiation est souvent incomplet en raison de la conversion du composé parent en métabolites qui sont plus persistants et tout aussi ou plus toxiques pour les organismes non ciblés (**Ji et al., 2016**).

La biodégradation de ces composés chimiques, est un traitement alternatif qui connaît un essor important au niveau mondial. Cette méthode repose sur la capacité des microbes à transformer les polluants organiques en composés simples et respectueux de l'environnement. La biodégradation permet de surmonter les limites des méthodes traditionnelles d'élimination des composés dangereux, permettant la destruction de nombreux contaminants organiques à un coût réduit. Par conséquent, au cours des dernières années, la biodégradation a progressé pour devenir une technologie connue, considérée pour la dégradation d'un large éventail de composés polluants. En tant que technique efficace, économique et respectueuse de l'environnement, la biodégradation est apparue comme une alternative potentielle aux techniques conventionnelles. Cependant, le processus de biodégradation de nombreux pesticides n'a pas été entièrement étudié (**Fuentes et al., 2018**).

Des études ont montré que les pesticides sont transformés en produits de dégradation ou totalement minéralisés par les micro-organismes au cours des processus de biodégradation (**Purnomo, 2017**).

1.1. La minéralisation

Ce terme implique la décomposition de substances organiques complexes en produits inorganiques beaucoup plus simples, comme le dioxyde de carbone (CO₂) et l'eau (**Eissa et al., 2014**). La vitesse de minéralisation dépend de la concentration de la communauté microbienne ; ainsi, une diminution de la population microbienne ne favorise pas la dégradation. Par exemple, le fongicide organochloré chlorothalonil est minéralisé en CO₂ mais si la communauté microbienne du sol est réduite, plusieurs métabolites peuvent se former, qui sont plus toxiques, persistants et mobiles que le chlorothalonil lui-même (**de Souza et al., 2017**).

1.2. Le co-métabolisme

Il s'agit principalement du processus dans lequel la substance à dégrader ne sert pas de source de nourriture pour les micro-organismes. Ainsi, ils s'attachent à un autre substrat pour satisfaire leurs besoins en nutriments, qui finit également par être dégradé (**Coelho et al., 2015**). Les sous-produits sont comparativement moins toxiques et complexes que les composés parents. Il a été étudié que pour dégrader le DDT, le co-métabolisme joue un rôle très important. La croissance du micro-organisme dépend d'une source alternative de carbone pendant qu'ils dégradent le composé cible (**Huang et al., 2018**).

2. Mécanisme de la biodégradation des pesticides

L'ensemble du mécanisme de dégradation a été divisé en trois parties. Tout d'abord, l'adsorption de la cible, elle a lieu à la surface de la membrane cellulaire et constitue un processus d'équilibre dynamique qui est également critique. Deuxièmement, la cible pénètre dans la cellule à travers la surface de la membrane cellulaire, le taux de pénétration et l'efficacité étaient liés à la structure moléculaire de l'isomérisation de la cible. Troisièmement, la cible xénobiotique a mené rapidement une réaction enzymatique dans la membrane (**Figure 6**) (**Bose et al., 2021**).

Le temps de dégradation est un paramètre important à évaluer lorsqu'une activité de biorestauration est planifiée. Il est généralement interprété par le modèle de premier ordre, qui dépend de la concentration du polluant au début et à la fin du processus (**Khajezadeh et al., 2020**).

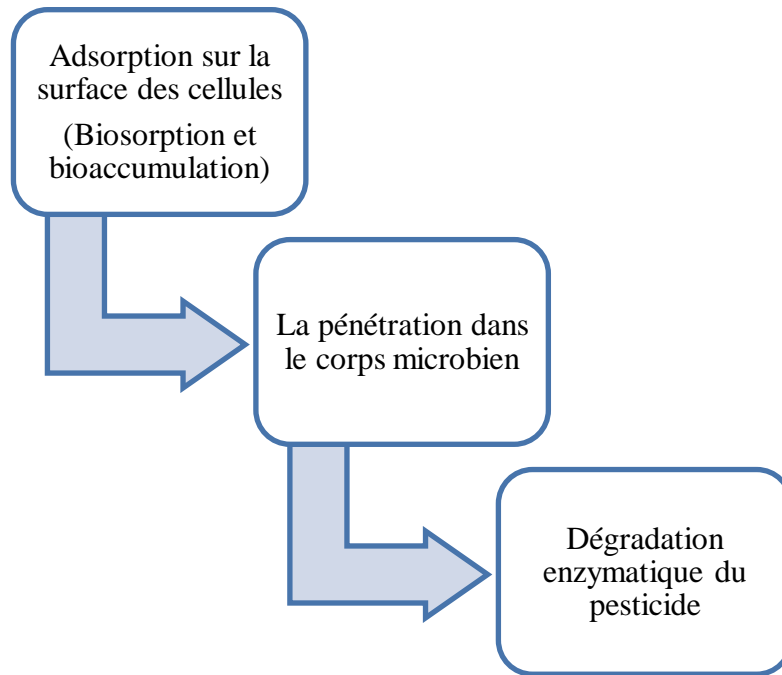


Figure 6 : Étapes de la dégradation des résidus de pesticides en composés inorganiques plus simples.

3. Les principaux enzymes microbiens et réactions interviennent lors de la biodégradation des pesticides

La dégradation enzymatique des pesticides peut impliquer un processus de trois phases (**Ortiz-Hernández et al., 2013**):

- La phase 1 : les propriétés initiales d'un composé parent sont transformées par oxydation, réduction, ou hydrolyse pour produire généralement un produit plus hydrosoluble.
- La phase 2 : Les produits de la phase 1 sont convertis par conjugaison en sucres et en acides aminés, qui ont une plus grande solubilité dans l'eau et une plus faible toxicité.
- La phase 3 : Conversion des métabolites de la phase 2 en conjugués secondaires, également non toxiques.

3.1. Les enzymes microbiens

Les enzymes sont des macromolécules biologiques qui jouent un rôle clé dans la biotransformation des composés xénobiotiques. Les étapes de la dégradation biochimique sont réalisées par une variété d'enzymes appartenant à quatre classes à savoir : les hydrolases, les

translocases, les oxydoréductases et les transférases (Fernández-López *et al.*, 2017) (Tableau 3).

Tableau 3 : Exemple d'enzymes bactériens pertinents dans la biodégradation des pesticides (Ortiz-Hernández *et al.*, 2013).

Enzyme	Organisme	Pesticide
Oxydoréductase	<i>Pseudomonas</i> sp. LBr <i>Agrobacterium</i> strain T10	Glyphosate
Mono-oxygénase		
ESd	<i>Mycobacterium</i> sp.	Endosulphan
Ese	<i>Arthrobacter</i> sp.	Endosulphan, aldrine, malation et DDT
P450	<i>Pseudomonas putida</i>	Hexachlorobenzène et pentachlorobenzène
Dioxygénases	<i>Pseudomonas putida</i>	Trifluraline
Phosphotriestérase		
OPH/OpdA	<i>Agrobacterium radiobacter</i> <i>Pseudomonas diminuta</i> <i>Flavobacterium</i> sp.	Phosphotriester
Haloalcane déshalogénase		
LinB	<i>Shingomonas</i> sp.	HCH (isomères β et δ)
AtzA	<i>Pseudomonas</i> sp. ADP	chloro-s-trazina
TrzN	<i>Nocardioides</i> sp.	chloro-s-trazina
LinA	<i>Sphingobium</i> sp.	HCH (isomères γ)
TfdA	<i>Ralstonia eutropha</i>	2,4-D et pyridyl-oxyacétique
DMO	<i>Pseudomonas maltophilia</i>	Dicamba

3.1.1. Les hydrolases

Les hydrolases constituent un vaste groupe d'enzymes impliquées dans la biodégradation des pesticides. Les A-estérases tels que phosphodiesterase, la phosphotriesterase et les monophosphates sont utiles dans la dégradation des pesticides carbamate et organophosphorés (de la Peña Mattozzi *et al.*, 2006).

3.1.2. Les oxydoréductases

Elles peuvent être classées en peroxydases, mono-oxygénases (cytochrome P450), dioxygénases et les oxydases. Les peroxydases sont présentes dans les champignons, les bactéries, les plantes mais la dégradation des xénobiotiques est signalée par des enzymes sécrétées par des champignons (**Karich *et al.*, 2017**).

3.1.3. Les transférases

Il existe de nombreux types de transférases, mais elles sont classées principalement en fonction du groupe qu'elles conjuguent à la molécule de pesticide. Les exemples incluent les acétyltransférases, les méthyltransférases et les glutathion-S-transférases. Les glutathion-S-transférases sont principalement responsables des activités de biodégradation. Elles présentent une dégradation peroxydasique et hydrolytique. Il peut également participer à la déshalogénéation du cycle (**Hervé *et al.*, 2008**).

3.1.4. Les translocases

Elles fonctionnent comme des pompes, et seul un petit nombre d'entre elles ont été découverts pour la biodégradation. Ces enzymes sont capables de catalyser le transfert d'une molécule d'un compartiment cellulaire à un autre (**Copley, 2009**).

3.2. Les réactions enzymatiques impliquées dans la biodégradation des pesticides

Les principales réactions enzymatiques par lesquels les molécules complexes sont décomposées en composés inorganiques plus simples sont l'oxydation, l'hydrolyse, la réduction, les réarrangements, la cyclisation (**Hugo *et al.*, 2016**). Le **tableau 4** montre les différents types d'oxydation et de réduction.

3.2.1. L'oxydation

Il constitue un mécanisme important de dégradation des pesticides. Il augmente la solubilité du composé dans l'eau et, dans la plupart des cas, modifie la bioactivité du composé parent. Les formes réactives de l'oxygène impliquées dans le processus sont le peroxyde d'hydrogène, l'ion superoxyde et l'ion hydroxyle (**Patil *et al.*, 2014**). Ce processus peut être inhibé par des niveaux élevés de pH (**Chen *et al.*, 2019**).

3.2.2. L'hydrolyse

L'hydrolyse permet le clivage des liaisons du substrat par l'ajout d'hydrogène ou des groupes hydroxyle provenant de molécule d'eau. Les molécules de pesticide sont ainsi divisées en composés à chaîne plus petite que ceux d'origine. Les enzymes typiques impliquées dans les voies d'hydrolyse sont les lipases, les estérases et les cellulases. Par exemple, **Luo et al., (2018)** ont découvert et cloné un gène d'estérase de *Rhodopseudomonas palustris* PSB-S qui dégrade de nombreux pyréthroïdes synthétiques, dont la fenpropathrine. L'enzyme est impliquée dans la rupture de la liaison ester dans la molécule de fenpropathrine, qui est une étape cruciale de l'hydrolyse.

3.2.3. La réduction

Elle permet la transformation grâce à des enzymes réducteurs tels que les nitroréductases. Ces réactions subissent sous certains facteurs comme un pH faible, des conditions anaérobies ainsi qu'en présence de micro-organismes anaérobies qui sont capables d'effectuer la dégradation dans les conditions susmentionnées. De telles réductions de pesticides se produisent dans des conditions telles que les eaux stagnantes, les tourbières, les lacs eutrophes (**Katagi, 2018**).

3.2.4. La conjugaison

Cette réaction implique l'ajout de composés naturels exogènes ou endogènes pour faciliter la minéralisation des pesticides. Ce processus comprend des réactions telles que la xyloxylation, l'alkylation, l'acylation et la nitrosylation (**Raffa et Chiampo 2021**).

3.2.5. Le réarrangement

Dans ces réactions, des modifications structurelles de la molécule de pesticide ont lieu, ce qui réduit les propriétés toxiques du composé de manière considérable (**Dyguda-Kazimierowicz et al., 2014**).

3.2.6. La cyclisation

Dans ces réactions, de nombreuses molécules acycliques forment un cycle (**Cycoń et al., 2017**).

Tableau 4 : Réactions chimiques impliquées dans la biodégradation des pesticides (**Hugo et al., 2016**).

Oxydation	Hydrolyse	Réduction
Hydroxylation aliphatique	Hydrolyse des thiocarbamates	Déshalogénéation réductrice
Hydroxylation aromatique	Hydrolyse du thiophosphate	Réduction des quinones
Oxydation des chaînes latérales		Réduction des groupes nitro
Époxydation		Réduction du sulfoxyde
(O-N-S) désalkylation		
N-hydroxylation		
(N-P-S) oxydation		
Désulfuration oxydative		
Sulfoxydation		
Oxydation des amines		
Déshalogénéation oxydative		
Désamination oxydative		

4. Critères de la biodégradation

Le processus de biodégradation doit répondre à certains critères afin de mener à bien de manière efficace la biodégradation.

4.1. La souche

La souche choisie doit être capable de décomposer rapidement le xénobiotique afin d'en réduire la concentration. La capacité d'adaptation des micro-organismes doit être extrêmement grande pour que le processus se déroule sans problème. Pour décomposer les espèces nouvellement introduites, le microorganisme doit être capable de s'adapter à des conditions environnementales changeantes ou de modifier sa voie enzymatique (**Hussain et al., 2016**).

Il est important de se rappeler que si les enzymes présentes dans certains microbes peuvent être efficaces pour dégrader un certain pesticide sans former de métabolites nocifs, elles peuvent ne pas être idéales pour dégrader un autre type de résidus de pesticides.

4.2. Les conditions environnementales optimales

Pour effectuer une dégradation correcte, les paramètres environnementaux tels que le pH, la température, la salinité et la disponibilité de l'eau doivent être à un niveau optimal (**Jin et**

al., 2018). **Pan et al.**, (2016) ont découvert dans une étude que la meilleure dégradation du DDT par *Stenotrophomonas* sp. se produisait à un pH de 7,0, à une température de 30 °C et à une concentration initiale de 10 mg/L. Cependant, lorsque la température est augmentée, la vitesse de dégradation et la croissance du microorganisme ralentissent considérablement. Selon les résultats de l'étude précédente, les conditions optimales pour que *Sphingobacterium* sp. dégrade le DDT sont un pH neutre et 30 °C. Les bactéries ou les champignons qui peuvent dégrader les pesticides sur une large gamme de pH sont principalement préférés. Ainsi, le maintien de conditions de pH optimales constitue un aspect important de la biodégradation (**Purnomo, 2017**).

4.3. La disponibilité des nutriments

Il doit y avoir suffisamment de nutriments pour favoriser la croissance des microorganismes. Il doit y avoir une source alternative de carbone dans le cas du co-métabolisme. Selon les recherches, les hydrocarbures aromatiques polycycliques peuvent être dégradé plus rapidement si les rapports carbone : azote : phosphate sont ajustés (**Huang et al.**, 2018).

4.4. La toxicité

La toxicité de la molécule cible est un critère essentiel pour déterminer l'efficacité de la dégradation microbienne. Lorsque la concentration du substrat est élevée, le niveau de dégradation diminue souvent. Un microbe ne peut décomposer efficacement un pesticide que jusqu'à une quantité spécifique, et toute quantité supérieure peut être toxique pour le microorganisme. Il a été démontré que *Sphingobacterium* sp. était incapable de décomposer le DDT lorsque la concentration était aussi élevée que 50 mg/L dans une recherche (**Maleiro Porto et al.**, 2011).

4.5. La structure des pesticides

La structure des pesticides constitue un aspect pour déterminer la vitesse à laquelle ils se dégradent. Le poids moléculaire, la structure chimique et spatiale, la composition des pesticides sont des facteurs importants. Les polymères sont comparativement plus résistants à la dégradation que les composés de faible poids moléculaire (**Ye et al.**, 2018). Les pesticides sont synthétisés chimiquement et libérés dans l'environnement à un rythme bien plus rapide que l'évolution des espèces microbiennes dégradantes.

5. Microorganismes impliqués dans la biodégradation des pesticides

Différents systèmes biologiques, comme les micro-organismes, ont été utilisés pour la biotransformation des pesticides. Ces composés constituent des sources de carbone pour certains microorganismes, ce qui ouvre la voie au traitement des sites contaminés par des pesticides. Les micro-organismes capables de décomposer les pesticides peuvent provenir de diverses sources. Les pesticides sont principalement appliqués sur les cultures agricoles, par conséquent, le sol, ainsi que les effluents industriels, les boues activées, les eaux usées, les eaux naturelles, les sédiments, les zones entourant la fabrication des pesticides et même certains organismes vivants, constituent la principale source de ces produits chimiques. Il existe actuellement des collections de micro-organismes caractérisés par leur identification, leur croissance et leur dégradation des pesticides dans divers laboratoires à travers le monde. L'isolement et la caractérisation des microbes dégradant les pesticides offrent la possibilité d'utiliser de nouvelles techniques pour restaurer les habitats contaminés (**Ortiz-Hernández et al., 2013**).

Les champignons, les bactéries et les actinobactéries sont les principaux agents de dégradation des pesticides (**Tableau 5**). Il existe quelques exemples de dégradation microbienne des pesticides dans la littérature, les rapports suivants méritent d'être mentionnés.

5.1. La dégradation par les champignons

Cette classe de micro-organismes comprend les levures et les moisissures. Les technologies de bioremédiation utilisant des champignons ont récemment fait l'objet d'une attention considérable pour la biodégradation des produits chimiques organiques toxiques, les champignons de source naturelle peuvent être sélectionnés comme un outil efficace. Les pesticides ; les biphényles polychlorés et les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont dégradés par le champignon *Phanerochaete chrysosporium*. Ce dernier est bien connu par son métabolisme des xénobiotiques et il a été rapporté qu'il avait la capacité à dégrader l'herbicide isoproturon (**del Pilar Castillo et al., 2001**). Les masses d'eau et les sols contaminés par l'endosulfan peuvent être facilement bio restaurés par *Aspergillus niger* (**Bhalerao et Puranik, 2007**). Dans des conditions aérobies, une souche de champignon *Fusarium verticillioides* isolée de feuilles d'*Agave tequilana* par des procédures d'enrichissement peut utiliser le lindane comme source de carbone et d'énergie (**Alzahrani, 2009**). *Fusarium oxysporum*, *Lentinula edodes*, *Penicillium brevicompactum* et *Lecanicillium saksenae* sont des souches fongiques avec un grand potentiel pour biodégrader des pesticides comme le difenoconazole,

la pendiméthaline et la terbuthylazine (Shi *et al.*, 2012). Les insecticides méthomyl et diazinon sont dégradés par un champignon de pourriture isolé du sol contaminé. Les champignons de la pourriture blanche ont été proposés comme agents de bioremédiation prometteurs (Satish *et al.*, 2017).

5.2. La dégradation par les bactéries

Au fil des années, plusieurs souches bactériennes ont été identifiées comme étant capables de dégrader les pesticides. Chaque bactérie a une spécificité qui la rend particulièrement adaptée à un processus de dégradation. Les conditions opératoires, telles que la température, le pH, la teneur en eau, et les types de polluants, affectent l'adaptation, le développement et le rôle d'une souche bactérienne. De plus, au cours du processus de dégradation, des métabolites peuvent se former et causer des problèmes environnementaux supplémentaires, car ils peuvent être plus difficiles à éliminer que le composé d'origine, ce qui doit être considéré comme un inconvénient. À titre d'exemple, le chlorpyrifos ; un organophosphoré utilisé comme insecticide, est hydrolysé par des micro-organismes, le produit de dégradation principal et majeur est le 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. Ce dernier est plus soluble dans l'eau que le chlorpyrifos et provoque une contamination étendue des sols et des milieux aquatiques. Peu de micro-organismes peuvent dégrader le pesticide et son métabolite (Abraham et Silambarasan, 2016). Dans de nombreux cas, la dégradation est plus facile lorsqu'un consortium bactérien est utilisé par rapport à une culture pure isolée. Dans la nature, les bactéries coexistent et dépendent les unes des autres pour leur viabilité. Dans les voies métaboliques de la dégradation des pesticides, chaque bactérie peut générer des métabolites qui peuvent être utilisés comme substrat par d'autres (Doolotkeldieva *et al.*, 2021).

La population bactérienne est très efficace dans la dégradation des pesticides. La plupart des espèces bactériennes qui dégradent les pesticides appartiennent aux genres *Bacillus*, *Klebsiella*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Sphingomonas*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* et *Neisseria* (Mamta *et al.*, 2015).

5.2.1. Dégradation des pesticides par les actinobactéries

Les actinobactéries possèdent de nombreuses propriétés qui en font de bons candidats pour la bioremédiation des sites contaminés par les pesticides. Elles produisent des enzymes extracellulaires, qui métabolisent une variété de composés et possèdent des spores résistantes

à la dessiccation. Les actinobactéries capables de dégrader les pesticides ont été décrites dans le chapitre suivant.

Tableau 5 : Microorganisme dégradant communément les pesticides (Huang *et al.*, 2018).

Type de microorganisme	Le genre	Exemple de dégradation d'un pesticide
Champignon	Champignon de la pourriture blanche, <i>Rhizopus, Cladosporium, Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Mucor, Trichoderma spp, Mortierella sp.</i>	Alachlore, aldicarbe, atrazine, carbofuran, chlordane, chlorpyrifos, DDT, diuron, endosulfan, esfenvalerate, fénitrothion, fénitrooxon, fipronil, heptachlore époxyde, lindane, malathion, métalaxyl, pentachlorophénol, terbuthylazine, 2,4-D.
Bactérie	<i>Pseudomonas</i>	Aldrin, chlorpyrifos, coumaphos, DDT, diazinon, endosulfan, endrin, HCH, méthyl parathion, monocrotophos, parathion.
	<i>Bacillus</i>	Chlorpyrifos, coumaphos, DDT, diazinon, dieldrine, endosulfan, endrine, glyphosate, méthyl parathion, monocrotophos, parathion, hydrocarbures aromatiques polycycliques.
	<i>Alcaligenes, Flavobacterium</i>	Chlorpyrifos, endosulfan, diazinon, glyphosate, méthyl parathion.
Actinobactérie	<i>Micromonospora, Actinomyces, Nocardia et Streptomyces</i>	Aldrine, carbofuran, chlorpyrifos, diazinon, diuron.

6. Stratégies d'amélioration de la biodégradation des pesticides

La vitesse de biodégradation est manipulée par certaines méthodes afin de dégrader le xénobiotique plus rapidement. La plupart du temps, deux méthodes sont appliquées et sont présentées ici.

6.1. Utilisation de cultures mixtes

Dans les environnements naturels, les communautés dominent le monde microbien. Les interactions entre les communautés bactériennes comprennent le contact par des signaux dédiés, le transfert horizontal de gènes, des scénarios compétitifs ou coopératifs où les microbes sont en concurrence pour obtenir ou fournir des ressources, et la modification de l'environnement pour influencer la croissance des voisins (**Hays et al., 2015**). Ainsi, des efforts ont été récemment focalisés sur l'utilisation de consortiums microbiens pour l'assainissement de l'environnement et le traitement des eaux usées, car ils peuvent effectuer des fonctions complexes qui sont difficiles, voire impossibles, pour des souches individuelles (**Brenner et al., 2008**). Les communautés microbiennes possèdent une augmentation des capacités métaboliques permettant aux membres des communautés de se répartir les tâches et de survivre aux perturbations (**Hays et al., 2015**). La division du travail est cruciale en particulier dans la bioremédiation. Cependant, le comportement et le rôle des membres des communautés bactériennes sont totalement énigmatiques. La construction d'une culture mixte définie faciliterait l'examen des caractéristiques de chacun de ses membres et le suivi de leur dynamique commune, après évaluation de la compatibilité entre les souches. En outre, en construisant une "communauté knock-out", dans laquelle l'un des membres est éliminé de la culture mixte définie, il pourrait être possible d'évaluer le rôle joué par le membre éliminé et son impact sur les autres (**Kato et al., 2005**). Il a été démontré que les actinobactéries sont d'excellents candidats pour la bioremédiation. Certaines études ont montré les avantages de l'utilisation de consortiums d'actinobactéries (**Fuentes et al., 2016**).

6.2. Immobilisation des cellules

Une cellule immobilisée est définie comme une cellule vivante qui, par des moyens naturels ou artificiels, est empêchée de se déplacer indépendamment de son emplacement d'origine vers toutes les parties de la phase aqueuse d'un système. Le concept est que les micro-organismes immobilisés dans des matrices, qu'elles soient biologiques ou inertes, peuvent améliorer les avantages biotechnologiques requis de la culture de masse du microorganisme en dégradant un métabolite spécifique ou en éliminant les polluants (**de-Bashan et Bashan, 2010**). Les micro-organismes ne vivent pas sous forme de cultures pures de cellules uniques dispersées, mais s'accumulent aux interfaces pour former des agrégats poly-microbiens tels que tapis, floccs, boues ou biofilms. Les agrégats multi-espèces peuvent former des micro-consortia stables, développer des gradients physico-chimiques et subir des

transferts de gènes horizontaux et des échanges intenses entre cellules. Ces consortia représentent donc des environnements hautement compétitifs (**Flemming et Wingender, 2010**). L'immobilisation de microorganismes sur des supports inertes a suscité un intérêt croissant en raison des avantages que l'on peut en tirer de ce processus (**Jo et al., 2010**).

L'immobilisation des cellules a été utilisée pour l'élimination biologique des pesticides car elle confère la possibilité de maintenir une activité catalytique sur de longues périodes de temps (**Chen et Georgiou, 2002**). L'immobilisation de cellules entières a montré qu'elle présentait des avantages remarquables par rapport aux systèmes biologiques conventionnels utilisant des cellules libres, tels que la possibilité d'utiliser une densité cellulaire élevée, l'évitement du lavage des cellules même à des taux de dilution élevés, la séparation facile des cellules du système de réaction, l'utilisation répétée des cellules et une meilleure protection des cellules contre les effets toxiques des composés dangereux et des environnements difficiles. Toutes ces caractéristiques ont fait que cette technique a reçu un intérêt croissant dans différents domaines, notamment le traitement des eaux usées. Bien que l'application des cellules immobilisées dans le domaine de l'environnement en est encore à ses préliminaires, les résultats observés jusqu'à présent sont prometteurs (**Martins et al., 2013**).

7. Application de la remédiation microbienne

Il existe des approches de bioremédiation *in situ* et *ex situ*.

7.1. Techniques *in situ*

Dans l'approche *in situ*, le traitement à lieu dans la zone contaminée, et le processus est souvent aérobie. Voici les techniques *in situ* les plus courantes :

7.1.1. L'atténuation naturelle

Est un processus naturel dans lequel les polluants sont dégradés par les microorganismes indigènes présents dans le site contaminé (**Guerin, 2005**).

7.1.2. La biostimulation

Le processus de biostimulation consiste en l'ajout de nutriments (azote, phosphore, carbone et oxygène) pour favoriser la croissance des microorganismes indigènes. Ces nutriments sont essentiels à la vie des microorganismes et leur permettent d'avoir de l'énergie, la population microbienne, et les enzymes pour dégrader les polluants. En général, l'azote et le phosphore sont ajoutés car ils stimulent la biodégradation et augmentent la diversité des

microorganismes. Le nombre d'éléments nutritifs fournis doit être contrôlé tout au long du processus, car une quantité réduite ou excessive de stimulants pourrait réduire l'activité microbienne et leur diversité (**Betancur-Corredor et al., 2015**).

7.1.3. La bioaugmentation

Le processus de bioaugmentation implique l'inoculation de consortiums microbiens ou de souches uniques dans le site contaminé, en augmentant la diversité microbienne. De cette façon, les microorganismes ayant des capacités métaboliques spécifiques favorisent les processus de biodégradation (**Doolotkeldieva et al., 2018**).

7.1.4. La bio-ventilation

L'activité microbienne est renforcée par l'introduction d'un flux d'air ou d'oxygène, et de nutriments dans la zone non saturée du site contaminé. La ventilation est légère, et il est nécessaire pour fournir le seuil d'oxygène nécessaire au maintien de l'activité microbienne et éviter la volatilisation des contaminants. L'assainissement par bio-ventilation peut durer de 6 mois à 5 ans, en fonction de la concentration du contaminant (**Kaur et al., 2020**).

7.1.5. Le biosparging

Dans la technique du biosparging, le processus de biodégradation se produit en stimulant les microorganismes indigènes par l'injection d'air dans les eaux souterraines pour augmenter la concentration d'oxygène. La méthode est similaire au bio-ventilation, sauf que dans le biosparging l'air est injecté dans la zone saturée. Cela peut provoquer un mouvement ascendant des composés organiques volatils vers la zone non saturée pour favoriser la biodégradation (**Kaur et al., 2020**).

Ces méthodes sont très efficaces et peu coûteuses. Leur principal avantage est que le site pollué n'est pas déplacé.

7.2. Technique *ex situ*

À l'inverse, dans les techniques *ex situ*, le site contaminé est transportée vers le site où se déroulera la dépollution. Les principales techniques sont les suivantes :

7.2.1. Les Bioréacteurs

Dans les bioréacteurs à boue, le sol contaminé est mélangé aux eaux usées pour produire une boue avec des suspensions aqueuses allant de 10% à 30% p/v, favorisant les réactions

microbiennes capables d'éliminer les polluants. Le bioréacteur peut fonctionner en mode aérobie ou anaérobie (**Baczynski et al., 2010**).

7.2.2. Le compostage

Le compostage est une approche de bioremédiation des pesticides. Elle consiste à mélanger le sol contaminé avec des amendements organiques non dangereux pour favoriser le développement d'une population de bactéries et/ou de champignons, capables de dégrader les pesticides par une voie co-métabolique. Cette approche est particulièrement indiquée lorsque la concentration de pesticides est faible. Dans les sols contaminés, le bio-charbon peut être utilisé comme amendement pour promouvoir les processus de dégradation (**Varjani et al., 2019**).

Dans tous les processus de bioremédiation, les nutriments, l'oxygène, le pH, la teneur en eau et la température doivent être contrôlés pour maximiser l'efficacité de l'élimination.

8. Applications sur le terrain

À l'heure actuelle, seules quelques études rapportent des informations sur des cas réels. Le **tableau 6** résume quelques exemples. Malheureusement, les conclusions et les résultats de l'assainissement à grande échelle sont rarement publiés ou largement diffusés, ce qui limite la connaissance des expériences réelles.

Tableau 6 : Quelques exemples d'études de cas.

Technique de bioremédiation	Pesticide	Description
Bioaugmentation (Salunkhe et al., 2015)	Myclobutanil, tétraconazole et flusilazole	L'analyse des résidus des échantillons prélevés sur le terrain a révélé une dégradation de 87,4% et 99 % du myclobutanil et du tétraconazole respectivement par la souche DR-39, et 90,8 % pour le flusilazole par la souche CS-126 après 15 à 20 jours de traitement.
		Le processus de biorémédiation a été étudié dans 12 parcelles expérimentales, comprenant des sols de serre et de plein champ. Chaque parcelle (surface de 6 m ²) a été inoculée avec

Bioaugmentation (Fang <i>et al.</i> , 2018)	DDT	<i>Stenotrophomonas</i> sp. DDT-1 complétée par 2% de poudre de levure. Les résultats ont montré que ce microorganisme est efficace pour la dégradation du DDT et n'a pas d'effet négatif sur l'activité microbienne du sol.
Biostimulation (USEPA, 2010)	DDT, Endosulfane II, γ -chlordane, α -chlordane, dieldrin	La propriété Mantegani est une zone de 0,8 acre traitée avec un amendement du sol pour aider les bactéries indigènes à métaboliser les pesticides. De fortes concentrations de DDT et de dieldrine étaient présentes. Après le traitement, le DDT a été dégradé de 97 % et la dieldrine de 73 %.

1. Historique et généralités sur les actinobactéries

Les actinobactéries également connus sous le nom des actinomycètes, dérivé de deux mots grecs *aktis* signifiant "rayon" et *mykes* signifiant "champignon" qui veut dire champignons à rayons (Segaran *et al.*, 2017). Cohn a d'abord signalé l'espèce actinobactérienne *Streptothrix foersteri* en 1875, qui présente des caractéristiques bactériennes et fongiques dans sa morphologie (Sousa et Olivares, 2016). Certains scientifiques ont considéré les actinobactéries comme des Eubacterales ou des bactéries supérieures, tandis que d'autres pensaient qu'ils appartenaient aux Hypomycètes ou champignons inférieurs (Mahajan et Balachandran, 2012). C'était en effet un défi de les classer. Waksman, (1943) a estimé que ces micro-organismes pouvaient être regroupés séparément.

Après de nombreuses spéculations et l'accumulation de nombreux volumes de données, actuellement, les actinobactéries sont classés dans le domaine des Bacteria ou *Eubacteria*, le Phylum des *Actinobacteria* (Ludwig *et al.*, 2012). Ce taxon héberge actuellement les bactéries aérobies à Gram positif, des anaérobies facultatifs ou des anaérobies, qui possèdent une paroi cellulaire rigide contenant de l'acide muramique. La plupart d'entre elles sont chimio-organotrophes et les membres libres de ce phylum étaient universellement reconnus comme des organismes à GC % élevé (69 à 73 % molaire). Cependant, ce paradigme a été brisé relativement récemment car les actinobactéries cosmopolites et abondantes en eau douce ont une faible teneur en GC % dans leurs génomes (Ghai *et al.*, 2012). L'embranchement comprend des organismes phénotypiquement diversifiés qui présentent une grande variété de morphologies, allant des cocci à des mycéliums hautement différenciés et à la production de spores qui pourrait être avantageux pour la dispersion sur de longues distances (Goodfellow *et al.*, 2012). Comme toutes les bactéries, les cellules des actinobactéries possèdent un chromosome organisé dans un nucléoïde procaryote. La croissance des actinobactéries est lente (7 à 28 jours). Ils ont également une période de génération de 2 à 3 heures (Polti *et al.*, 2014).

Les actinobactéries sont généralement mésophiles, et les températures entre 25°C et 30°C sont optimales pour leur croissance. En revanche, plusieurs actinobactéries thermophiles ou psychrophiles ont été décrites. Les actinobactéries thermophiles, comme les *Streptomyces thermophiles*, *Thermomonospora* et *Thermoactinomyces*, peuvent se développer à des températures comprises entre 50°C et 60°C (Edwards, 1993). Les psychrophiles se développent à des températures comprises entre 0°C et 20°C, avec une croissance optimale à

des températures inférieures à 10°C, que l'on peut trouver dans les déserts froids, la glace de mer, le pergélisol, ainsi que dans les sols minéraux secs, les glaciers et les lacs recouverts de glace de l'Antarctique. *Arthrobacteria*, *Glaciibacter*, *Brachybacterium*, *Cryobacterium*, *Kocuria*, *Frigoribacterium* et *Modestoacter* sont parmi les actinobactéries psychrophiles isolées (Helmke et Weyland, 1984). Les actinobactéries se développent mieux à un pH compris entre 6 et 9, avec une croissance maximale autour de la neutralité. Cependant, quelques souches de *Streptomyces* ont été isolées de sols acides (pH 3,5) (Kim *et al.*, 2003).

2. Morphologie et développement des actinobactéries

Les actinobactéries présentent une différenciation morphologique importante parmi les bactéries à Gram positif; bien que la structure cellulaire des actinobactéries diffère totalement de celle des champignons et présente des caractéristiques procaryotiques typiques. Les actinobactéries sont un phylum de bactéries unicellulaires ramifiées, dont la majorité produit un mycélium de substrat et aérien (Figure 7). Ils se reproduisent par fission binaire ou par sporulation comme les champignons filamenteux en produisant des spores ou des conidies (Li *et al.*, 2016b). Le cycle commence par la germination des spores et le développement en hyphes ramifiés appelés mycélium végétatif, qui se différencie en structures reproductives spécialisées appelées mycélium aérien (Figure 8) (Wink *et al.*, 2017).

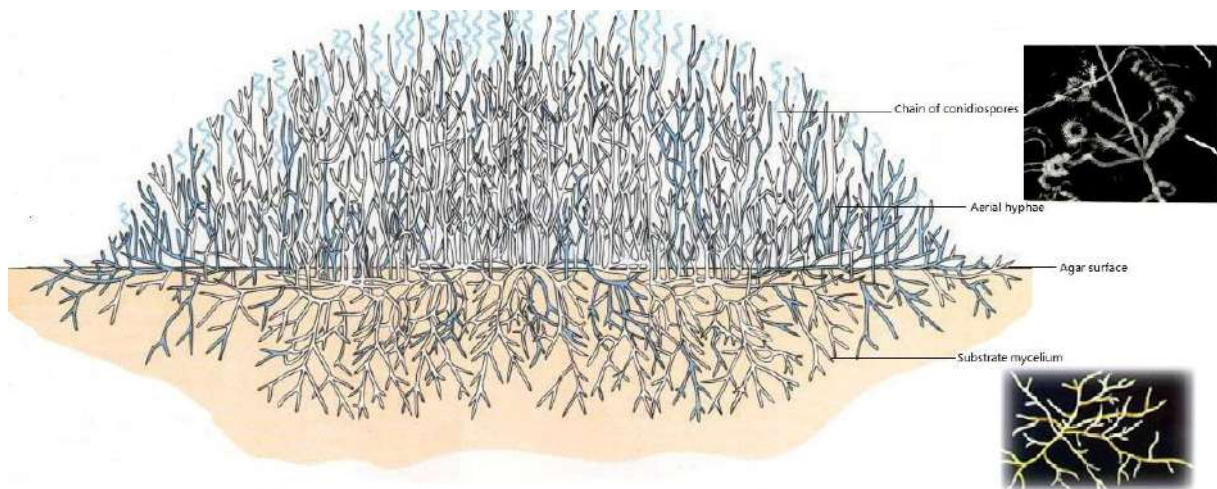


Figure 7 : Morphologie commune des actinobactéries sur gélose, montrant le mycélium de substrat et le mycélium aérien avec des chaînes de spores (Prescott *et al.*, 2003).

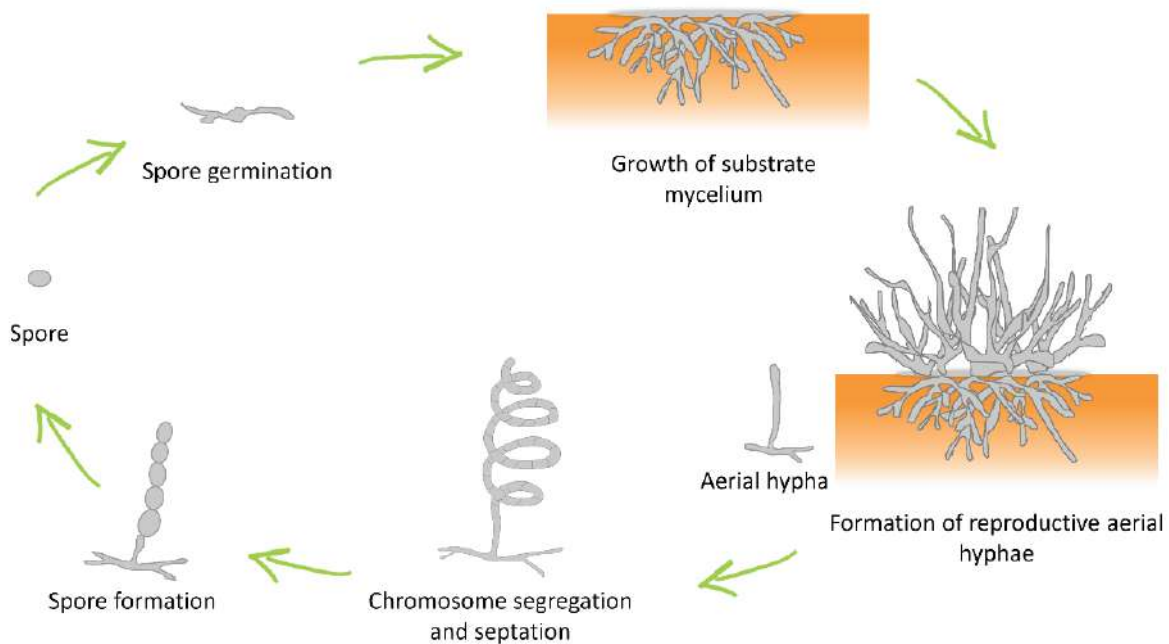


Figure 8 : Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries montrant la sporulation et la maturation des spores (Law *et al.*, 2019).

2.1. Le mycélium de substrat

Le mycélium de substrat, également connu sous le nom de mycélium végétatif ou mycélium primaire, se développe aussi bien dans les cultures solides que dans les cultures submergées. La fonction première du mycélium de substrat est de prélever les nutriments du milieu pour permettre aux actinobactéries de se développer (Li *et al.*, 2016b). Le mycélium de substrat développe des ramifications souvent monopode, mais dans certaines circonstances rares, comme chez *Thermoactinomyces*, il présente une ramification dichotomique (Kalakoutskiip et Agre, 1976). À l'exception, *Sporichthya* sp., ne produit pas d'hyphes de substrat (Tamura *et al.*, 1999).

2.2. Le mycélium aérien

Lorsque le mycélium de substrat atteint un certain stade de développement, un réseau d'hyphes aériens se forme, qui se répand dans l'air et donne aux colonies en expansion un aspect poilu ou poudreux. Les conditions nutritionnelles, les facteurs environnementaux et les caractéristiques des espèces influencent tous la production d'hyphes aériennes. Il peut être difficile de faire la différence entre les hyphes aériens et les mycéliums de substrat. Le mycélium aérien est généralement plus épais que le mycélium de substrat car il est enveloppé d'un fin revêtement dont le mycélium de substrat est dépourvu. Ils sont plus hydrophobes et

moins ramifiés que les mycéliums de substrat. La structure du mycélium aérien, qui peut être poudreuse, cotonneuse ou veloutée ; la formation de zones ou d'anneaux concentriques et la pigmentation sont suffisamment différenciées pour que divers isolats présentant des caractéristiques morphologiques similaires puissent être séparés en un certain nombre de groupes dans des conditions fixes (**Hazarika et Thakur, 2020**).

Les actinobactéries présentent une grande variété de morphologies, y compris des formes coccoïdes (*Micrococcus*) et bâtonnet-coccoïdes (*Arthrobacter*), ainsi que des formes hyphales fragmentées (*Nocardia* spp.) (**Figure 9**) et aussi des formes avec des mycéliums ramifiés permanents et très différenciés (*Streptomyces* spp., *Frankia*) (**Atlas, 1997**). De plus, les mycobactéries et les Rhodocoques ne forment généralement pas d'hyphes aériens (**Ochi, 1995**), tandis que les Corynébactéries ne produisent pas du tout de mycélium (**Flärdh, 2003; Letek et al., 2008**).

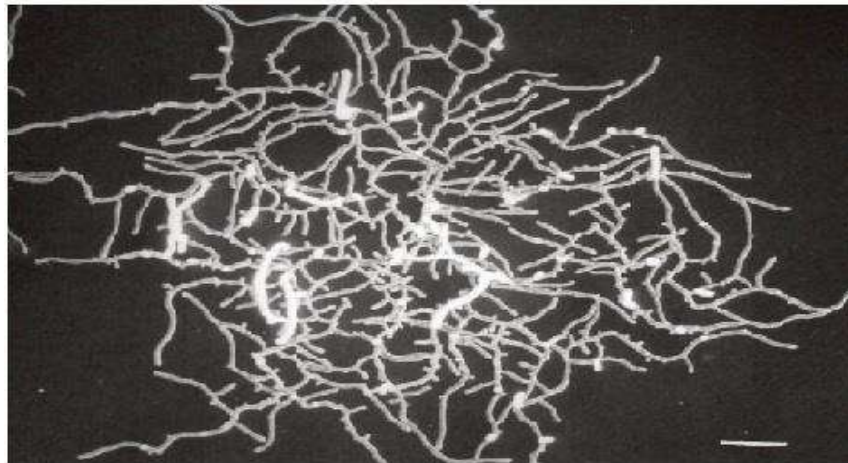


Figure 9: La fragmentation du mycélium de substrat des *Nocardiaasteroides* (**Atlas, 1997**).

2.3. Morphologie de la spore

En termes de processus de formation, d'ultrastructure et de physiologie, les spores sont des endospores classiques avec tous les attributs des endospores bactériennes. En dehors de la croissance mycélienne, le critère morphologique le plus essentiel pour l'identification d'une actinobactérie est la production de spores (**Chater et Chandra, 2006**).

Les spores peuvent être formées sur le mycélium de substrat et/ou le mycélium aérien sous forme de cellules uniques (monospores) tels que *Micromonospora*, *Saccharomonospora*, *Thermomonospora* et *Thermoactinomyces* ou sous forme de chaînes. Les chaînes de spores morphologiques peuvent être classées selon la longueur et le nombre de spores comme : di-

ou bispores (*Microbispora*), oligospores avec 7 à 20 spores quelques spores (*Nocardia brevicatena* et *Catellatospora*) (**Figure 10**) ou polyspores avec plus de 50 spores (**Figure 11**) (**Pridham et al., 1958**). Dans d'autres cas, les spores peuvent être hébergées dans des vésicules spéciales (sporangies) et dotées de flagelles.

Ainsi, dans les genres *Micromonospora*, *Micropolyspora* et *Thermoactinomyces*, la formation des spores se produit directement sur le mycélium du substrat, alors que chez *Streptomyces* les spores se développent à partir du mycélium aérien. Les groupes *Actinoplanes* et *Actinosynnema* sont caractérisés par des spores mobiles, tandis que *Thermoactinomyces* possède des endospores uniques résistantes à la chaleur (**Cross et Goodfellow, 1973**). Certains autres genres d'actinobactéries ont des sclérotés (*Chainia*), des synnemes (*Actinosynnema*), des vésicules qui contiennent des spores (*Frankia*), ou des vésicules qui sont dépourvues de spores (Intrasporangium). D'autres genres, tels que *Actinoplanes*, *Ampulariella*, *Planomonospora*, *Planobispora*, *Dactylosporangium* et *Streptosporangium* sont classés en fonction de leur morphologie sporangiale. Enfin, la morphologie des spores elles-mêmes peut également être utilisée pour caractériser les espèces (**Dietz et Mathews, 1971**).

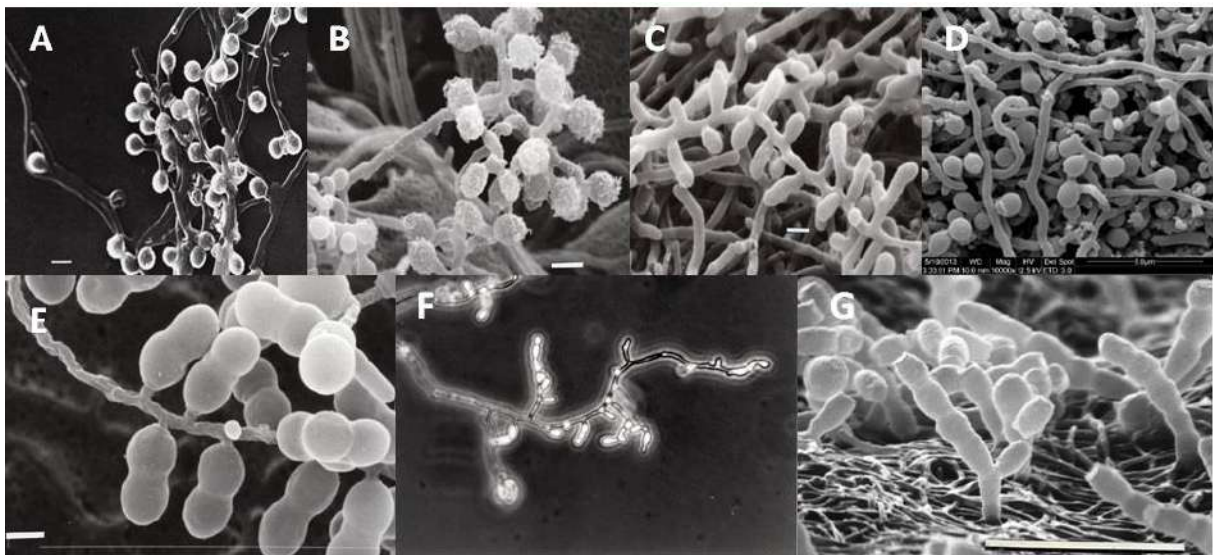


Figure 10 : Clichés de microscopie électronique illustrant la production de spores uniques et de spores en chaînes courtes. (A) *Micromonospora* sp. SF2259T. (B) *Thermobifida alba* JCM 3077T. (C) *Saccharomonospora viridis* IFO 12207T. (D) *Thermoactinomyces daqus* H-18. (E) *Microbispora rosea* JCM 3006T. (F) *Nocardia brevicatena* A444. (G) *Catellatospora* sp. MB-VE 1321 (**Atlas, 1997**).

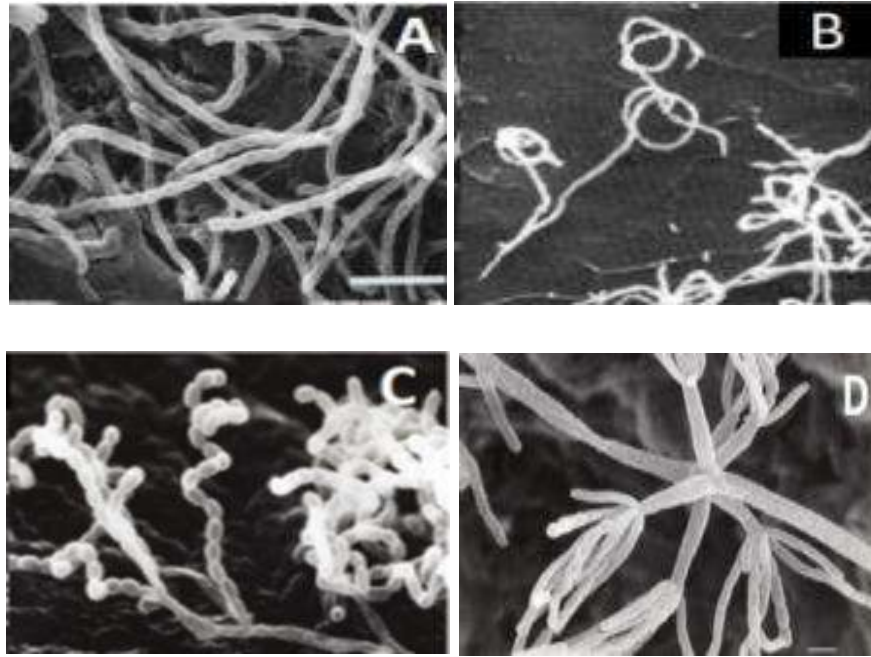


Figure 11: Clichés de microscopie électronique illustrant la production de spores dans une longue chaîne. (A) Chaînes de spores rectiflexibles de *Streptomyces actuosus* U 227. (B) Chaînes de spores bouclées de *Streptomyces vinaceus*. (C) Chaînes de spores spira de *Streptomyces* sp. SF 2587. (D) Chaînes de spores verticillati de *Streptomyces verticillus* AT 291 (Atlas, 1997).

2.4. La pigmentation

Divers pigments sont produits sur des milieux naturels ou synthétiques qui aident à la caractérisation des actinobactéries au niveau des espèces. Les actinobactéries produisent des molécules de mélanine, qui sont généralement de couleur noire ou marron foncé, et sont formés par la polymérisation oxydative de composés phénoliques et indoliques. En outre, les actinobactéries peuvent produire des pigments de couleur rouge, rose, jaune, orange, brunâtre, brun verdâtre, noir, violet ou bleu, selon le milieu utilisé, la souche et l'âge de la culture. Ces pigments peuvent être diffusés dans le milieu ou maintenus dans le mycélium (Lechevalier et Lechevalier, 1965).

3. Ecologie des actinobactéries

Historiquement, les actinobactéries étaient largement considérées comme des bactéries du sol, mais elles sont maintenant reconnues comme cosmopolites ; on les trouve dans pratiquement tous les écosystèmes, avec une répartition couvrant la majeure partie de la planète.

3.1. Environnement terrestre

Le sol reste l'habitat le plus important pour les actinobactéries, les Streptomycetes constituant composante majeure de sa population. Selon divers rapports, *Streptomyces* s'est révélé être le genre le plus abondant isolé dans chacune des études. Les actinobactéries terrestres possèdent un certain nombre de propriétés antibactériennes qui méritent d'être étudiées. Dans la rhizosphère anoxique, des espèces d'actinobactéries telles que *Streptomyces*, *Micromonospora*, et *Nocardioform* ont été trouvées dans la rhizosphère de la mangrove (**Tan et al., 2009**). Plusieurs découvertes révèlent la présence des actinobactéries dans divers environnements, y compris les sols sablonneux, les sols noirs alcalins, les sols sableux limoneux, les sols alcalins de dessert et les sols subtropicaux de dessert, où *Streptomyces* sp. était l'organisme dominant, suivi de *Nocardia* et *Nocardiopsis* (**Dhanasekaran et al., 2015**). De même, les actinobactéries jouent un rôle majeur dans la communauté microbienne de la rhizosphère dans le renouvellement de la matière organique végétale récalcitrante, et donc la région de la rhizosphère est considérée comme l'un des meilleurs habitats pour l'isolement de ces microorganismes. **Priyadharsini et Dhanasekaran, (2015)** ont isolé 45 colonies morphologiquement distinctes de 12 champs de riz différents et ont observé leur capacité à inhiber la croissance de *Cyperus rotundus*. Les isolats comprennent *Streptomyces* sp., *Streptoverticillium* sp., *Actinomadura* sp., *Kitasatosporia* sp., *Nocardiopsis* sp., *Pseudonocardia* sp., et *Kibdelosporangium* sp.

3.2. Environnement aquatique

Les actinobactéries sont abondantes dans les zones aquatiques et peuvent occasionnellement être entraînées par les habitats terrestres voisins.

3.2.1. Eau douce

Dans son enquête, **Cross, (1981)** a démontré que les actinobactéries peuvent être facilement isolées des environnements d'eau douce. *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Rhodococcus*, *Streptomyces* et *Thermoactinomyces*, qui forme des endospores, sont quelques-unes des actinobactéries les plus courantes que l'on trouve en eau douce.

Les Actinoplanes sont largement répandus dans les sols, les rivières et les lacs, et leurs vésicules de spores peuvent tolérer une dessiccation prolongée, mais lorsqu'elles sont réhydratées, elles libèrent leurs spores mobiles pour la dispersion (**Makkar et Cross, 1982**). *Micromonospora* est une actinobactérie d'eau douce commune dont on a découvert qu'elle est

originaires de milieux où elle transforme la cellulose, la chitine et la lignine. Selon de nombreux rapports, *Micromonospora* a été trouvée dans des ruisseaux, des rivières et des sédiments fluviaux et est considérée comme un élément important de la microflore aquatique. **Johnston et Cross, (1976)** ont constaté que les Streptomycètes ne se développaient pas dans plusieurs lacs, notamment dans les couches de boue plus profondes où les Micromonospires étaient prédominantes. Bien que les spores de Streptomycètes soient constamment transportées dans les écosystèmes d'eau douce et marins, rien ne prouve qu'elles soient actives dans ces environnements. *Actinomadura madurae*, *Mycobacterium kansasii*, et les genres *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, et *Nocardia* sont parmi les résidents d'eau douce. La concentration de spores et d'hyphes hydrophobes à l'interface eau/air peut augmenter le nombre de Streptomycètes, de Micromonospires et de Rhodocoques dans la mousse sur d'eau de rivière. Les études montrent clairement que les actinobactéries peuvent devenir actives dans l'écosystème d'eau douce en présence de substrats et des conditions de croissance appropriés plutôt que de s'adapter spécifiquement à un tel environnement (**Cross, 1981**).

3.2.2. Eau marine

Si l'on compare la diversité des actinobactéries dans l'environnement terrestre, la plus grande biodiversité se trouve dans les océans. L'environnement marin est une source inexploitée de diversité de nouvelles actinobactéries et donc de nouveaux métabolites. Les actinobactéries marines doivent s'adapter à des conditions anaérobies et de pression extrêmement élevées dans les fonds marins profonds, à des températures légèrement inférieures à [0-8°C], et à des conditions de forte acidité autour des cheminées hydrothermales des dorsales océaniques, à des températures supérieures à [8-100°C]. L'existence des actinobactéries marines est confirmée par *Rhodococcus marinonascens*, la première espèce d'actinobactérie marin à être identifiée. Les actinobactéries marines indigènes comprennent des membres des genres *Dietzia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Salinispora*, *Marinophilus*, *Solwaraspora*, *Salinibacterium*, *Aeromicrobium marinum*, *Williamsia maris* et *Verrucosispora* (**Bull et al., 2005**). **Grossart et al., (2004)** ont trouvé que les actinobactéries représentent environ 10% des bactéries qui colonisent les agrégats organiques marins, et que leur activité antagoniste est probablement importante pour maintenir leur présence, ce qui influence la dégradation et la minéralisation de la matière organique.

4. Taxonomie des actinobactéries

Les actinobactéries sont actuellement caractérisées en utilisant l'approche polyphasique qui réunit diverses données phénotypiques, chimiotaxonomiques et génotypiques qui constituent la description formelle d'un nouveau taxon.

Les cinq volumes du "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology " contiennent les noms et les descriptions d'espèces d'actinobactéries internationalement reconnues.

4.1. Classification morphologique

La morphologie microscopique est le principal critère utilisé pour identifier les actinobactéries aux niveaux du genre. Les actinobactéries présentent un large éventail de morphologies qui se différencient principalement par la présence ou l'absence de mycélium de substrat ou aérien, la couleur du mycélium, la structure et l'apparence de leurs spores, et la production de pigments diffusibles sont autant de facteurs à prendre en compte (**Barka *et al.*, 2016**).

4.2. Classification chimiotaxonomique

La chimiotaxonomie est l'utilisation de la distribution des composants chimiques pour regrouper les organismes en fonction des similitudes de leurs chimies cellulaires (**Schulze, 1986**). Les composants chimiques les plus couramment utilisés dans cette systématique sont les acides aminés de la paroi cellulaire, les lipides, les protéines, les ménaquinones, les types d'acide muramique, les sucres et la composition des bases de l'ADN (**Bull *et al.*, 2000**). La classification et l'identification chimiotaxonomiques peuvent également être réalisées sur la base d'informations dérivées des techniques d'empreintes chimiques d'organismes entiers (**Whitman *et al.*, 2015**).

4.3. Classification moléculaire

Les actinobactéries constituent l'un des groupes taxonomiques les plus diversifiés parmi les 18 grandes lignées de bactéries actuellement identifiées. Elle se compose de 5 sous-classes, 6 ordres, 14 sous-ordres (**Whitman *et al.*, 2015**). La morphologie, la physiologie et la capacité métabolique des genres de ce phylum sont extrêmement diverses. Avec l'accumulation de connaissances, la taxonomie des actinobactéries a évolué de façon spectaculaire.

Plus récemment, les données de taxonomie moléculaire, dont une grande partie a été recueillie grâce à la croissance rapide du séquençage du génome, ont remis en question la

classification morphologique et chimique des actinobactéries. Notamment, les recherches moléculaires ont récemment conduit à la reclassification de certaines créatures qui étaient auparavant incorrectement classées dans des familles taxonomiques spécifiques. Le séquençage du génome de *Kitasatospora* (Omura *et al.*, 1982) en tant que genre distinct au sein des *Streptomycetaceae* a résolu un débat de longue date sur la relation de ce groupe avec le genre *Streptomyces* (Whitman *et al.*, 2015) et a démontré de manière concluante qu'il s'agit, en fait, d'un genre distinct (Girard *et al.*, 2014). Actuellement, une nouvelle espèce ne peut pas être déclarée sans une étude génétique basée sur le séquençage du gène de l'ARNr 16S et l'hybridation ADN-ADN, et le séquençage du génome devient courant. Toutefois, les séquences d'ARNr 16S ne permettent pas d'établir une bonne distinction entre des espèces ou même des genres étroitement apparentés, ce qui peut créer une ambiguïté. Des marqueurs génétiques supplémentaires ont donc été utilisés pour distinguer les genres étroitement apparentés, notamment *rpoB* et, plus récemment, *ssgB* (Girard *et al.*, 2013).

En outre, l'augmentation récente et massive de la disponibilité des informations sur les séquences génomiques a permis de mieux comprendre l'évolution du génome et d'identifier les gènes propres aux organismes au niveau du genre et de la famille (Kirby, 2011).

Une nouvelle taxonomie pour l'embranchement des actinobactéries basée sur les ARNr 16S a été publiée récemment (Whitman *et al.*, 2015). Les rangs taxonomiques des sous-classes et sous-ordres ont été abolis avec cette mise à jour, et les anciennes sous-classes et sous-ordres ont été élevés aux niveaux de classes et d'ordres, respectivement (Gao et Gupta, 2012). *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubroacteria*, et *Thermoleophilia* sont les six classes qui composent l'embranchement. La classe *Actinobacteria* contient 16 ordres, y compris les *Actinomycetales* et les *Bifidobacteriales* proposés précédemment (Zhi *et al.*, 2009). L'ordre des *Actinomycetales* est maintenant restreint aux membres de la famille des *Actinomycetaceae*, et les autres sous-ordres qui faisaient partie de cet ordre sont maintenant désignés comme des ordres distincts (Gao et Gupta, 2012). En outre, le séquençage des gènes de l'ARNr 16S a conduit à la reconnaissance de 39 familles et 130 genres (Figure 12).

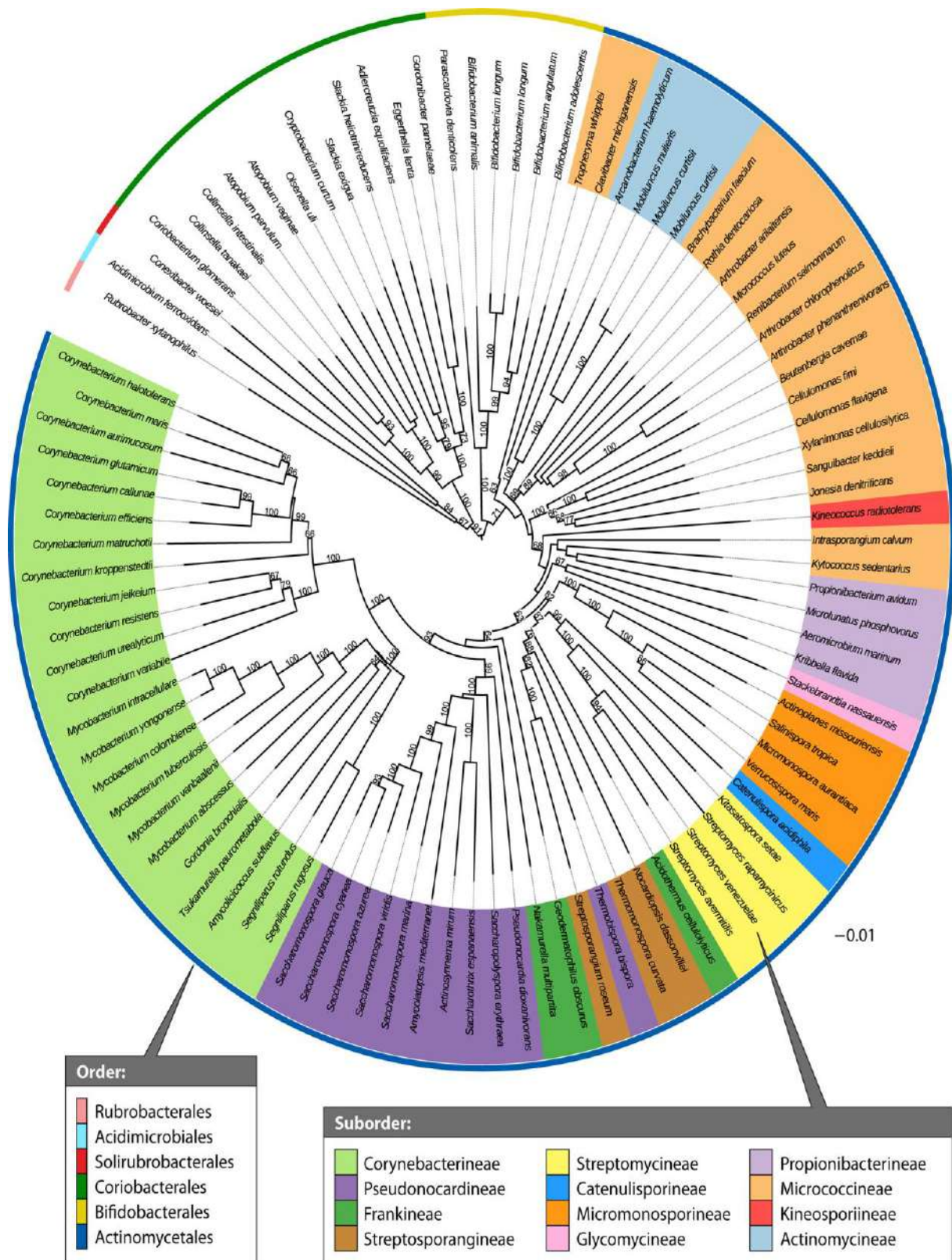


Figure 12: Arbre phylogénétique basé sur 97 séquences génomiques de l'embranchement des actinobactéries (Barka *et al.*, 2016).

5. Actinobactéries utilisés dans la biodégradation des pesticides

Les actinobactéries ont reçu de l'attention en tant que candidats pour la bioremédiation de différents milieux environnementaux pollués avec composés inorganiques et organiques récalcitrants. À cet égard, **Schrijver et Mot, (1999)** ont fourni une revue complète sur la dégradation des pesticides par les actinobactéries. Cependant, plusieurs avancées dans l'utilisation des actinobactéries dans la décontamination des pesticides ont eu lieu au cours des 15 années suivantes, et diverses techniques ont été incorporées pour l'amélioration des capacités des actinobactéries dans les stratégies de bioremédiation. En analysant la bibliographie publiée au cours des deux dernières décennies, on peut noter que les genres *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Frankia*, *Janibacter*, *Kokuria*, *Mycobacterium*, *Nocardia* et *Pseudonocardia*, sont les plus représentatifs des actinobactéries dégradant les pesticides. Ces microorganismes présentent un large éventail d'activités et ont la capacité de dégrader plusieurs familles chimiques de pesticides, y compris les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthroïdes, urées et chloroacétanilides. Le **tableau 7** présente les principaux genres d'actinobactéries dégradant les pesticides, les sites d'isolement, les conditions de culture, des exemples de dégradation de pesticides et les principales observations (**Alvarez et al., 2017**).

Le genre *Arthrobacter* a été reconnu comme dégradeur de différents xénobiotiques, puisque les membres de ce groupe possèdent différentes voies cataboliques pour la détoxification de ces composés, la plupart d'entre elles étant codées par des plasmides. Les microorganismes de ce genre sont omniprésents en raison de leur versatilité nutritionnelle et de leur tolérance au stress environnemental. Ainsi, **Sagarkar et al., (2016)** ont rapporté l'isolement et la caractérisation d'*Arthrobacter* sp. AK-YN10 ayant la capacité de dégrader l'atrazine en 24 h, en la transformant en acide cyanurique. En outre, AK-YN10 a montré qu'elle pouvait dégrader plusieurs autres s-triazines, notamment la simazine, l'amétron, le prométron, l'amétryn, le prométryn et la terbuthylazine. Par ailleurs, **De Paolis et al., (2013)** ont signalé deux espèces d'*Arthrobacter* (*A. fluorescens* et *A. giacomelloi*) qui étaient capables de métaboliser les isomères de HCH, *A. giacomelloi* était la plus efficace, puisqu'elle a atteint 88% de dégradation de α -HCH, 60% de β , et 56% de γ -HCH après 72 h d'incubation. Un autre pesticide organochloré qui pourrait être dégradé par une souche *Arthrobacter* est l'endosulfan. **Kumar et al., (2008)** ont isolé une souche *Arthrobacter* qui a montré une

biodégradation de 73 % de l' α -endosulfan et de 75 % du β -endosulfan, après six semaines d'incubation.

Parmi les actinobactéries, les Rhodocoques ont des applications industrielles et/ou écologiques utiles en raison la variété de leurs activités métaboliques. Les membres du genre *Rhodococcus* sont omniprésents dans les sols fertiles et peuvent être présents dans les environnements pollués où ils jouent un rôle important dans la dégradation de différents polluants. Aussi, *Rhodococci* sont des candidats prometteurs pour la biorémédiation parce que ces bactéries peuvent résister aux conditions de famine dans le sol alors que la présence de sources de carbone plus facilement assimilables n'affectent pas la dégradation des polluants. La nature hydrophobe des cellules de *Rhodococcus* est due à la présence de chaînes aliphatiques d'acides mycoliques dans la paroi cellulaire qui peuvent être utiles dans la dégradation des pesticides moins solubles (Alvarez *et al.*, 2017). Kolekar *et al.*, (2014) ont étudié la biodégradation de l'atrazine par *Rhodococcus* sp. BCH2, démontrant que cette souche était capable d'utiliser le pesticide comme source de carbone et d'azote. Des tests de toxicité utilisant *Eisenia foetida* avec une culture de sept jours de l'essai de biodégradation ont montré une réponse moins toxique par rapport à ceux traités avec atrazine sans micro-organisme, ce qui suggère que *Rhodococcus* sp. BCH2 pourrait être efficace pour dégrader l'atrazine également *in vivo*.

Outre les genres *Arthobacter* et *Rhodococcus*, le genre *Streptomyces* a fait l'objet d'une attention considérable en tant qu'approche biotechnologique efficace pour l'assainissement de l'environnement pollué. En plus de leur diversité métabolique, les souches de *Streptomyces* peuvent être bien adaptées à l'inoculation du sol en raison de leur mode de croissance mycélien, leur taux de croissance relativement rapide, colonisation de substrats semi-sélectifs, et leur capacité à être manipulés génétiquement (Shelton *et al.*, 1996). Différentes souches de *Streptomyces* ont la capacité de dégrader plusieurs classes de pesticides, y compris les organochlorés, organophosphoré, carbamates, pyréthroïdes et atrazine, etc. Par exemple, dans une étude réalisée par Chen *et al.*, (2011), une souche identifiée comme étant *Streptomyces aureus* HP-S-01 a été capable de dégrader la deltaméthrine et son principal produit d'hydrolyse ; le 3-phénoxybenzaldéhyde, a été oxydé pour former du 2-hydroxy-4- méthoxy benzophénone, ce qui entraîne sa détoxification. La souche HPS-01 s'est également avérée très efficace dans la dégradation d'autres pyréthroïdes comme la cyfluthrine, la bifenthrine, la cyperméthrine, entre autres. La biodégradation des pesticides organochlorés par *Streptomyces*

a également été étudiée. Dans ce contexte, **Benimeli et al., (2003)** ont isolé 93 souches appartenant à l'embranchement des Actinobactéries. Ces bactéries ont été testées contre 11 pesticides organochlorés tels que l'aldrine, la dieldrine, le DDT, heptachlore et ses époxydes. Quatre de ces souches, identifiées comme étant des *Streptomyces* sp. ont une tolérance aux multi-pesticides. Parmi celles-ci, *Streptomyces* sp. M7 avait la capacité d'utiliser le γ -HCH comme seule source de carbone dans un milieu minimum.

Les microorganismes halophiles et halotolérants jouent un rôle important dans la transformation et la dégradation des polluants organiques dans les environnements salins et arides. Par exemple, plusieurs espèces du genre *Janibacter* ont été signalées pour leur capacité à dégrader un large spectre de composés aromatiques et/ou chlorés, y compris les biphényles polychlorés, le dibenzofurane, la dibenzo-p-dioxine, le carbazole, l'éther diphénylique et le fluor (**Alvarez et al., 2017**). **Khessairi et al., (2014)** ont isolé l'actinobactérie *Janibacter* sp. AS23 dégradant le pentachlorophénol. La souche était halotolérante et capable de dégrader jusqu'à 300 mg/L de pentachlorophénol, tandis que l'ajout de tween 80 a augmenté la capacité d'élimination du pentachlorophénol faiblement soluble.

Les microorganismes du genre *Frankia* sont bien connus pour leur association symbiotique avec plus de 220 espèces de plantes ligneuses et leur capacité à fixer le N₂ atmosphérique à l'état libre (**Rehan et al., 2016**). Cependant, Malgré l'importance de ces bactéries dans le sol, l'étude de leur capacité à biodégrader les pesticides n'a pas beaucoup progressé. **Rehan et al., (2016)** ont démontré que les souches *Frankia alni* ACN14a et *Frankia* sp. EuI1c ont à la fois la capacité de dégrader l'atrazine par déchloration et désalkylation. L'analyse du génome de *Frankia* a révélé pour la première fois l'implication de l'enzyme adénosine aminohydrolase 3 dans la désalkylation et la désamination des composés s-triazine.

Les espèces du genre *Gordonia* sont également connues comme des dégradateurs de polluants récalcitrants. Ces bactéries peuvent se développer dans des environnements défavorables, ce qui les rend capables de vivre dans un large éventail de niches écologiques. **Abraham et al., (2013)** ont isolé la souche conçue comme *Gordonia* sp. JAAS1, qui était capable de dégrader l'insecticide chlorpyrifos dans les 24 heures d'incubation, avec l'accumulation de son principal métabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol dans le milieu de culture. Ce sous-produit est plus mobile que le chlorpyrifos en raison de sa plus grande solubilité dans l'eau, ce qui entraîne une contamination généralisée.

Ce ne sont que quelques exemples qui démontrent la grande capacité des actinobactéries à éliminer à la fois les pesticides, et ainsi son utilité pour la bioremédiation de ces polluants. Malgré les grandes avancées réalisées au cours des deux dernières décennies, la plupart des travaux mentionnés sont limités à l'échelle du laboratoire. Des études plus approfondies doivent être faites à l'échelle du terrain, en se basant sur les excellents résultats obtenus en laboratoire.

Tableau 7 : Caractéristiques générales des principaux genres d'actinobactéries dégradant les pesticides (Alvarez *et al.*, 2017).

Microorganisme	Pesticide	Échantillon d'isolement	Condition de culture
<i>Arthrobacter</i> sp. strain AK-YN10 (Sagarkar <i>et al.</i> , 2016)	S-triazine (atrazine)	Champ agricole traité à plusieurs reprises avec atrazine dans la culture de la canne à sucre, Inde.	Microcosmes de sol, atrazine (100 mg/kg), 30°C, 40% d'humidité.
<i>Arthrobacter fluorescens</i> et <i>Arthrobacter giacomelloi</i> (De Paolis <i>et al.</i> , 2013)	α , β , γ -HCH (organochlorine)	Sol	Milieu minéral, isomères de HCH (100 mg/L), 28°C.
<i>Arthrobacter</i> sp. (Kumar <i>et al.</i> , 2008)	α , β -Endosulfan (organochlorine)	Sol de différents champs agricoles contaminés par des pesticides, Inde.	Microcosmes de sol (sol de loam sableux), endosulfan (50 mg/kg), 37°C, 30% d'humidité.
<i>Arthrobacter</i> sp. BS1, BS2 et SED1 (Devers-Lamrani <i>et al.</i> , 2014)	Diuron (urée)	Sol à l'interface entre un vignoble et la rivière Morcille, France.	Milieu de sel minéral, diuron (25 mg/L), 28°C.
<i>Rhodococcus</i> sp. BCH2 (Kolekar <i>et al.</i> , 2013)	S-triazine (atrazine)	Sol d'une exploitation viticole traitée à long terme à l'atrazine, Inde.	Milieu synthétique à l'atrazine, atrazine (100 mg/L), pH 7, 30° C, obscurité.
<i>Rhodococcus</i> sp. MB-P1 (Fazlurrahman <i>et al.</i> , 2009)	S-triazine (atrazine)	Sol contaminé par l'atrazine, Inde.	Milieu minéral, atrazine (200-1000 mg/L), 30°C.

<i>Rhodococcus</i> MTCC 6716 (Verma et al., 2006, 2011)	Endosulfan (organochlorine)	Microflore intestinale d'un ver de terre (<i>Metaphire posthuma</i>), Inde	Milieu minéral, diuron (80 µg/mL), 28°C
<i>Streptomyces aureus</i> HP-S-01 (Chen et al., 2011)	Deltaméthrine (Pyréthroïde)	Échantillons de boues activées provenant d'une eau résiduaire aérobie de fabrication de pyréthroïdes à Zhongshan, en Chine.	Milieu minéral, deltaméthrine (50 mg/L), 18-38°C, pH 5-10, et inocula biomasse 0,1-1 g/L du poids sec.
<i>Streptomyces</i> sp. M7 (Benimeli et al., 2006, 2008)	Lindane (organochlorine)	Sédiments d'eaux usées provenant d'une usine de filtration du cuivre, Argentine.	Milieu minimum, lindane (100 mg/L), 30°C. Microcosmes de sol, lindane (100, 150, 200, et 300 µg/kg), 28°C, 20% d'humidité.
<i>Streptomyces</i> sp. A2, A5 et A11 (Fuentes et al., 2011)	Lindane (organochlorine)	Sol contaminé par des pesticides, Argentine.	Milieu minimum, lindane (1,66 mg/L), 30°C.
<i>Streptomyces</i> sp. AC1-6 et ISP4 (Briceño et al., 2015)	diazinon (organophosphoré)	Sol exposé à des applications continues de chlorpyrifos, Chili.	Milieu minimum, diazinon (25 et 50 mg/L), 28°C.
<i>Janibacter</i> sp. AS23 (Khessairi et al., 2014)	Pentachlorophénol	Sédiments d'écosystèmes arides et salins, Tunisie.	Milieu minéral, pentachlorophénol (50, 100, 200 et 300 mg/L).
<i>Frankia alni</i> ACN14a et <i>Frankia</i> sp.Eu11c (Rehan et al., 2016)	S-triazine (atrazine)	Non rapporté	Tampon avec atrazine (216, 647 et 1078 mg/L), 33°C avec et sans sources de carbone et d'azote.
<i>Gordonia</i> sp JAAS1 (Abraham et al., 2013)	Chlorpyrifos (organophosphoré)	Sol d'une rizière exposée à des applications continues de chlorpyrifos, Inde.	Milieu minéral, chlorpyrifos (110 mg/L) 28°C.

MATÉRIEL ET
MÉTHODES

1. Présentation de la zone d'étude

1.1. Description des STEPs

1.1.1. STEP Ibn Ziad

La station d'épuration d'Ibn Ziad est située à 12 km de Constantine, dans la commune de Hamma Bouziane, sur la route de Mila. Elle a une superficie de 12 hectares.

En 1978, les Yougoslaves ont conçu la station d'épuration des eaux usées d'Ibn Ziad pour traiter un débit nominal de 800 L/s soit 69 120 m³/j avec un débit de pointe de 2400 L/s. C'est une station de traitement à boue activée prévue pour de 450. 000 personnes. Elle a été testée pour la première fois le 15 mai 1997, puis mise en service le 15 septembre 1997 ; elle traite les effluents industriels et domestiques de la ville de Constantine.

1.1.2. STEP Oued El Athmania

La station d'épuration des eaux usées de Oued El-Athmania est située à la sortie de la commune de Oued El-Athmania, daira de Chalgoum Laid. Elle s'étend sur une superficie de 6 hectares. Elle a été mise en service en décembre 1995.

Au début elle est conçue pour traiter un débit moyen de 104 L/s (environ 45000 EqH). Depuis 2017, le taux d'utilisation des capacités installés est de 39,62% avec un débit de 156 L/s pour une capacité nominal de 67 500 EqH. La STEP de Oued El Athmania traite les eaux usées de nature domestique et industrielle par le processus des boues activée à faible charge. Le traitement des eaux usées par la STEP de Oued El Athmania a pour objectif de protéger oued Rhumel et barrage Grouze (Oued El-Athmania).

1.1.3. STEP Sidi Merouane

La commune de Sidi Merouane de la Wilaya de Mila se dispose d'une station d'épuration des eaux usées qui joue un rôle très important dans la protection du barrage de Beni Haroune.

La STEP de Sidi Merouane est mise en service le 20 juillet 2009 et couvre une superficie de 13 hectares. Elle a une capacité maximale de 20 650 m³/j. Elle est désormais pour traiter les eaux usées urbaine par boue activée.

1.2. Étapes d'épuration des eaux usées dans les trois STEPs

Les eaux usées brutes sont acheminées aux STEPs par une conduite à écoulement gravitaire. La filière d'épuration des eaux usées utilisé dans la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane est illustrée dans la **figure 13**.

1.2.1. Le prétraitement

- **Le dégrillage**

Le dégrillage est une opération fondamentale dans le prétraitement des eaux usées. En effet, cette action de séparation physique a pour but principal d'éliminer les matières volumineuses charriées par l'eau brute. Des grilles mécaniques constituées des barreaux de 12 mm et 10 mm de diamètre espacés de 20 mm servent à un criblage grossier des eaux usées dans la STEP d'Ibn Ziad et de Oued El Athmania, respectivement. Cependant, des cribles automatiques moyens d'une largeur de 1,2 m avec un espace de 40 mm et autres fins de 0,8 m espacés de 15 mm sont utilisés dans la STEP de Sidi Merouane.

- **Le dégraissage et le dessablage**

Les opérations de dégraissage consistent à séparer des produits de densité légèrement inférieure à l'eau, par effet de flottation. Le dessablage a pour but d'extraire des eaux brutes les graviers et le sable. Ces opérations sont réalisées dans deux bassins à bas niveau, plats ; munis d'un moteur à air assurant la déposition au fond des sables et le raclage des graisses à la surface.

1.2.2. Le traitement secondaire

- **Bassin d'aération**

Les bassins biologiques sont de forme rectangulaire en béton armé. Deux bassins fonctionnent en parallèle sont installés dans la STEP de Oued El Athmania et de Sidi Merouane, et quatre au niveau de la STEP d'Ibn Ziad. Chaque bassin biologique est constitué d'une zone anoxie et une zone aérobie. Un mélangeur est installé dans la zone d'anoxie pour maintenir en suspension le mélange boues activées et eaux usées (liqueur mixte). La zone aérobie est équipée d'aérateurs mécaniques superficiels verticales ont pour rôle d'apporter l'oxygène nécessaire aux bactéries épuratrices.

- **Bassin de clarification**

La liqueur mixte issue du traitement biologique est envoyée gravitairement vers les clarificateurs où l'eau épurée est séparée des boues qui décantent au fond du clarificateur.

- **Filière de boues**

La boue enlevée des décanteurs est renvoyé aux bassins d'aération grâce à la pompe à vice. Les boues excédentaires s'écoulent vers les bassins d'épaississement des boues. Les boues épaissies se déposent au fond du bassin, où elles sont raclées vers le bord. Une déshydratation naturelle des boues à l'air libre sur les lits de séchage est effectuée.

1.2.3. Traitement tertiaire

Le traitement tertiaire est décrit comme un traitement avancé. Il est généralement effectuée par désinfection. La STEP d'Ibn Ziad possède un post de chloration mais non équipé, tandis que les deux autres STEPs de la Wilaya de Mila utilisent la chloration.

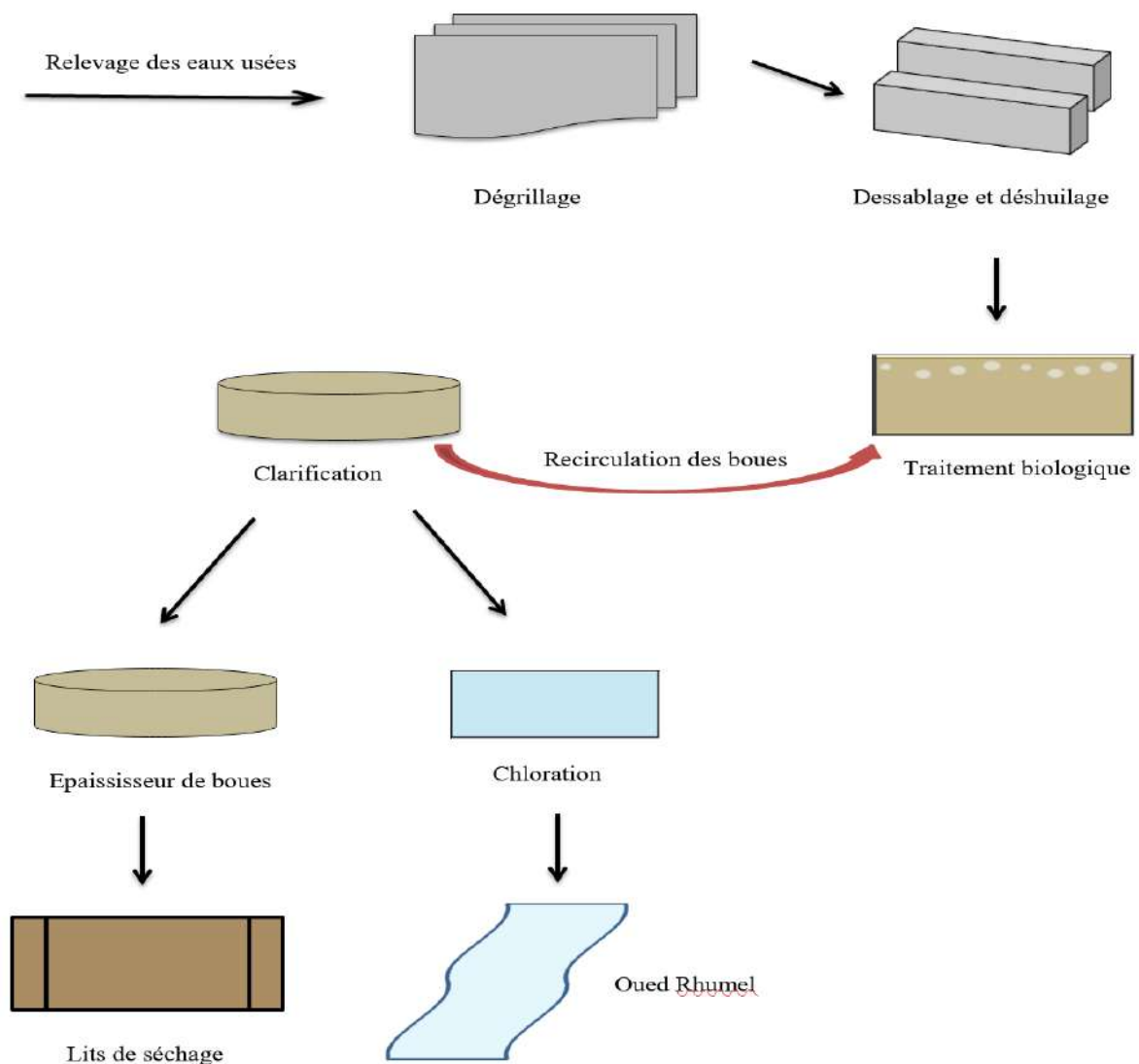


Figure 13 : Représentation schématique des étapes de traitement des eaux usées dans les trois STEPs étudiées.

2. Prélèvements et mesure des paramètres physico-chimiques

2.1. Prélèvements

Le prélèvement des échantillons dans les trois STEPs s'est fait manuellement à des périodes différentes : mai, juin, octobre, décembre et janvier (**Tableau 8**). Les échantillons d'eaux usées ont été prélevés à trois endroits précis ; à l'entrée, à la sortie et au niveau de bassin d'aération.

Pour les analyses physico-chimiques, les échantillons d'eaux usées ont été collectés dans des bouteilles de 1 L en plastique très propres, rincées au moment de l'emploi avec l'eau d'essai. En ce qui concerne les analyses microbiologiques, des bouteilles en verre borosilicate de 250 mL stérile ont été utilisées. Ces bouteilles sont bouchées directement afin d'éviter tout risque de contamination. Les échantillons, soigneusement étiquetés, sont transportés au laboratoire dans une enceinte réfrigérée (à 4°C) dans un délai n'excédant pas 24 h.

Tableau 8 : Périodes de prélèvements des échantillons d'eaux usées au niveau des trois STEPs.

STEP	Date des prélèvements
Ibn Ziad	22/05/2018
	19/06/2018
	30/10/2018
Oued El Athmania	17/12/2018
Sidi Merouane	02/01/2019

2.2. Paramètres physico-chimiques et méthodes d'analyse

Les échantillons d'eaux usées collectés ont été analysés pour différents paramètres i.e. pH, la température, la conductivité, la salinité, l'oxygène dissous, la turbidité, MES, DCO et DBO5 (**Tableau 9**). Ces paramètres ont été analysés selon les techniques décrites de **Rodier et al., (2009)** au niveau des trois STEPs étudiées.

2.2.1. Le pH, la température, la conductivité, la salinité et l'oxygène dissous

Ces paramètres physico-chimiques ont été mesurés *insitu*, en utilisant un appareil multi-paramètres où l'électrode est insérée directement dans chaque échantillon. Les valeurs sont lues sur l'écran de l'appareil.

2.2.2. La turbidité

La turbidité a été déterminée à l'aide d'un turbidimètre de type 2100N (HACH).

2.2.3. Les Matières en suspension (MES)

Pour le dosage des MES, deux méthodes ont été utilisés :

- **La filtration**

- Laver un disque filtrant par l'eau distillée et le placer sur l'équipement de filtration.
- Le sécher à 105°C jusqu'à avoir une masse constante.
- Laisser refroidir en dessiccateur et peser.
- Le placer dans l'équipement de filtration et mettre en marche le dispositif d'aspiration.
- Verser progressivement l'échantillon sur le filtre (le volume filtré =100 mL).
- Incuber le filtre à 105°C puis laisser refroidir et peser.

- **La centrifugation**

- Utiliser une centrifugeuse équipée de godets de 100 mL.
- Remplir chaque godet.
- Centrifuger à 4000-5000 rpm pendant 10 min.
- Récupérer le culot et sécher à l'étuve à 105°C pendant 2 h.

Suivant les deux méthodes, le taux des MES exprimé en mg/L est donnée par l'expression :

$$\text{MES} = (M_1 - M_0)1000/V$$

Où :

V : Le volume en mL de l'échantillon utilisé.

M₀ : La masse en mg du disque filtrant/de la coupelle avant utilisation.

M₁ : La masse en mg du disque filtrant/de la coupelle après utilisation.

2.2.4. La DCO

La Demande Chimique en Oxygène (DCO) représente la quantité d'oxygène consommée par un oxydant puissant pour oxyder la matière organique et inorganique par voie chimique en milieu acide et à chaud.

- Ajouter 2 ml de l'échantillon au tube pré dosé :(0-1500 mg/L pour l'entrée, et de 0-150 mg/L pour la sortie).

- Placer le tube dans le réacteur DCO HACH et chauffer pendant 2 heures à 150°C.
- Placer le tube dans un spectrophotomètre DR 2010 HACH en réglant l'appareil à la longueur d'onde 6200 nm pour l'entrée, et 4200 nm pour la sortie.
- Lire le résultat.

2.2.5. La DBO5

La Demande Biochimique en Oxygène (DBO5) consiste à mesurer la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes pour dégrader la matière organique d'un échantillon d'eau incubée dans une étuve thermostatée à 20°C, à l'obscurité pendant 5 jours, à l'aide d'un système de mesure OxiTop.

Tableau 9 : Méthodes d'analyse des différents paramètres physico-chimiques au niveau de chaque STEP.

Paramètre	Unité	Méthode d'analyse	STEP
Température	°C	Appareil multi-paramètre portatif	Ibn Ziad, Oued El Athmania, Sidi Merouane
pH	/	Appareil multi-paramètre portatif	Ibn Ziad, Oued El Athmania, Sidi Merouane
Conductivité	µs/cm	Appareil multi-paramètre portatif	Ibn Ziad
Salinité	%	Appareil multi-paramètre portatif	Ibn Ziad
O ₂ dissous	mg/L	Appareil multi-paramètre portatif	Ibn Ziad
Turbidité	FTU	Turbidimètre	Ibn Ziad
MES	mg/L	Filtration Centrifugation	Ibn Ziad, Oued El-Athmania et Sidi Merouane
DBO5	mg/L	Système manométrique Oxi-Top	Ibn Ziad, Oued El-Athmania, Sidi Merouane
DCO	mg/L	DCO-HACH	Ibn Ziad, Oued El-Athmania, Sidi Merouane

3. Isolement et identification des actinobactéries

3.1. Isolement, purification et conservation des actinobactéries

Des dilutions décimales allant jusqu'à 10⁻³ pour les échantillons d'eaux usées traitées et 10⁻⁶ pour les échantillons d'eaux usées brutes et du bassin d'aération ont été réalisées dans l'eau physiologique stérile contenant 0,9% de NaCl. Les milieux sélectifs AF (**Kitouni**,

2007), Czapeck dox modifié (Soler *et al.*, 2018), ISP4 (International *Streptomyces* Project No. 4) (Shirling et Gottlieb, 1966 ; Silini *et al.*, 2016) et Olson (Bensultana *et al.*, 2010) sont utilisés. L'antibiotique acide nalidixique (20 µg/mL) et l'antifongique cycloheximid (50 µg/mL) sont rajoutées aux milieux d'isolement après filtration à travers un filtre millipore de 0.22 µm de porosité (Goodfellow *et al.*, 1996). 0,1 mL de chaque dilution décimale a été inoculé sur la surface des boîtes de Pétri contenant les milieux sélectifs. Les boites ainsi préparées ont été incubées à une température de 30°C pendant 3 à 4 semaines.

Après croissance, les colonies d'actinobactéries sont repérées d'après leur aspect macroscopique caractéristique, puis par leur aspect microscopique via l'observation directe sous microscope optique et après une coloration de Gram. Ces actinobactéries ont été repiquées sur le milieu ISP2 exempt d'antibactérien et d'antifongique jusqu'à l'obtention des souches pures. Les isolats purifiés sont conservés jusqu'à utilisation selon deux techniques (Rachedi *et al.*, 2018):

- Conservation à courte terme en ISP2 inclinée à 4°C.
- Conservation à longue terme a été réalisée à partir d'une öse de chaque isolat dispersée dans le milieu ISP2 contenant 50% du glycérol et conservée à -20°C.

3.2. Identification des actinobactéries

3.2.1. Identification phénotypique

Les souches d'actinobactéries isolées des trois STEPs ont été identifiées sur la base de leurs caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques.

3.2.1.1. Préparation des inoculums

- **Préparation de l'inoculum général**

À la surface du milieu ISP2-agar, les isolats d'actinobactéries sont ensemencés en stries serrées. Les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant 7 jours. Dans de l'eau physiologique stérile, la surface des colonies est raclée afin de récupérer les spores et les fragments mycéliens (Shirling et Gottlieb, 1966).

- **Préparation de l'inoculum lavé**

5 mL de l'inoculum général est introduit dans un erlenmeyer de 250 mL contenant 50 mL du milieu ISP2. L'incubation est faite sous agitation à 200 rpm pendant 72 h à 30°C. Ensuite, la culture est centrifugée stérilement à 1300 rpm pendant 10 min, le culot est lavé deux fois

avec NaCl stérile (0,9%) et suspendu dans ce dernier (**Shirling et Gottlieb, 1966 ; Boudemagh, 2007**).

3.2.1.2. Caractérisation morphologique

- **Aspect macroscopique (caractères cultureux)**

Les caractères cultureux ont été déterminés par observation visuelle dans les milieux solides du Projet International *Streptomyces* (ISP). 20 µL de l'inoculum général de chaque isolat été ensemencé en stries sur les milieux ISP2, ISP3, ISP4, ISP5 et ISP7 recommandé par **Shirling et Gottlieb, (1966)**. Les boîtes ont été incubées à 30°C et les observations ont été enregistrées après 7ème, 14ème et 21ème jours. L'importance de la croissance, la couleur du mycélium aérien et du substrat, la présence des spores et la production des pigments diffusible ont été enregistrée.

- **Aspect microscopique (culture sur lamelle)**

Les caractéristiques morphologiques des spores, des mycéliums aériens et de substrat ont été examinées au microscope en utilisant la technique de culture sur lamelle. Cette technique consiste à insérer une lamelle stérile à un angle de 45° dans le milieu ISP2 gélosé. Une goutte de d'inoculum général a été prélevée et inoculée à l'endroit de l'insertion de la lamelle et incubée à 30°C pendant 7 jours. La lamelle de couverture a été soigneusement retirée à l'aide d'une pince stérile et placée vers le haut sur une lame de verre propre. Enfin, la lamelle a été observée sous un fort grossissement d'un microscope optique (100X) (**Williams et Cross, 1971**).

3.2.1.3. Caractérisation biochimique

- **Test de catalase**

La catalase est une enzyme respiratoire qui catalyse la libération de molécules d'eau et d'oxygène à partir de peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



Pour mettre en évidence cette enzyme, une goutte du peroxyde d'hydrogène est déposée sur une lame, puis un fragment de la colonie est dissocié dans cette goutte. Le résultat positif se traduit par un dégagement gazeux sous forme de bulles d'oxygène (**Li et al., 2016a**).

- **Hydrolyse de l'amidon**

La capacité des actinobactéries à hydrolyser l'amidon en substances simples par l'amylase est détectée sur les boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive additionnée de l'amidon soluble à 1%. 20 µL de l'inoculum général sont ensemencés par une seule strie sur ces boîtes. Après 14 jours d'incubation à 30°C, les boîtes sont inondées par 10 mL d'une solution de lugol. L'hydrolyse de l'amidon est mise en évidence par la présence des zones claires autour des colonies. À l'inverse, les zones d'une couleur bleu contenant de l'amidon (**Harir et al., 2017**).

- **Hydrolyse de la cellulose**

La production de cellulose est testée sur un milieu minimum gélosé, supplémenté par 1% (p/v) de carboxyméthylcellulose comme unique source de carbone et d'énergie. 20 µL de l'inoculum lavé pour chaque souche est ensemencé à la surface des boîtes de Pétri. Les cultures sont incubées à 30°C pendant 6 jours, ensuite à 50°C pendant 18 h afin d'accélérer l'action de cellulase.

L'activité cellulolytique est mise en évidence par l'inondation des boîtes avec une solution de rouge congo 0,1% (p/v) pendant 15 min, puis décolorées avec une solution de NaCl (1M) pendant 15-20 min. L'apparition d'un halo claire autour des colonies indique la production de cellulase (**El-Naggar et al., 2014**).

- **Hydrolyse de la caséine**

La production de la caséinase est étudiée en ensemencant 20 µL de l'inoculum général des souches sur un milieu gélosé contenant 5% (p/v) de lait écrémé. Après 14 jours d'incubation à 30°C, la présence d'une zone transparente sous ou/et autour des colonies signifie l'hydrolyse de l'amidon (**Minotto et al., 2014**).

- **Hydrolyse de la tyrosine**

Ce test est réalisé sur un milieu gélosé à la tyrosine. Le résultat est considéré positif quand une auréole marron ou noire apparaitre autour des colonies après incubation à 30°C pendant 14 jours (**Raval et al., 2012**).

- **Hydrolyse de la gélatine**

Les isolats d'actinobactéries sont ensemencés par piqure centrale dans des tubes contenant 12% (p/v) de gélatine puis incubés à 30°C pendant 14 jours. Ensuite, les tubes sont placés au

réfrigérateur à 4°C pendant une heure. Si la gélatine reste liquide cela indique la production de la gélatinase (**Minotto et al., 2014**).

- **Hydrolyse de la pectine**

Ce test est réalisé sur le milieu pectine-agar. 20 µL de l'inoculum général de chaque isolat est ensemencé puis incubé à 30°C. Après 14 jours d'incubation, les boîtes sont recouvertes avec une solution d'acétate de cuivre à 10% (p/v). Les boîtes sont laissées à une température ambiante quelque minute puis lavées à l'eau distillée stérile. La clarification autour des colonies témoigne l'hydrolyse de la pectine (**Hankin et al., 1971**).

- **Hydrolyse du Tween 80**

L'estérase est recherchée sur le milieu Sierra contenant 1% (v/v) du tween 80. Après 14 jours d'incubation, l'apparition d'un halo opaque autour des colonies indique la présence de l'estérase (**Sierra, 1957**).

- **Recherche de lécithinase et lipoprotéinase**

L'aptitude des isolats à synthétiser la lécithinase et la lipoprotéinase est évaluée selon la technique décrite par **Nitsch et Kutzner, (1969)**. 20 µL de l'inoculum général est ensemencé à la surface de la gélose au jaune d'œuf et incubé à 30°C pendant 14 jours. La présence de lécithinase est mise en évidence par l'apparition d'un halo opaque, blanc perlé jaunâtre, à bord net sous la colonie ou à sa limite. En plus, l'hydrolyse de la lipoprotéine se traduit par la présence d'un halo opaque clair autour de la colonie (**Nitsch et Kutzner, 1969**).

- **Assimilation des substrats carbonés**

L'utilisation des sources de carbone a été déterminée sur des boîtes contenant le milieu minimum ISP 9. Une solution a été préparée avec 10% (p/v) de chaque source de carbone. Après cela, chaque boîte avec le milieu a été stérilisée et refroidi à environ 45°C, une concentration finale de 1% (p/v) de chaque sucre (D-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-mannitol, myo-inositol, saccharose, D-xylose) et 0,1% de chaque acide organique (acétate de sodium, oxalate de sodium et succinate de sodium) a été ajoutée. Ces sources de carbone ont été stérilisées par un filtre Millipore de 0,22 µm. Enfin, 20 µL de l'inoculum lavé de chaque souche été ensemencé à la surface des boîtes de Pétri et incubées à 30°C et la croissance a été lue après 14 jours en utilisant le milieu ISP9 additionné du glucose comme témoin positif (**Pridham et Gottlieb, 1948**).

- **Assimilation des sources d'azote**

La capacité de différentes souches d'actinobactéries à utiliser divers composés azotés comme source d'énergie a été étudiée en suivant la méthode recommandée par **Williams *et al.*, (1983)**. Des solutions mères de sources d'azote, à savoir L-cystéine et L-serine ayant une concentration de 10x ont été préparées dans de l'eau distillée autoclavée et stérilisées par filtration à travers des filtres à membrane de 0,22 µm de porosité et stockées à 4°C. Le milieu a été préparé en ajoutant 0,1% de source d'azote dans un milieu minimum basal. Les boîtes sont ensuite inoculées par 20 µL de l'inoculum lavé et incubées à 30°C pendant 7 à 14 jours. La croissance a été observée en les comparant avec le contrôle négatif (milieu basal sans source d'azote) (**Williams *et al.*, 1983**).

3.2.1.4. Caractérisation physiologique

- **Effet du pH**

Ce test est réalisé sur le milieu ISP2 préparé à différents pH : 5, 6, 9 et 10 ; et ajusté avec HCl (1N) et NaOH (1N). Après ensemencement des boîtes avec 20 µL de l'inoculum général, elles sont ensuite incubées à 30°C pendant 7 à 14 jours.

- **Effet du NaCl**

La tolérance des isolats aux sels minéraux est étudiée sur le milieu ISP2 additionné de différentes concentrations de NaCl. Les concentrations testées sont : 2%, 5%, 9% et 15%. 20 µL de l'inoculum général est ensemencé en stries, le résultat est noté après incubation à 30°C pendant 14 jours.

- **Effet de la température**

Les isolats d'actinobactéries ont été ensemencés sur le milieu ISP2 avec le même inoculum, puis incubés aux températures suivantes : 37°C et 45°C. La croissance a été évaluée pour chaque souche après 14 jours.

3.2.2. Identification moléculaire

3.2.2.1. Extraction de l'ADN

Les isolats des actinobactéries sont ensemencés sur le milieu ISP2 et incubés à 30°C pendant 5 jours, jusqu'à avoir des colonies jeunes non sporulées. L'ADN génomique a été extrait par le kit DNeasy® PowerSoil® Kit d'extraction. L'ADN pur extrait a été conservé immédiatement à -20°C (Annexe n° 2).

3.2.2.2. Réaction de polymérisation en chaîne

L'ADN extrait est amplifié par une paires d'amorces universelles : 27F (5'-AGAGTTTGATCMGGCTCAG-3') et 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (macrogen). L'amplification est réalisée pour un volume total de 50 μ L, chaque microtube contient le mélange réactionnel suivant : 17 μ L H₂O-PCR, 3 μ L de chaque amorce a une concentration de 10 mM, 25 μ L Supreme NZY Taq 2x Green Master mix, 2 μ L de l'ADN. Ensuite, les microtubes sont placés dans un thermo-cycleur de type MJ Mini/BIO-RAD programmés selon les étapes suivantes : une dénaturation initial à 95°C pendant 5 min, suivie de 30 cycles d'1 min de dénaturation à 94°C, 1 min d'hybridation à 55°C, 1 min 30 s d'élongation à 72°C, suivie enfin par un cycle d'élongation finale de 10 min à 72°C.

3.2.2.3. Electrophorèse

Afin de vérifier la qualité des amplicons, une électrophorèse sur gel d'agarose préparé en tampon TAE 1X à 0,8%, additionné de 6 μ L de syber safe a été effectué. Les bandes présentes sur gel d'agarose sont révélées et photographiées.

3.2.2.4. Purification et séquençage

Les produits de PCR ont été purifiés selon le protocole Gel Band Purification Kit (Annexe n° 2). La technique du séquençage utilisée est celle décrite par **Sanger *et al.*, (1977)**. Les séquences d'ARNr 16S obtenues sont soumises à la base de données du Centre national d'information sur les biotechnologies (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/> en utilisant l'algorithme blastn), pour les comparer avec les séquences d'ARNr 16S des bactéries disponible sur GENBank, et rechercher les séquences homologues.

3.2.2.5. Arbre phylogénétique

Les séquences d'ARNr 16S ont été extraites du NCBI et l'arbre phylogénétique a été construite par la méthode de l'assemblage par voisinage en utilisant le logiciel MEGA 11 (version 5.1) (**Tamura *et al.*, 2013**). La distance été calculé selon le modèle à deux paramètres de Kimura (**Kimura, 1980**).

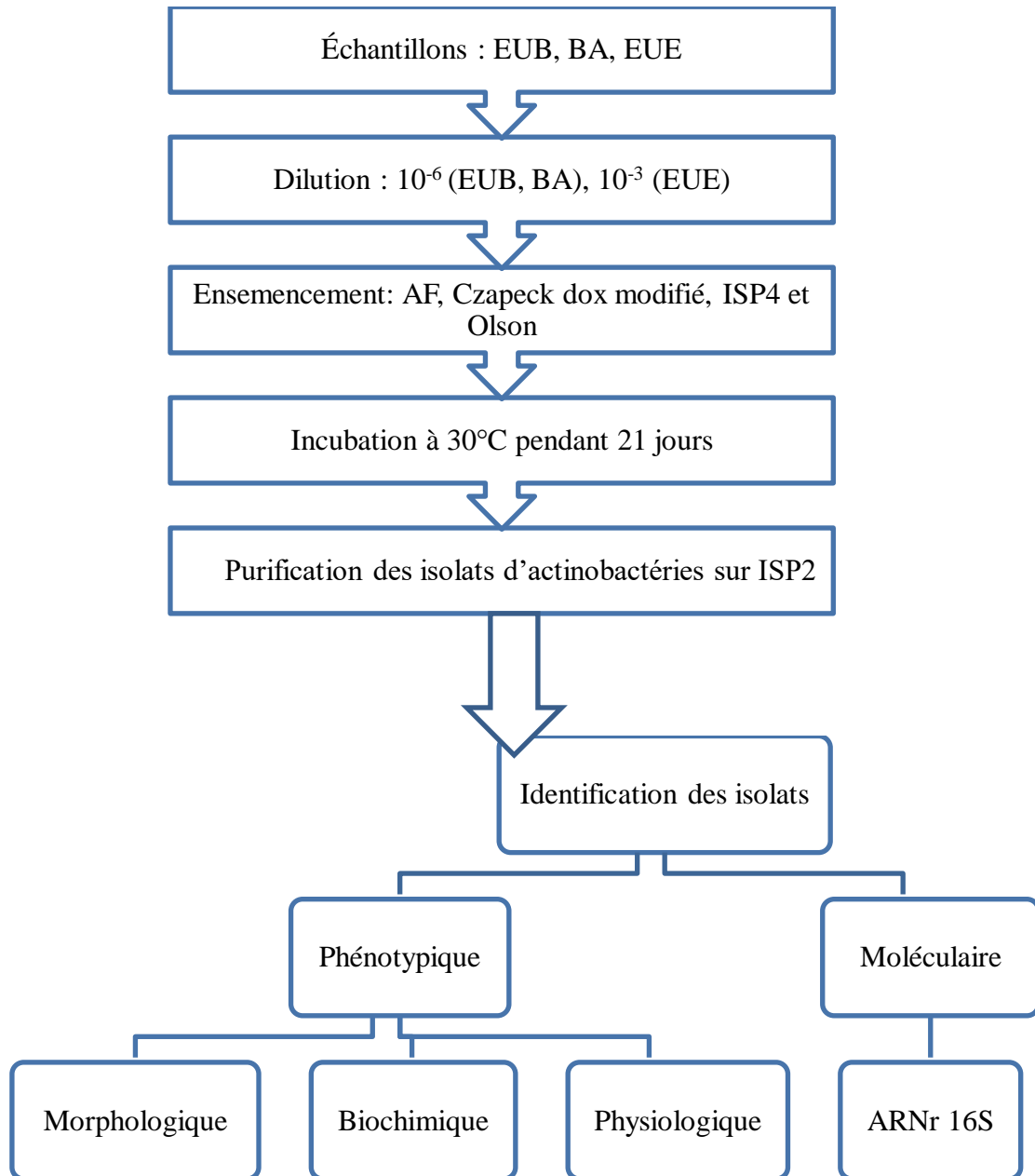


Figure 14 : Représentation générale des étapes d'isolement et d'identification des actinobactéries.

4. Criblage des actinobactéries capables de dégrader les pesticides

4.1. Préparation des suspensions de spores

Dans ces expériences, des suspensions de spores ont été utilisées comme inoculas. Ces suspensions ont été préparées à partir d'isolats. L'ensemencement en stries de chaque isolat a été réalisé sur le milieu ISP2. Les boîtes ont été incubées pendant 7 jours à 30°C. Les suspensions de spores ont été réalisées en versant de l'eau distillée stérile dans les boîtes.

Ensuite, les mélanges ont été filtrés à travers une seringue contenant du coton hydrophile (Fuentes *et al.*, 2011).

4.2. Biodégradation des pesticides sur milieu solide

La dégradation des pesticides a été évaluée en utilisant les souches d'actinobactéries isolées des trois stations d'épuration des eaux usées comme souches individuelles.

Les formulations commerciales des pesticides ont été obtenues auprès de la Coopérative des Céréales et des Légumes Secs (CCLS) (Tableau 10). Leur structure chimique est présentée dans la figure 15 (Annexe n° 3). Les pesticides commerciaux ont été préparés individuellement dans une solution mère, stérilisés à travers un filtre Millipore de 0,22 µm, puis stockés dans des flacons sombres à 4°C jusqu'à leur utilisation.

L'essai de dégradation des pesticides a été réalisé sur des boîtes de Pétri contenant un milieu minimum gélosé (MM1) (Cycoń *et al.*, 2011b) supplémentés avec chaque pesticide de façon individuel à des concentrations de 50 mg/L, 200 mg/L et 500 mg/L comme unique source de carbone. Le milieu MM1 est ensuite inoculé avec une suspension sporale des actinobactéries à une densité optique finale d'environ 0,1. En outre, trois milieux MM1 ont servi des témoins :

- Un milieu MM1 additionné d'un pesticide non inoculé a servi de contrôle abiotique.
- Un milieu MM1 exempt d'une source de carbone et autre additionnée seulement du glucose ; ont été inoculés par une suspension sporale (contrôle biotique).

Toutes les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 21 jours à l'obscurité. Les souches d'actinobactéries ont ainsi été évaluées soit par croissance positive ou négative.

Tableau 10 : Pesticides étudiés et leurs caractéristiques.

Type de pesticide	Nom commercial	État physique	Matière active	[C] g/L	Famille
Fongicide	Aliette	WG	Fosetyl-aluminium	800	Phosphonate
	Pelthio WP 70	WP	Thiophanate-méthyl	700	Benzimidazole
	Teldor	WG	Fenhexamide	500	Hydroxyanilide
	Concord 5 EC	EC	Hexaconazole	50	Triazole
	Horizon 250 EW	EW	Tébuconazole	250	
	Madjloul miracle	EC	Penconazole	100	

	Opus	SC	Epoxyconzole	125	
	Vidan 25 EC	EC	Triadimenol	250	
Herbicide	/	WP	2,4-Dichlorophénol	/	Chlorophénol
	Topik 80 EC	EC	Clodinafop-propargyl	80	Ester d'acide oxyphénoxy
Insecticide	Alphaban 10 SC	SC	α -cyperméthrine	98	Pyréthroïde
	Lambda-cythrine 25 EC	EC	Lambda-cyhalothrine	25	
	Diazinon	EC	Diazinon	600	Organophosphoré
	Vapcomic	EC	Abamectine	18	Avermectine
	Imiguard 20% SL	SL	Imidaclopride	200	Néonicotinoïde
	Rustilan	SP	Acétamipride	200	
	Tiam ou Actara 25 WG	WG	Thiaméthoxame	250	

4.3. Biodégradation de l'herbicide 2,4-DCP et l'insecticide thiaméthoxame en milieu liquide

Sur la base des résultats du criblage préliminaire, les isolats les plus prometteurs ont été sélectionnés pour l'évaluation de leur capacité à dégrader le 2,4-DCP et le thiaméthoxame (Tiam).

Les essais de dégradation des pesticides ont été réalisés dans des flacons de 250 mL contenant 75 mL de MM1 liquide additionnée séparément de 50 mg/L du 2,4-DCP et 35 mg/L du thiaméthoxame comme seule source de carbone. Ces flacons sont inoculés par la suspension sporale des isolats sélectionnés à raison de 0,1 ($\lambda=620$). Des flacons sans pesticides et des flacons non inoculés ont été utilisés comme contrôles biotiques et abiotiques, respectivement. Ensuite, les flacons ont été complètement enveloppés par le papier aluminium et incubés pendant 30 jours à 30°C dans un agitateur orbital à 130 rpm à l'obscurité. Des échantillons ont été prélevés à des intervalles réguliers pour le 2,4-DCP (0, 7, 14, 21 et 30 jours) tandis que pour le thiaméthoxame, des échantillons ont été prélevés au début et à la fin de l'expérience.

Dans les mêmes conditions d'expérimentation et afin de voir l'effet des sources de carbones supplémentaire sur la dégradation de 2,4-DCP et thiaméthoxame, 10 mM du glucose ou 5,9 mM d'acétate de sodium ont été ajoutés aux flacons. Tous les essais ont été réalisés en triplicata.

La croissance cellulaire été déterminé par la mesure de la densité optique (DO) en utilisant un spectrophotomètre de type UNICAM- Hλeios ($\lambda=620$ nm). Le suivie des concentrations des pesticides au cours de dégradation a été analysé par HPLC.

4.3.1. Cinétique de dégradation

L'élimination de 2,4-DCP et thiaméthoxame des milieux liquides a été ajustée au modèle cinétique de premier ordre selon l'équation (1).

$$C_t = C_0 e^{-kt} \dots\dots\dots(1)$$

Où :

C_0 : est la concentration de pesticide dans le milieu liquide au temps zéro.

C_t : est la concentration de pesticide au temps t.

K : est la constante de vitesse de dégradation (jour^{-1}).

t : est le temps de réaction.

$t_{1/2}$: est le temps auquel les concentrations de pesticide dans le milieu liquide ont été réduites de 50%. Il a été calculé à l'aide de l'équation (2) :

$$t_{1/2} = \ln(2)/k \dots\dots\dots(2)$$

4.3.2. Méthodes analytiques

4.3.2.1. Dosage par HPLC de l'herbicide 2,4-DCP et l'insecticide thiaméthoxame

Des échantillons de 1 mL collectés à différents moments ont subi une centrifugation (8000 rpm, 10 min, 4°C) et ensuite soumis à une analyse HPLC.

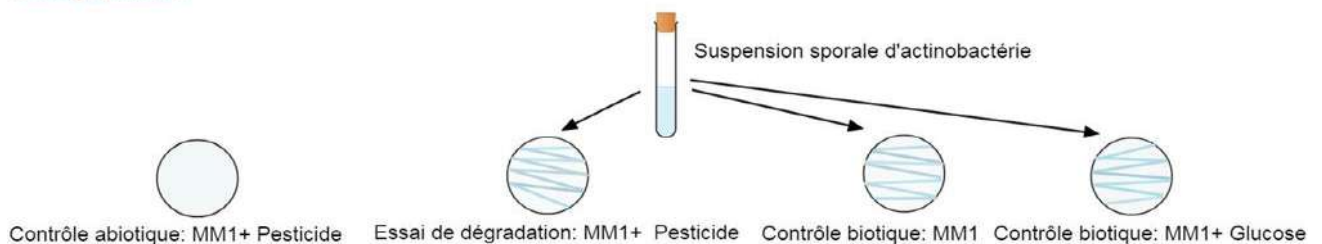
Les analyses de HPLC ont été effectuées sur un système Beckman Coulter Gold 126, en utilisant une colonne en phase inversée 250e4 HPLC-Cartridge LiChrospher 100 RP-18 (Merck), fonctionnant en mode isocratique avec un débit de 0,8 mL/min et un volume d'injection de 20 μ L. La phase mobile était composée de l'acétonitrile et de l'eau acidifiée avec l'acide trifluoroacétique à un pH=2 (60:40). La courbe d'étalonnage avec la solution standard préparée dans le milieu MM1 était linéaire dans la gamme de 1 mg/L à 400 mg/L (Figure 16, annexe n °4).

La longueur d'onde de détection pour le 2,4-DCP et le thiaméthoxame sont respectivement de 258 nm et de 230 nm. Les temps de rétention ont été de 3,18 et 4,56 min pour le 2,4-DCP et le thiaméthoxame respectivement.

4.3.2.2. Détermination de la concentration en chlorure

La libération d'ions chlore lors de la dégradation du 2,4-DCP a été testée par une méthode colorimétrique, dans lequel 200 μ L du sulfate d'ammonium et de fer a été ajouté au surnageant, l'échantillon incolore devient jaune. Après l'ajout du 600 μ L thiocyanate de mercure un deuxième changement de couleur du surnageant vers l'orange a été observé en cas de présence de chlorure. Le milieu MM1 sans 2,4-DCP a été utilisé comme blanc. Une lecture sur le spectrophotomètre à 460 nm permis de déterminer les concentrations de chlorure (Iwasaki *et al.*, 1956).

Criblage primaire



Criblage secondaire

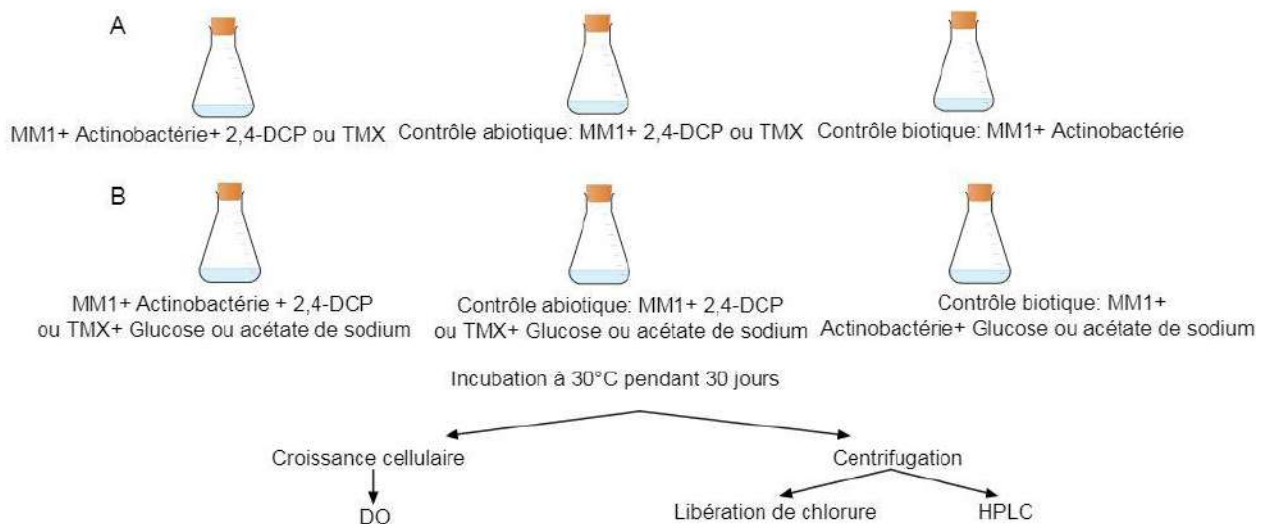


Figure 17 : Représentation schématique de la sélection primaire et secondaire des actinobactéries dégradant les pesticides. **A :** Dégradation du 2,4-DCP ou thiaméthoxame (TMX) comme unique source de carbone. **B :** Dégradation du 2,4-DCP ou thiaméthoxame en présence du co-substrat.

5. Biodégradation de l'insecticide thiaméthoxame par *Labrys portucalensis* F11

Sur une collection de microorganismes disponibles au niveau du laboratoire de biotechnologie et ressources environnementales à Universidade Católica Portuguesa, nous avons choisi la bactérie *Labrys portucalensis* F11 pour évaluer la biodégradation de thiaméthoxame (Actara 25WG). Cette bactérie très riche du point de vue métabolique et connue par son potentiel de dégradation d'une série très variée de polluants xénobiotiques (Amorim *et al.*, 2014; Moreira *et al.*, 2014). Nous nous sommes donc intéressés à tester son éventuel pouvoir de dégradation de ce pesticide.

5.1. Culture

Labrys portucalensis F11 (GenBank/EMBL/DDBJ numéro d'accèsion AY362040) est une souche bactérienne précédemment isolée par Carvalho *et al.*, (2005). *L. portucalensis* F11 a été déposée à la Collection des Bactéries BCCM/ LMG, Gand, Belgique, sous le numéro d'accèsion LMG 23412 et à la collection allemande de microorganismes et de cultures cellulaires (DSMZ), Braunschweig, Allemagne, sous le numéro d'accèsion DSM 17916.

5.2. Préparation de l'inoculum bactérien

L. portucalensis F11 a été systématiquement cultivé sur des boîtes de gélose nutritive, incubées pendant 2 jours à 30°C. Les boîtes sont ensuite inondées avec le milieu MM et récupérées dans des tubes eppendorfs. Des dilutions avec le milieu MM ont été réalisées jusqu'à l'obtention d'une DO uniforme ($\lambda=600$) de 0,1.

5.3. Biodégradation de différentes concentrations de l'insecticide thiaméthoxame en tant que seule source de carbone

La dégradation de l'insecticide thiaméthoxame a été évaluée dans une gamme de concentration allant de 10,84 mg/L à 128,73 mg/L, fournie comme un seul substrat au début de l'expérience. Les expériences ont été mises en culture avec la souche *L. portucalensis* F11 dans des flacons de 500 mL contenant 170 mL de MM2 (Moreira *et al.*, 2013) supplémenté par le thiaméthoxame. La dégradation a été suivie pendant 30 jours.

En plus du contrôle biotique et abiotique, le contrôle d'adsorption a été établi. En bref, le contrôle d'adsorption a été effectué dans des flacons contenant le milieu MM2 inoculé avec des cellules *L. portucalensis* F11 (DO initiale d'environ 0,1) qui ont été inactivées par la chaleur en passant à l'autoclave à 120°C pendant 30 minutes. Après, l'insecticide thiaméthoxame est ajouté.

Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires dans des conditions stériles et à l'abri de la lumière pour éviter la dégradation photolytique. Toutes les cultures ont été incubées à 30°C dans un agitateur rotatif (130 rpm). Des échantillons ont été prélevés à des intervalles réguliers (0, 3, 8, 12, 16, 20, 24 et 30 jours) pour évaluer la croissance, la dégradation de thiaméthoxame et l'identification des produits de dégradation.

La pureté des cultures a été évaluée par l'ensemencement régulier sur la gélose nutritive. Les constantes de vitesse de dégradation ont été calculées en supposant une cinétique de premier ordre décrite précédemment.

5.4. Biodégradation de différentes concentrations de l'insecticide thiaméthoxame en présence d'acétate de sodium

Dans cette expérience, des essais avec une alimentation périodique avec la même concentration d'acétate de sodium (5,9 mM) aux jours 5, 10, 15, 20 et 25 ont été établis. Des cellules de la souche *L. portucalensis* F11 ont été inoculées (DO= 0,1) dans des flacons de 500 mL contenant 170 mL de MM2 supplémenté par thiaméthoxame à 10,84 mg/L ; 37,34 mg/L ; 68,64 mg/L et 128,73 mg/L. L'expérience a été surveillée pendant 30 jours. Les expériences de contrôle biotique, abiotique et d'adsorption ont été réalisées dans les mêmes conditions (avec alimentation périodique en acétate de sodium).

5.5. Biodégradation de l'insecticide thiaméthoxame en tant que seule source de carbone et d'azote

La souche F11 (DO=0,1) a été inoculée dans le milieu MM3 (Singh, 2013) contenant le thiaméthoxame à une concentration de 10,84 mg/L comme unique source de carbone et d'azote, et incubée dans un agitateur rotatif à 130 rpm et 30°C. Après 30 jours, les contenus résiduels de thiaméthoxame ont été analysés. Les expériences de contrôle abiotiques, biotique et d'adsorption ont été réalisées dans les mêmes conditions. Toutes les expériences ont été réalisées en trois exemplaires.

5.6. Biodégradation de l'insecticide thiaméthoxame en tant que seule source de carbone et du soufre

Le milieu MM4 (Pileggi *et al.*, 2012) supplémenté avec 10,84 mg/L de thiaméthoxame comme unique source de carbone et du soufre, a été inoculé avec la bactérie *L. portucalensis* F11 (DO=0,1), puis incubé à 30°C et 130 rpm pendant 30 jours.

5.7. Cinétique de croissance et de dégradation

Un spectrophotomètre a été utilisé pour déterminer la croissance cellulaire ($\lambda = 600$ nm) tout au long des études. Ensuite, la biomasse a été éliminée des échantillons de culture par centrifugation à 8000 rpm pendant 10 min à 4°C. La concentration en chlorure et en thiaméthoxame ont été déterminées selon des méthodes validées précédemment décrites.

5.8. Spectrométrie de masse

La détection et l'identification des métabolites intermédiaires a été réalisée par chromatographie liquide à ultra-haute pression interfacée avec un spectromètre de masse à temps de vol Qq à ultra-haute résolution (UHR-QqTOF) (Impact II, Bruker Daltonics, Brême, Allemagne). Le système UPLC utilisé était un système Ultimate 3000 Dionex (Thermo Fisher Scientific) équipé d'une source d'ions duo-pulvérisation fonctionnant en mode positif. La colonne analytique utilisée était Acclaim RSLC 120 C18 de 2,2 μm , 100 \times 2,1 mm de diamètre interne (Dionex), tandis que les phases mobiles A et B étaient respectivement H₂O/acétonitrile, tous les deux acidifiés avec l'acide formique à 0,1 %. Des échantillons de 5 μL ont été élués à 0,25 mL/min avec le gradient suivant : 10% de B au point initial, augmenté à 21% en 10 min puis à 27 % jusqu'à 14 min, suivi de 58 % jusqu'à 18,3 min, et enfin il a augmenté à 100 % jusqu'à 20 min, puis maintenu constant pendant 4 min. Ensuite, revenu à 10 % de B puis a été maintenu à 5 % pendant 2 min. Une gamme de balayage de masse m/z entre 50 et 1000 Da a été utilisée. Les conditions d'interface suivantes ont été utilisées : tension capillaire : 4,5 kV ; température du gaz de séchage : 200°C ; débit du gaz de séchage : 8,0 mL/min ; pression du gaz de nébulisation : 2 bar ; temps de transfert : 120 μs et de stockage des pré-impulsions : 4 μs .

Un étalonnage interne de la masse a été effectué après chaque analyse chromatographique à l'aide de formate de sodium fournis par une pompe à seringue. La composition élémentaire des composés a été confirmée selon des calculs précis de masse et de taux isotopique désignés par mSigma (Bruker Daltonics). La masse précise mesurée se situait dans les 5 mDa de la composition élémentaire attribuée et des valeurs mSigma inférieures 20 ont fourni une confirmation.

5.9. Quantification du carbone et d'azote

Le carbone organique présent dans l'échantillon est catalysé en CO₂ et H₂O. Le CO₂ formé est détecté et quantifié à l'aide d'un équipement de type TOC-V_{CSH/CSN} (Shimadzu). L'équipement quantifie le CO₂ résultant de la catalyse de composés organiques mais aussi le CO₂ provenant de composés inorganiques, mesurant ainsi le carbone total. La quantification du carbone total (CT) et du carbone inorganique (CI) permet de calculer le carbone organique (COT) de l'échantillon, selon les équations suivantes :

$$\text{Carbone total (CT)} = \text{carbone organique (COT)} + \text{carbone inorganique (CI)}$$

$$\text{Carbone organique (COT)} = \text{Carbone total (CT)} - \text{Carbone inorganique (CI)}$$

20 mL du surnageant des échantillons collectés aux temps ; t₀ et t=30 jours ont subi une acidification par le sulfate à un pH=2. Cet équipement permet la détection de l'azote total (AT) en même temps que la quantification du CT.

5.10. Test de toxicité

5.10.1. Test de phytotoxicité

La phytotoxicité de thiaméthoxame et ses produits de dégradation ont été évalués par le test de germination des graines de la laitue (*Lactuca sativa*) (OECD, 2006).

- **Préparation des boîtes de germination**

Un disque du papier filtre est placé dans chaque boîte de Pétri correctement identifiée avec le nom de l'échantillon. Ensuite, le papier filtre est mouillé avec 3 mL de l'échantillon respective, en veillant à ce qu'il n'y ait pas de formation de bulles d'air. À l'aide d'une pince, 10 graines ont été placées sur le papier avec un espace suffisant entre elles pour permettre la croissance. Enfin, les boîtes sont entourées avec du parafilm pour maintenir l'humidité et incubées à température ambiante (environ 20°C) pendant 7 jours à l'obscurité. Les tests ont été effectués en quadruple.

- **Comptage des graines germées et mesure de la longueur des racines et des pousses**

L'inhibition de la germination relative des graines, l'inhibition de l'élongation relative des racines et l'inhibition de la croissance des pousses ont été déterminés. Ces paramètres ont été

déterminés par comparaison avec témoin de germination obtenus par exposition à de l'eau distillée, et ont été calculés comme suit :

% d'inhibition de la germination

$$= \frac{\text{Nombre de graines germées dans le contrôle} - \text{Nombre de graines germées dans la dilution testée}}{\text{Nombre de graines germées dans le contrôle}} \times 100$$

% d'inhibition de la croissance des racines

$$= \frac{\text{Longueur des racines dans le témoin} - \text{Longueur des racines dans la dilution testée}}{\text{Longueur des racines dans le témoin}} \times 100$$

% d'inhibition de la croissance des pousses

$$= \frac{\text{Longueur des pousses dans le témoin} - \text{Longueur des pousses dans la dilution testée}}{\text{Longueur des pousses dans le témoin}} \times 100$$

5.10.2. Inhibition de la bioluminescence de *Vibrio fischeri*

Le test de luminescence de *Vibrio fischeri* a été réalisé conformément à la norme ISO 11348-2-2007 (**Organisation internationale de normalisation, 2007**). Cette méthode permet de déterminer la toxicité d'un échantillon par son exposition à la bactérie luminescente *Vibrio fischeri*. Après avoir été confronté à un échantillon d'une toxicité inconnue pendant 15 min, la quantité de lumière émise par la bactérie luminescente *Vibrio fischeri* est mesurée et comparée à celle du contrôle par l'équipement du Microtox® (**Figure 18, annexe n° 5**).

Le test a été appliqué aux échantillons présentant une dégradation complète de l'insecticide thiaméthoxame aux temps 0 et 30 j.

5.10.3. Test Toxi-Chromo

Le test Toxi-Chromo est un kit d'essai biologique à base bactérienne sensible à de nombreuses substances toxiques différentes, y compris les contaminants organiques.

Le dosage est basé sur la capacité de thiaméthoxame ou ses produits de dégradation finale à inhiber la synthèse de l'enzyme β -galactosidase inducible dans un mutant hautement perméable d'*Escherichia coli* (K12 OR85). L'ajout de chromogène après une période d'exposition produit un critère colorimétrique facile à lire qui mesure l'activité de la β -galactosidase dans les bactéries affectées (**Bessa et al., 2019**) (**Figure 19, annexe n° 5**). Quatre essais de contrôle ont été réalisés, à savoir ; (i) milieu MM2 sans et avec acétate de

sodium, (ii) milieu MSM2 sans et avec acétate de sodium préalablement inoculés avec *L. portucalensis* F11. Ce test est appliqué pour les échantillons qui présentent une dégradation complète.

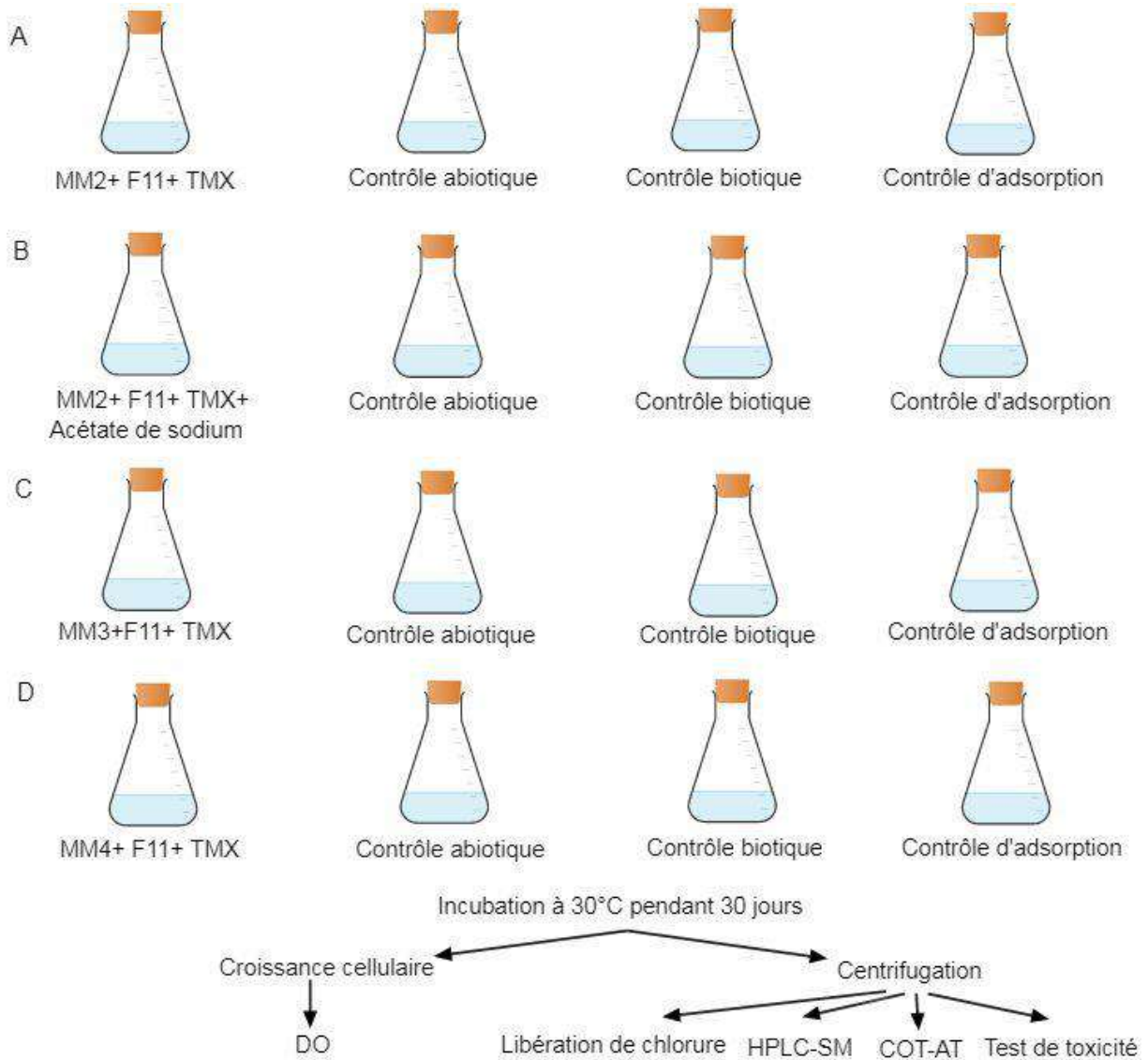


Figure 20 : Représentation schématique des expériences de dégradation de l'insecticide thiaméthoxame (TMX) par la souche *L. portucalensis* F11. **A :** Comme unique source de carbone. **B :** Avec alimentation périodique en acétate de sodium. **C :** Comme unique source de carbone et d'azote, **D :** Comme unique source de carbone et de soufre.

RÉSULTATS ET **DISCUSSION**

1. Caractérisation physico-chimique des échantillons d'eaux usées

Les résultats d'analyse physico-chimiques des échantillons d'eaux usées brutes, épurées et des bassins d'aération provenant de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane sont représentés dans les **tableaux 11, 12 et 13**.

Tableau 11 : Caractérisation physico-chimique des échantillons collectés à la STEP d'Ibn Ziad.

Prélèvements	1 ^{ier} prélèvement			2 ^{ème} prélèvement			3 ^{ème} prélèvement			Moyenne des prélèvements		
	EUB	BA	EUE	EUB	BA	EUE	EUB	BA	EUE	EUB	BA	EUE
pH	8,09	9,9	8,29	7,81	9,5	7,65	7,9	10,3	7,7	7,9	9,9	7,8
Température (C°)	24,1	21,5	24,8	22,1	21,3	23	19,8	20,7	18,1	22	21,1	21,9
MES (mg/L)	307	97,8	78	280	81	70	258	86	74	281,6	88,2	74
DBO5 (mg/L)	410	600	75	380	487	60	270	410	90	353,3	499	75
DCO (mg/L)	897	1050	41	760	900	40	480	620	47	712,3	856,6	42,6
O₂ dissous (mg/L)	1,6	3,34	2,3	3,7	3,2	2,5	3,2	2,78	2,1	2,8	3,1	2,3
Conductivité (µs/cm)	1510	1560	1730	1960	1070	1540	1665	1670	1500	1711,6	1433,3	1590
Salinité (%)	0,7	0,8	0,6	1	0,8	0,6	0,8	0,8	0,6	0,8	0,8	0,6
Turbidité (FTU)	177	ND	24,8	209	ND	19,3	215	ND	15,1	200,3	ND	19,7

Tableau 12 : Caractérisation physico-chimique des échantillons collectés dans la STEP de Oued El Athmania et de Sidi Merouane.

STEP	Oued El Athmania			Sidi Merouane		
Type d'échantillon/Paramètre	EUB	BA	EUE	EUB	BA	EUE
pH	7,8	9,6	7,5	7,6	9,7	7,3
Température (C°)	13,8	14,8	11,8	15,4	16,1	15,2
MES (mg/L)	143	24,2	17	452	36,7	6,8
DBO5 (mg/L)	210	307,3	14	310	453,6	28
DCO (mg/L)	425	524	16,1	708	889	41

Tableau 13 : Coefficient de biodégradabilité DCO/DBO5 des EUB et EUE des STEPs d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane.

DCO/DBO5	STEP Ibn Ziad	STEP Oued El Athmania	STEP Sidi Merouane
EUB	2,01	2,02	2,28
EUE	0,56	1,15	1,46

L'eau recouvre 71% de la surface de la terre, seulement 1% de ce volume est disponible pour les humains et d'autres organismes. C'est pourquoi elle ne peut pas être considérée comme un simple produit commercial, elle doit être classée comme un patrimoine universel qui doit être protégé et traité. L'eau est utilisée dans plusieurs secteurs tels que l'agriculture, l'élevage, l'industrie et d'autres usages domestiques. Toutes ces activités entraînent une pollution de l'eau, ou plus précisément produisent des eaux usées qui sont souvent rejetées dans le milieu récepteur (mer, rivières, sols) sans traitement préalable, provoquant alors une énorme dégradation du milieu et générant de nombreuses maladies humaines, animales et végétales (Onja *et al.*, 2017).

Le traitement des eaux usées est aujourd'hui une question d'une importance capitale. Une station d'épuration des eaux usées est conçue pour éliminer la majorité des substances organiques et inorganiques présentes dans les eaux usées. Le traitement biologique par boue activée est l'un des plus importants processus biotechnologiques ayant un impact écologique et économique significatif. Ce procédé est couramment utilisé dans le monde entier pour traiter les eaux usées municipales et industrielles en raison de la grande diversité et activité microbienne, ce qui permet d'éliminer la plupart des polluants organiques (Xu *et al.*, 2018).

L'objectif de cette recherche est de caractériser les eaux usées brutes, épurées et du bassin d'aération sur le plan physico-chimique; afin d'évaluer l'efficacité du traitement biologique par les boues activées utilisées dans la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane.

Le pH de l'eau mesure la concentration des protons H⁺ contenus dans l'eau (Makhoukh *et al.*, 2011). C'est un indicateur important de la pollution, il varie en fonction du type d'effluent (Fathallah *et al.*, 2014). Pendant les trois périodes d'échantillonnages à la STEP d'Ibn Ziad, le pH des eaux usées brutes se situe entre 8,09 et 7,9 avec une valeur moyenne de 7,9. Des valeurs similaires de l'ordre de 7,8 et 7,6 ont été enregistrées aux niveaux des eaux usées brutes de la STEP de Oued El Athmania et de Sidi Merouane. La plupart des valeurs de

pH enregistrées pendant la période d'échantillonnage dans les trois STEPs sont légèrement alcalines.

Cependant, les échantillons provenant des bassins d'aération étaient caractérisés par des valeurs de pH fortement alcalines. Les valeurs sont de l'ordre de 9,9 (STEP d'Ibn Ziad), de 9,6 (STEP Oued El Athmania) et 9,7 (STEP Sidi Merouane). Les valeurs élevées enregistrées au niveau des bassins d'aération des trois STEPs au cours de traitement biologique s'expliquent par la production de carbonates et de bicarbonates lors de l'oxydation de la matière organique par le consortium microbien des boues (**Aboulhassan *et al.*, 2014**).

Les valeurs observées dans les **tableaux 11** et **12** révèlent que le pH des eaux usées épurées est légèrement neutre à alcalin dans toutes les stations. En effet, le pH varie entre 8,29-7,7 dans la STEP d'Ibn Ziad, il est de l'ordre de 7,5 à la STEP de Oued El Athmania et de 7,3 dans la STEP de Sidi Merouane. La variation du pH est relativement similaire dans les trois STEPs étudiées. En général, les eaux usées épurées recueillies sur les trois STEPs sont légèrement alcalines. Les valeurs de pH se situent dans la fourchette acceptée pour le rejet des eaux usées en Algérie qui est entre 6,5 et 9,0 (**JORA, 2006**).

Le pH est l'un des facteurs les plus importants qui influence l'activité biologique de la microflore de l'eau. La grande majorité des microorganismes se développe à un pH compris entre 4,5 et 8,0 et la plage optimale se situe entre 5,5 et 7,5. La plupart des microorganismes ne peuvent pas tolérer un pH supérieur à 9,5 ou inférieur à 4. Il est généralement recommandé un pH entre 6,5 et 7,5 pour les stations de traitement des eaux usées, car un pH faible favorise la croissance des champignons filamenteux et d'autres organismes à l'origine des boues flottantes, tandis que les bactéries nitrifiantes ont besoin d'un pH entre 7,4 et 9 (**Benaricha et Elouissi, 2015**).

En ce qui concerne **la température**, elle est considérée comme un facteur écologique important dans l'environnement aquatique. Elle influence la densité, la viscosité, la solubilité des gaz dans l'eau, la dissociation des sels dissous, ainsi que les réactions physico-chimiques et biologiques. La température agit également sur le développement des organismes aquatiques, en particulier les microorganismes (**Makhoukh *et al.*, 2011**).

Les résultats présentés dans les **tableaux 11** et **12** montrent que la température des échantillons collectés présente des fluctuations importantes d'une station à une autre. La température la plus basse a été enregistrée pendant la saison humide, principalement durant le mois de décembre et janvier dans la STEP de Oued El Athmania (11,8°C) et de Sidi

Merouane (15,2°C). Tandis que la plus élevée a été enregistrée au niveau de la STEP d'Ibn Ziad durant la saison sèche précisément durant le mois de Mai et Juin (24,8°C et 23°C). L'augmentation de la température en Mai, favorise le phénomène d'autoépuration et augmente la vitesse de sédimentation des matières en suspension (**Bengherbia et al., 2014**). Ces variations de température pourraient être dues principalement à des facteurs environnementaux dominants, à savoir le changement climatique et les variations saisonnières de la région (**Olabode et al., 2020**). En effet, la température des eaux superficielles varie en fonction du climat de la saison (**Bengherbia et al., 2014**). En se référant aux limites normalisées pour les émissions des rejets dans le milieu récepteur, on peut noter que les températures mesurées étaient inférieures à 30°C, considérées comme la valeur algérienne limite des rejets directs dans le milieu récepteur (**JORA, 2006**).

Les matières en suspension (MES), sont représentées par toutes les particules inorganiques et organiques présentes dans les eaux usées (**Benaricha et Elouissi, 2015**). Les résultats des MES présentés dans les **tableaux 11 et 12** montrent que les eaux usées en amont de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane sont caractérisées par une teneur moyenne respectivement de 281,66 mg/L, de 143 mg/L et 452 mg/L. Ces teneurs élevées des MES peuvent être considérés comme une forme de pollution.

En aval de la STEP d'Ibn Ziad, bien que la teneur moyenne des MES qui est de 123 mg/L est inférieure à celle enregistrée à l'entrée. Ce résultat, reste supérieur à la valeur limite de rejet direct dans le milieu récepteur qui est de 35 mg/L (**JORA, 2006**). Cependant, à la STEP de Oued El Athmania et de Sidi Merouane les concentrations des MES sont trop basses et ne dépassent pas les normes de rejet des eaux usées admises dans la nature en Algérie.

La **DCO** permet d'évaluer la concentration de matières organiques par la mesure de la quantité d'oxygène nécessaire à l'oxydation chimique totale (**Fathallah et al., 2014**). Les valeurs moyennes de la DCO de l'effluent non traité au niveau des trois STEPs varient entre 712,33 mg/L et 425 mg/L. Ces valeurs élevée de DCO est une indication que l'effluent peut contenir des matières dangereuses telles que des résidus humiques, des détergents, des phénols, du cyanure, des hormones résiduelles, des produits pharmaceutiques et des pesticides qui résistent à la dégradation microbienne et qui sont dangereuses pour les masses d'eau réceptrices (**Paltahe et al., 2018**).

Le niveau de la DCO de l'effluent traité dans les trois stations est conforme à la limite recommandée par le Journal Officielle Algérien (<120 mg/L) (JORA, 2006), reflétant l'oxydation de ces eaux riches en matière organique.

La **DBO5** est définis comme étant la quantité du contenu organique dans les eaux usées qui est biologiquement dégradable par la consommation d'oxygène (Boughou *et al.*, 2018). Les valeurs de DBO5 à l'entrée de la STEP d'Ibn Ziad représentent des variations fluctuant entre 270 mg/L (valeur minimale) et 410 mg/L (valeur maximale) avec une valeur moyenne de 353,33 mg/L. Des concentrations de 210 mg/L et 310 mg/L ont été enregistré à la STEP de Oued El Athmania et de Sidi Merouane. Cette forte pollution est due fort probablement à l'abondance de la matière organique émise par les activités anthropiques en amont des trois stations d'épuration étudiées. Il s'agit principalement des activités humaines, industrielles, agricoles ou domestiques (Kabbaj *et al.*, 2014).

Les valeurs de la DBO5 à la sortie de la STEP d'Ibn Ziad fluctuent entre 60 mg/L et 90 mg/L avec une valeur moyenne de 75 mg/L. Ces valeurs dépassent les limites admissibles du rejet dans le milieu récepteur (35 mg/L) (JORA, 2006). Des faibles concentrations de DBO5 ont été enregistrées à la STEP de Oued El Athmania (14 mg/L) et de Sidi Merouane (28 mg/L). Elles sont conformes à la norme Algérienne.

L'**oxygène dissous** est l'un des paramètres les plus sensibles aux polluants. Sa valeur indique le niveau de contamination (Makhoukh *et al.*, 2011). Dans notre étude, La concentration de l'oxygène dissous dans l'eau diminué de l'amont vers l'aval de la STEP d'Ibn Ziad et passe de la valeur moyenne de 2,88 mg/L à 2,31 mg/L. Les charges organiques élevées générées par les effluents liquides municipaux de la Wilaya de Constantine, qui sont chargés de quantités importantes de polluants, sont très probablement à l'origine de l'importante pénurie d'oxygène dissous. Ce dernier est réduit par l'activité des bactéries décomposant la matière organique présente dans les effluents (Onouki et Achour, 2014).

la **conductivité électrique**, est l'une des mesures les plus simples et les plus importantes pour le contrôle de la qualité des eaux usées (Messrouk *et al.*, 2014). Elle représente la capacité de l'eau à conduire un courant électrique. En outre, elle reflète le degré global de minéralisation. Plus les sels minéraux ionisés sont présents dans l'eau, plus la conductivité est élevée. La conductivité dépend aussi de la température. Elle est plus importante lorsque la température augmente (Reggam *et al.*, 2015). L'effluent à l'entrée de la STEP d'Ibn Ziad montre une valeur moyenne en conductivité électrique de 1711,6 $\mu\text{s/cm}$, tandis qu'à la sortie

elle est de 1590 $\mu\text{s}/\text{cm}$. Ces résultats montrent que la conductivité électrique des eaux usées épurées est assez élevée. Ce qui est très probablement dû au phénomène d'évapotranspiration des algues ou à la minéralisation de la matière organique (**Zobeidi, 2017**).

Le chlorure de sodium entrant à la STEP est un composant majeur de l'alimentation humaine. Dans la STEP d'Ibn Ziad, il a été noté que l'élimination des sels est très faible, cela se traduit par des concentrations encore très élevées dans l'effluent traité (0,6 %). Dans un écosystème aquatique, une forte teneur en chlorure de sodium, peut menacer la durabilité des sources de nourriture écologiques, constituant ainsi un risque pour la survie des espèces, car elle affecte la croissance et la reproduction de certains organismes aquatiques (**Aniyikaiye et al., 2019**).

La turbidité est une propriété physique essentielle pour le contrôle de l'épuration de l'eau usée (**Demba et al., 2013**). La présence de matières organiques ou minérales sous forme colloïdale ou en suspension dans les eaux usées provoque sa turbidité (**Tabet, 2015**).

Dans la STEP d'Ibn Ziad, des valeurs très élevées variant entre 177 FTU et 215 FTU avec une moyenne de 200,3 FTU ont été enregistré à l'entrée de la STEP. Au niveau du bassin d'aération, les valeurs s'affichent hors gamme. Cela est dû à la prolifération massive des algues (**El Hachemi, 2012**). À la sortie de la STEP, des teneurs faibles de la turbidité ont été notées. Elles sont comprises entre 15,1 FTU et 24,8 FTU avec 19,73 FTU comme valeur moyenne. Cela répond positivement à la norme de rejet limitée en Algérie qui est de 50 FTU (**JORA, 2006**).

Le rapport DCO/DBO5 est une valeur importante qui caractérise la biodégradabilité de l'effluent considéré (**Messrouk et al., 2014**). D'après le **tableau 13**, les eaux usées brutes des trois STEPs représentent un ratio DCO/DBO5 compris entre 2,01 et 2,28. Ce rapport est inférieur à 3 ce qui indique que les eaux usées contiennent plus de matière organique biodégradable (**Lakhlifi et al., 2017**). Alors, le rapport DCO/DBO5 des eaux usées épurées était de 0,56, 1,15 et 1,46 à la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane, respectivement. Cette diminution du rapport DCO/DBO5, indique une réduction des matières organiques non biodégradables grâce au traitement biologique par les boues activées utilisées dans les trois STEPs (**Messrouk et al., 2014**).

Les rendements épuratoires en terme de MES à la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane sont respectivement de l'ordre de 69%, 88% et 98%. La DCO et la DBO5 des eaux usées sont réduites de manière significative après le traitement. Avec une réduction de 94%, 96%, 94% en termes de DCO et 79%, 93%, 91% en termes de DBO5 respectivement dans la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane. Ces résultats indiquent que la STEP de Oued El Athmania et de Sidi Merouane sont plus performantes que la STEP d'Ibn Ziad. Généralement, les trois STEPs sont efficaces dans l'élimination de la pollution. **Benaricha et Elouissi (2015); Lakhlifi et al., (2017) et Olabode et al., (2020)** ont trouvé des résultats similaires à ceux rapportés dans notre étude.

Les résultats obtenus nous amène a confirmé que le procédé des boues activées a trouvé une vaste application comme moyen efficace de traitement des eaux usées. Les boues activées ont été rapporté pour traiter une gamme d'eaux usées domestiques, industrielles et agrochimiques avec une réduction réussie de la DCO et l'élimination des polluants toxiques (**El-Shatoury et al., 2004**). Il est très important de noter que l'efficacité et la robustesse d'une station d'épuration dépendent principalement de la composition et de l'activité de la communauté microbienne des boues. Cependant, Il est nécessaire de déterminer la composition et la dynamique des communautés microbiennes des boues activées et d'identifier les acteurs microbiens clés de ce processus (**Wagner et al., 2002**).

2. Isolement et identification des actinobactéries

Au cours des dernières décennies, les actinobactéries ont été largement étudiées et ont été isolées à partir de différents environnements et habitats. Cependant, il existe peu de rapport concernant leurs isollements à partir des STEPs. Cette étude vise à isoler et à identifier les actinobactéries pouvant peupler cet habitat aquatique très pollué et contaminé. En effet, cet écosystème très insolite regorge d'une panoplie de polluants organiques et inorganiques extrêmement variés. Les pesticides font partie de ces polluants xénobiotiques qui s'acheminent dans ces structures omniprésentes dans toutes les villes. Il s'agit principalement dans cette étude, d'explorer la biodiversité des actinobactéries capables de tolérer la présence des pesticides et même de les dégrader.

2.1. Isolement des actinobactéries

Un total de 15 isolats d'actinobactéries présumées morphologiquement distinctes a pu être récupéré à partir des trois STEPs étudiés. Ils ont été sélectionnés sur la base de leurs aspects micromorphologique (colorations de Gram positive et aspects filamenteux caractéristiques de la plupart des actinobactéries) et de leurs aspects macroscopiques (**Figure 21**). Ces isolats purifiés sur milieu ISP2 et stockés à -20°C ont eu des codes sous forme de deux lettres.

Le nombre d'actinobactéries récupérés dans chaque STEP et sur chaque milieu est présenté dans le **tableau 14**. Il a été clairement observé que le plus grand nombre d'isolats a été obtenu à partir de la STEP d'Ibn Ziad (7 isolats soit un pourcentage de 46,66%). Alors que le nombre le plus faible a été récupéré à partir de la STEP de Sidi Merouane (3 isolats soit un pourcentage de 20%). Dans la STEP de Oued El Athmania, 5 isolats ont été purifiés (soit un pourcentage de 33,33%). Parmi les 15 isolats obtenus, 13 proviennent des boues activées ; ce sont les isolats nommés AC, AE, AG, FG, ME, ML, MM, OA, OB, OH, OV, SG et YO, un isolat est originaire d'eau usée brute (nommé OT). Le dernier (nommé OF), est récupéré des eaux usées épurées. Il apparaît clairement d'après ces résultats, qu'il existe une grande variabilité dans la distribution quantitative des actinobactéries entre les eaux usées brutes, épurées et les boues activées. Ce sont ces derniers qui offrent le plus grand nombre.

Les milieux sélectifs montrent un autre critère de sélection et d'isolement de ces bactéries. En effet, 6 isolats ont été récupérés à partir du milieu Olson, 4 sur le milieu czapecck-dox modifié, 3 proviennent du milieu ISP4 et seulement 2 ont été récoltés à partir du milieu AF. Ces résultats indiquent clairement que le nombre le plus élevé des actinobactéries est récupéré du milieu Olson.

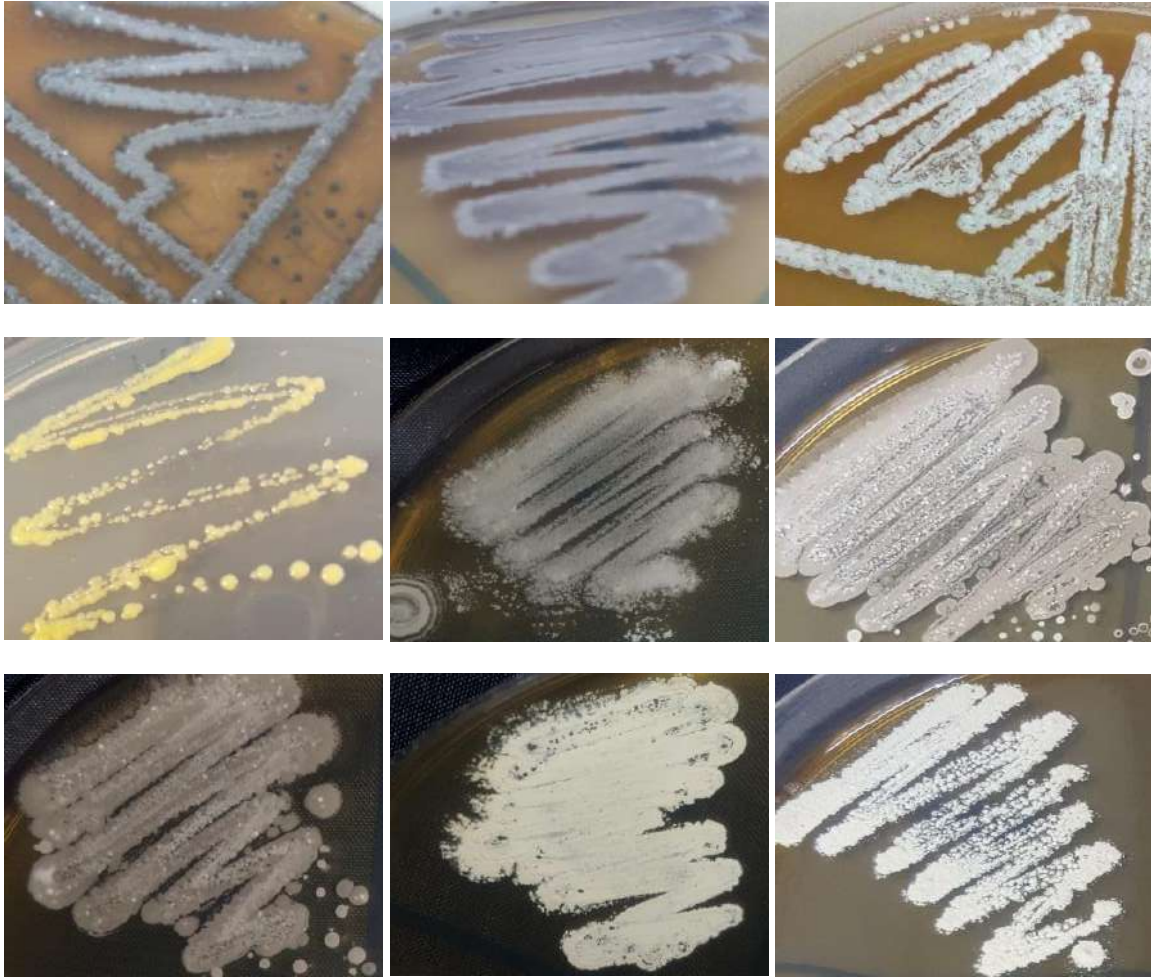


Figure 21 : Aspect macroscopique de quelques actinobactéries cultivé sur milieu ISP2.

Tableau 14: Nombre d'actinobactéries isolés à partir des échantillons d'eaux usées brutes (EUB), épurées (EUE) et du bassin d'aération (BA) des trois STEPs étudiées.

STEP	EUB				BA				EUE			
	AF	Czapeck dox modifié	ISP4	Olson	AF	Czapeck-dox modifié	ISP4	Olson	AF	Czapeck dox modifié	ISP4	Olson
Ibn Ziad	0	0	0	0	1	2	1	3	0	0	0	0
Oued El Athmania	0	1	0	0	0	0	2	1	0	0	0	1
Sidi Merouane	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
Total	1				13				1			

2.2. Identification morphologique, biochimique, physiologique et moléculaire des actinobactéries

Dans cette étude, les 15 isolats récoltés de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane ont été testés pour leur diversité taxonomique en utilisant des critères morphologiques, culturels, physiologiques et biochimiques ainsi que l'analyse de leurs gènes ARNr 16S.

2.2.1 Caractérisation morphologique des actinobactéries

La morphologie est une caractéristique importante utilisée pour identifier les actinobactéries. C'est le principal critère autrefois utilisée dans de nombreuses descriptions anciennes, en particulier pour les espèces de *Streptomyces* dans les premières éditions du manuel de Bergey. Ces caractéristiques morphologiques restent encore de rigueur dans les approches polyphasiques dans l'identification de ces bactéries.

2.2.1.1 Observation macroscopique et caractères culturels

Les cultures pures des isolats ont été identifiées sur la base de leurs caractéristiques morphologiques et culturelles sur les milieux de culture d'International Project *Streptomyces* (ISP2, ISP3, ISP4, ISP5 et ISP7) recommandés par **Shirling et Gottlieb (1966)**. L'importance de la croissance, la couleur du mycélium aérien et du mycélium de substrat, la production de pigments diffusibles et des pigments mélanoides ont été étudiées. En fonction du temps requis pour leurs croissances, nos isolats ont été divisés en trois groupes :

- Les isolats à croissance rapide : C'est le cas de l'isolat MM qui apparaît au bout de 24h à 48h de culture sur tous les milieux ISP testés. L'isolat MM est de couleur jaune. Les colonies manifestent une bonne croissance sur tous les milieux ISP et se présentent sous forme sphérique, lisse, convexe, opaque et à bords réguliers. L'isolat ne produit aucun pigment diffusible ou mélanoides.
- Les isolats à croissance moyenne : sont les isolats dont la croissance varie entre 3 à 7 jours (AC, AE, AG, FG, ML, OA, OB, OF, OH, OT, OV, SG et YO). La majorité de ces isolats se développent en 3-5 jours et la sporulation est observée après 5-7 jours. Ces isolats ont été développés sur une gamme de milieux ISP et la texture des colonies varie de colonies poudreuses, cotonneuses à des colonies veloutées. L'apparence des colonies varie de concentriques à plissées. La couleur des mycéliums aérien et de substrat est représentée dans le **tableau 15**. Des pigments diffusibles de couleurs variés ont été produits sur certains milieux par les isolats AG, ML, OA, OB, OF, OT,

OV et YO. Aucun pigment diffusible n'est produit par les isolats AC, AE, FG, OH et SG. À l'exception de tous les isolats, AC et OT ont produit des pigments de mélanine sur la gélose à la tyrosine (ISP7).

- Les isolats à croissance lente : La culture de l'isolat ME se développe lentement (plus de 10 jours d'incubation) et forme des colonies extrêmement incrustées dans la gélose sur les différents milieux testés. Des mycéliums aériens blancs sont formés sur les géloses ISP 2, 3, 4, 5 et 7. La couleur des mycéliums du substrat était jaune-orange. Les pigments diffusibles et mélanoides n'ont pas été produits. L'isolat ME présente une bonne croissance sur tous les milieux ISP testés.

Tableau 15: Caractères culturels des isolats d'actinobactéries provenant des trois STEPs sur différents milieux ISP.

		Isolats provenant de la STEP d'Ibn Ziad						
Milieu	Caractéristique	AC	AE	AG	ME	ML	MM	YO
ISP2	Croissance	+	+	+	+	+	+	+
	Mycélium aérien	Gris	Gris kaki	Crème	Blanc	Grisâtre à clair gris	Non	Blanc
	Mycélium de substrat	Bleu	Marron acajou	Rouge foncé brun	Orange - jaune	Brunâtre à brun	Non	Marron
	Pigment diffusible	Non	Non	Brun rougeâtre foncé	Non	Marron foncé	Non	Marron
ISP3	Croissance	+	+/-	+	+	+/-	+	+
	Mycélium aérien	Gris	Gris	Crème	Blanc	Gris	Non	Blanc
	Mycélium de substrat	Bleu	Marron	Rouge/marron	Orange modéré	Marron	Non	Olive brune
	Pigment diffusible	Non	Non	Marron	Non	Marron	Non	jaune orangé
ISP4	Croissance	+	+	+	+	+	+	+
	Mycélium aérien	Gris	Gris kaki	Crème	Blanc	Gris foncé	Non	Blanc
	Mycélium de substrat	Gris clair	Marron acajou	Rouge foncé brun	Orange modéré	Beige	Non	Brun olive
	Pigment diffusible	Non	Non	Brun rougeâtre foncé	Non	Marron	Non	Brun olive

ISP5	Croissance	+/-	+	+	+	+	+	+
	Mycélium aérien	Gris	Gris clair	Blanc	Blanc	Gris	Non	Marron
	Mycélium de substrat	Gris clair	Beige	Marron	Jaune clair	Marron	Non	Beige olive
	Pigment diffusible	Non	Non	Marron	Non	Marron	Non	Beige clair
ISP7	Croissance	+	+	+/-	+	+	+	+
	Mycélium aérien	Gris	Gris kaki	Blanc	Blanc	Gris clair	Non	Marron
	Mycélium de substrat	Gris clair	Marron	Marron	Jaune clair	Brunâtre à brun	Non	Beige clair
	Pigment diffusible	Non	Non	Marron	Non	Non	Non	Non

Isolats provenaient de la STEP de Oued El Athmania

Milieu	Caractéristique	OA	OF	OV	SG
ISP2	Croissance	+	+	+	+
	Mycélium aérien	Blanc-gris	Brun blanc coriace	Blanc à aqua	Crème beige
	Mycélium de substrat	Jaune/orange	Crème au brun	Gris	Marron
	Pigment diffusible	Jaune	Marron	Bambou à olive clair	Non
ISP3	Croissance	+	+	+	+
	Mycélium aérien	Blanc	Crème	Blanc vers le bas	Crème beige
	Mycélium de substrat	Jaune	Marron	Bleu	Marron
	Pigment diffusible	Jaune	Marron	Ivoire clair à brun moutarde clair	Non
ISP4	Croissance	+	+	+	+
	Mycélium aérien	Gris foncé	Brun blanc	Blanc à gris	Crème beige

	Mycélium de substrat	Gris rougeâtre	Crème au brun	Ivoire	Marron
	Pigment diffusible	Jaune	Non	Non	Non
ISP5	Croissance	+/-	+	+	+
	Mycélium aérien	Blanc	Blanc	Blanc	Crème beige
	Mycélium de substrat	Jaune	Marron	Blanc à ivoire clair	Marron
	Pigment diffusible	Jaune	Marron	Non	Non
ISP7	Croissance	+	+/-	+	+
	Mycélium aérien	Gris	Beige	Bleu ciel	Crème beige
	Mycélium de substrat	Orange	Crème	Beige	Marron
	Pigment diffusible	Jaune	Non	Non	Non

Isolats provenaient de la STEP de Sidi Merouane

Milieu	Caractéristique	FG	OB	OH	OT
ISP2	Croissance	+	+	+	+
	Mycélium aérien	Blanc à gris	Gris foncé	Gris	Gris focalisé/ Noir fumé
	Mycélium de substrat	Marron	Brun verdâtre	Blanc	Marron/gris
	Pigment diffusible	Non	Marron	Non	Marron
ISP3	Croissance	+/-	+	+	+
	Mycélium aérien	Gris	Gris granit	Blanc à gris	Noir fumé
	Mycélium de substrat	Marron brun	Marron	Beige	Jaune/marron

	Pigment diffusible	Non	Marron	Non	Non
ISP4	Croissance	+	+	Gris	+++
	Mycélium aérien	Blanc	Gris granit	Crème	Noir fumé
	Mycélium de substrat	Marron	Blanc	Blanc	Gris
	Pigment diffusible	Non	Non	Non	Jaune
ISP5	Croissance	+/-	+	+	+/-
	Mycélium aérien	Gris	Gris granit	Blanc à gris	Blanc/gris
	Mycélium de substrat	Marron	Jaune	Blanc	Jaune pâle/gris
	Pigment diffusible	Non	Non	Non	Non
ISP7	Croissance	+	+	+	+
	Mycélium aérien	Blanc à gris	Gris pale	Gris	Gris
	Mycélium de substrat	Marron	Beige	Blanc	Marron/gris
	Pigment diffusible	Non	Non	Non	Marron foncé

(+) Bonne croissance, (+/-) Croissance modérée, (-) : Absence de croissance.

2.2.1.2 Observation microscopique

Tous les isolats ont donné un résultat positif à la coloration de Gram (**Figure 22**). D'après les observations au microscope optique, les isolats AC, AE, AG, FG, ME, ML, OA, OB, OF, OH, OT, OV, SG et YO possèdent des hyphes de substrat non fragmentés et ramifiées qui portent des mycéliums aériens formé de chaînes de spores rectus flexibilis ou spiralées. Cependant, les cellules de l'isolat MM sont des cocci groupées en tétrade et elles ne forment pas des spores.

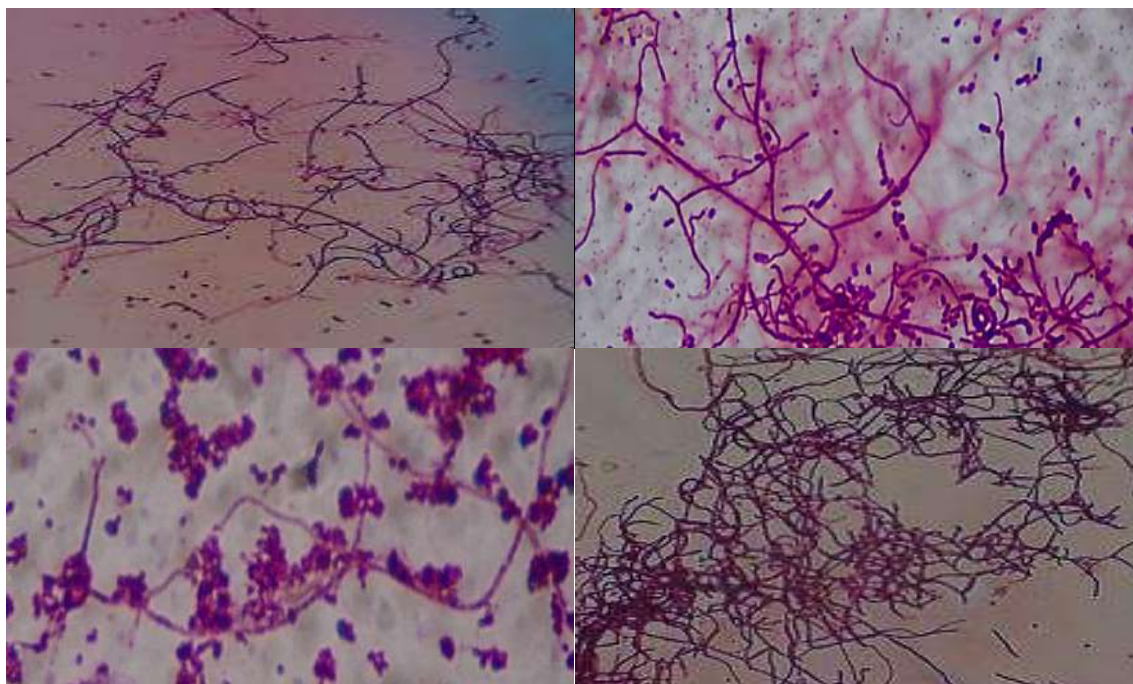


Figure 22: Observation microscopique de quelques isolats d'actinobactéries après coloration de Gram, grandissement $\times 100$.

La comparaison des caractéristiques culturelles et microscopiques des 15 isolats d'actinobactéries avec celles d'espèces d'actinobactéries décrites dans le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Goodfellow *et al.*, 2012) suggère que 13 isolats à savoir AC, AE, AG, FG, ML, OA, OB, OF, OH, OT, OV, SG et YO appartiennent au genre *Streptomyces*, l'isolat ME et MM appartiennent au genre *Actinomadura* et *Micrococcus*.

2.2.2. Caractérisation biochimique et physiologique des isolats

Les isolats ont été testés pour une série de caractéristiques physiologiques et biochimiques. Les caractères étudiés sont la croissance à différents pH, à différentes températures et à des concentrations variées de NaCl. Quelques activités enzymatiques et la croissance sur différentes sources de carbone et d'azote, ont également testés. Ces différentes propriétés physiologiques et biochimiques ont été regroupées dans le **tableau 16**.

Tableau 16 : Caractéristiques physiologiques et biochimiques des d'actinobactéries isolées de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane.

	AC	AE	AG	FG	ME	ML	MM	OA	OB	OF	OH	OT	OV	SG	YO
Croissance à:															
Température															
37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45°C	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
pH															
5	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl															
2%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
9%	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
15%	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrolyse de :															
L'amidon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellulose	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Pectine	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Gélatine	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+
Caséine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tyrosine	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Tween 80	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
Lécithine	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+
Utilisation des:															
Source de carbone															
D-Arabinose	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+
D-Fructose	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+
D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Mannitol	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Myo-inositol	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+
Saccharose	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
D-Xylose	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+
Source d'azote															
L-Cysteine	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
L-Serine	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Acides organiques																
Acétate de sodium	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Oxalate de sodium	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	
Succinate de sodium	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	

(+) Présence de croissance, (-) Absence de croissance.

Les isolats d'actinobactéries qui proviennent de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane ont été examinés pour une gamme de paramètres physiologiques. D'après le **tableau 16**, tous les isolats sont capables de se développer à la température 37°C, à la gamme de pH de 6 à 10 et à la concentration de 2% de NaCl. Cependant, seulement 73,33% des isolats ont pu pousser à la température extrême de 45°C et 80% des isolats ont montré une bonne croissance au pH acide (pH=5). Un pourcentage de 93,33% et de 53,33% des isolats, ont enregistré une bonne croissance à des concentrations respectives de 5% et de 9% d'NaCl. À l'exception des autres isolats qui sont incapables de se développer en présence d'une concentration élevée de 15% d'NaCl, l'isolat nommé OA a démontré une bonne croissance.

La production d'enzymes extracellulaires capables de dégrader certains composés organiques a été évaluée pour les 15 isolats d'actinobactéries. Il est intéressant de noter que tous les isolats d'actinobactéries sont capables de produire l'amylase et la caséinase. Les résultats indiquent aussi que la plupart des isolats soit (93,33 %) étaient positifs à la catalase. Environ 66,66% des isolats ont hydrolysé la gélatine et la lécithine et 60% ont produit la tyrosinase et l'estérase. Un pourcentage de 33,33% des isolats a montré une activité cellulolytique et seulement 13,33% des isolats ont montré une activité pectinolytique.

D'après les résultats rassemblés dans le **Tableau 16**, les isolats d'actinobactéries présentent des métabolismes d'utilisation des sources de carbones et d'azotes différents. Le D-glucose est la source de carbone préférée de tous les isolats. Elle est suivit par le D-Mannitol (80%) et le D-Fructose (73,33%). Le D-arabinose, le méo-inositol et le saccharose ont été utilisés par 66,66% des isolats. Le D-xylose était la source de carbone la moins utilisée avec un pourcentage de 53,33%. Parmi les trois acides organiques testés, l'acétate de sodium est le plus utilisé avec un pourcentage de (93,33%). Environ 80% et 40% des isolats ont pu utiliser respectivement le succinate de sodium et l'oxalate de sodium. En ce qui concerne les sources d'azotes, seules 60% des isolats d'actinobactéries peuvent utilisés la cystéine comme source d'azote, alors que 93,33% des isolats ont pu utiliser l'acide aminée sérine.

La capacité de croître dans une large gamme de températures, de pH et de NaCl, la capacité de dégrader différents polymères et d'utiliser une variété importante de sources de carbone et d'azotes indique que ces actinobactéries présentent une diversité métabolique variée. Ils sont par conséquent, capables de vivre dans les différents environnements de la nature.

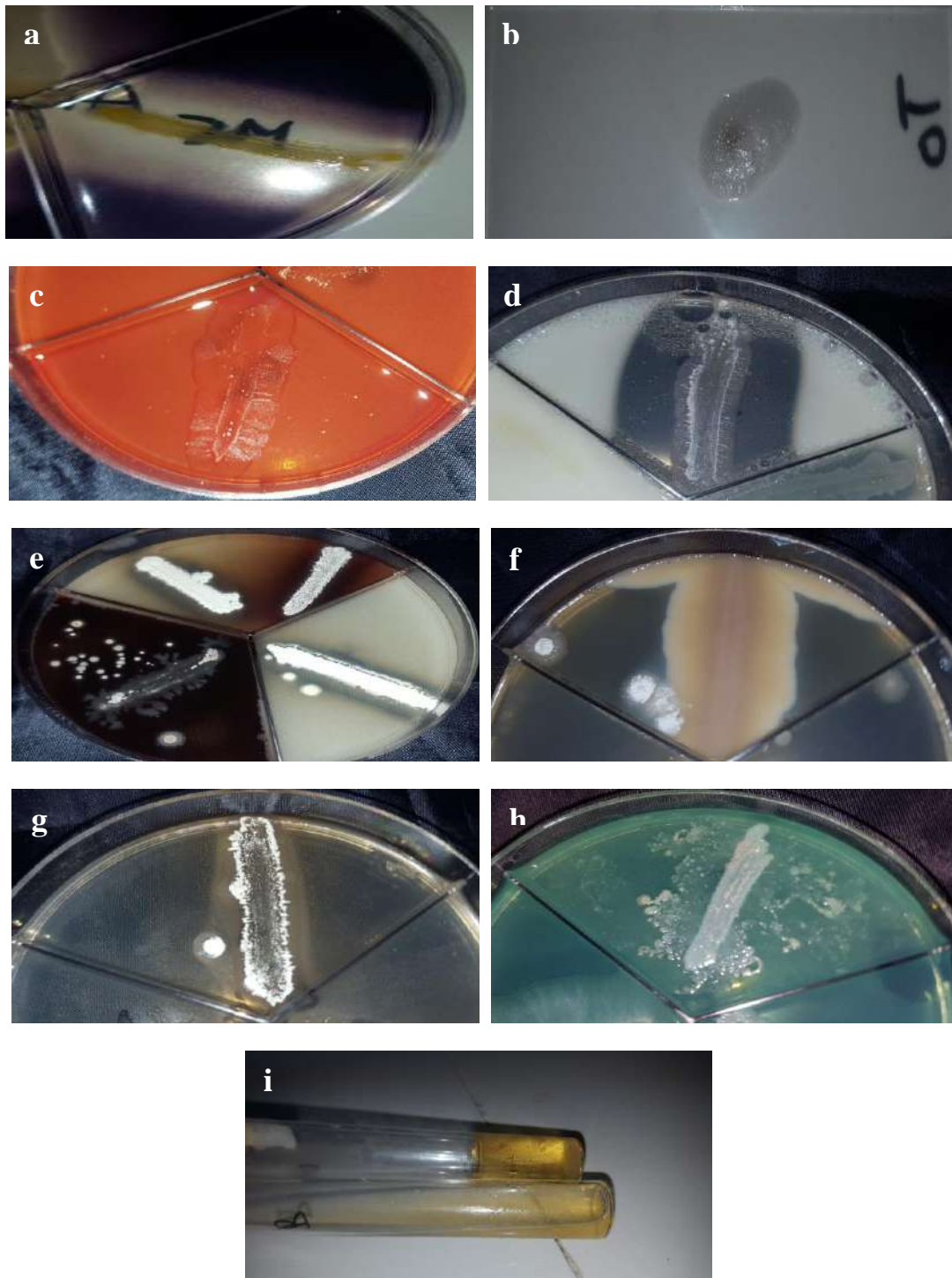


Figure 23 : Activités enzymatiques (**a** : amylase, **b** : catalase, **c** : cellulase, **d** : caséinase, **e** : tyrosinase, **f** : lécithinase, **g** : estérase, **h** : pectinase et **i** : gélatinase).

2.2.3. Identification moléculaire des actinobactéries

L'ADN génomique a été isolé et purifié à l'aide d'un kit d'extraction d'ADN. Les gènes de l'ARN ribosomal (ARNr 16S) ont été amplifiés en utilisant des amorces bactériennes universelles. L'ADN a été confirmé dans de l'agarose à 0,8% coloré avec du syber safe. Les produits PCR de 15 cultures ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose et séquencés (**Figure 24**).

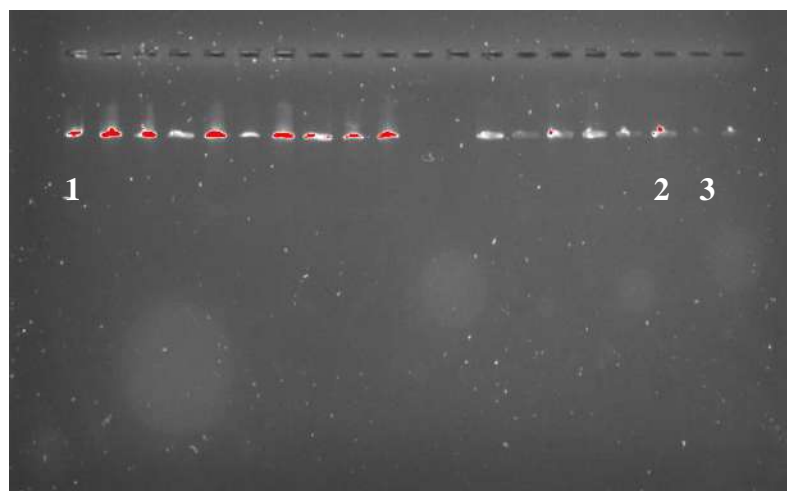


Figure 24: Amplification du gène 16S ARNr 16S des isolats d'actinobactéries. **1** : Marqueur de poids moléculaire. Echelle 1 kb DNA ladder; **2** : Témoin positif; **3** : Témoin négatif.

Les séquences ont été comparées aux souches de référence d'actinobactéries de la base de données génomiques du NCBI en utilisant une recherche BLASTn pour déterminer les pourcentages de similarité. Les souches présentant les pourcentages de similarité les plus élevés ont été extraites de la base de données du NCBI, et un alignement multiple des séquences a été réalisé. L'analyse phylogénétique a été réalisée à l'aide du logiciel MEGA 11 (version 5.1) en utilisant la méthode des distances (Neighbor-Joining) selon le modèle Kimura à 2 paramètres en prenant *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* comme outgroup. Les séquences nucléotidiques obtenues des fragments du gène de l'ARNr 16S ont été déposées à la GenBank, et les numéros d'accèsion ont été obtenus.

De même, nos souches ont été déposées à la banque DSMZ et les numéros d'accèsion sont indiqués dans le **tableau 17**. L'arbre phylogénétique des séquences d'ARNr 16S des souches d'actinobactéries de cette étude et de celles des souches types apparentées est présenté dans la **figure 25**.

Tableau 17: Identification moléculaire des souches d'actinobactéries isolées des STEPs.

Isolat	Numéro d'accension (NCBI)	Numéro d'accension (DSMZ)	L'organisme le plus proche	Similarité %
AC	MZ357071	DSM 113650	<i>Streptomyces speibonae</i> strain PK-Blue	99%
AE	MZ357073	DSM 113649	<i>Streptomyces heliomycini</i> strain NBRC 15899	99%
AG	MZ411470	DSM 113540	<i>Streptomyces gougerotii</i> strain NBRC 13043	100%
FG	MZ348834	ND	<i>Streptomyces variabilis</i> strain NRRL B-3984	99%
ME	MZ348827	ND	<i>Actinomadura geliboluensis</i> strain A8036	100%
ML	MZ314444	DSM 113726	<i>Streptomyces collinus</i> strain NBRC 12759	99%
MM	MZ348828	DSM 113600	<i>Micrococcus luteus</i> strain NCTC 2665	99%
OA	MZ348609	DSM 113725	<i>Streptomyces thinghirensis</i> strain S10	100%
OB	MZ348825	DSM 113652	<i>Streptomyces iakyrus</i> strain NBRC 13401	99%
OF	MZ348833	DSM 113651	<i>Streptomyces sampsonii</i> strain ATCC 25495	99%
OH	MZ348836	DSM 113653	<i>Streptomyces brevispora</i> strain BK160	98%
OT	MZ348621	DSM 113545	<i>Streptomyces malaysiensis</i> strain ATB-11	99%
OV	MZ411469	DSM 113542	<i>Streptomyces chartreusis</i> strain NBRC 12753	99%
SG	MZ348824	DSM 113543	<i>Streptomyces bacillaris</i> strain NBRC 13487	99%
YO	MZ475021	DSM 113541	<i>Streptomyces cavourensis</i> strain NRRL 2740	100%

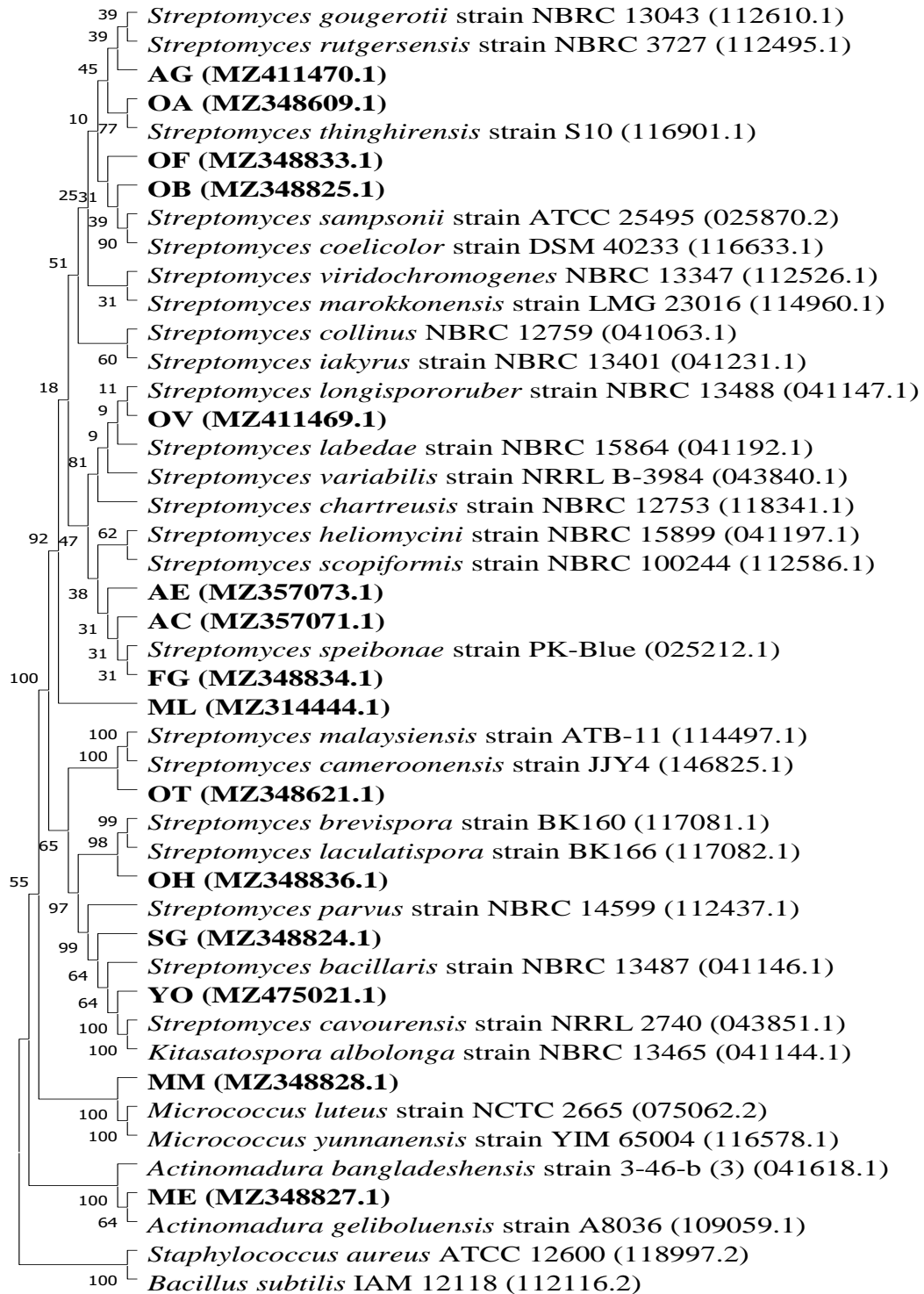


Figure 25: Arbre phylogénétique selon la méthode des distances (Neighbor-Joining) basé sur les séquences du gène de l'ARNr 16S, montrant les voisins les plus proches des souches isolées. Des souches de type *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* ont servi d'outgroup. Les valeurs Bootstrap de 1000 sont indiquées aux points de branchement. Les numéros d'accèsion à la GenBank sont indiqués entre parenthèses. La barre représente 0,02 substitutions par site.

La comparaison des séquences de nos isolats d'actinobactéries avec les souches valides sur le site NCBI a révélé que les séquences étaient homologues à 98 et 100%. Les résultats montrent que 13 isolats appartenaient au genre *Streptomyces* alors que l'isolat ME et MM sont affiliés respectivement aux genres *Actinomadura* et *Micrococcus*. L'analyse de l'ARNr 16S de ces souches a confirmé la classification morphologique établis.

L'analyse phylogénétique des gènes d'ARNr 16S des isolats d'actinobactéries montre que les isolats AC, AE, AG, FG, ML, OA, OB, OF, OH, OT, OV, SG et YO sont membres du genre *Streptomyces*. Ils forment des clades avec des souches types de différentes espèces de ce genre. Les isolats MM et ME ont été identifiés comme des microorganismes appartenant aux genres *Micrococcus* et *Actinomadura*. La souche MM forme un clade avec *Micrococcus luteus* NCTC 2665 et *Micrococcus yunnanensis* 65004. Tandis que la souche ME forme un clade avec *Actinomadura bangladeshensis* 3-46-b (3) et *Actinomadura geliboluensis* A8036.

Discussion

Les microorganismes peuvent coloniser des niches écologiques variées y compris les habitats extrêmophiles grâce à leurs caractéristiques adaptatives, y compris des adaptations structurelles et fonctionnelles. Les stations d'épuration des eaux usées représentent l'une de ces niches. Ces STEPs ont un lien fonctionnel fort en tant que producteurs et décomposeurs en raison de la grande richesse des substrats ainsi que de la diversité fonctionnelle qui entraîne une grande hétérogénéité des ressources environnementales (**Malviya et al., 2014**). L'isolement des microorganismes provenant d'environnements inexploités est une approche extrêmement prometteuse, ces environnements peuvent offrir de nouveaux microorganismes possédant de nouvelles particularités pouvant trouver des applications biotechnologiques intéressantes.

L'objectif principal de notre travail était d'isoler les actinobactéries à partir des stations d'épuration des eaux usées. Il s'agit aussi, d'étudier leurs capacités à éliminer des pesticides. 15 isolats d'actinobactéries ont été isolés et purifiés à partir des trois STEPs. Les caractères cultureux, micro et macromorphologiques, indiquent que ce sont des actinobactéries.

Dans les méthodes classiques d'isolement, l'isolement sélectif des actinobactéries est une tâche pas très facile et nécessite des techniques particulières. En effet, les autres bactéries à croissances rapides, empêchent la croissance des actinobactéries en culture pure. Les isolements sélectifs de ces bactéries s'appuient essentiellement sur deux approches : (i) la sélection nutritionnelle, où les milieux sont formulés avec des composants nutritionnels, qui

sont préférentiellement utilisés par les actinobactéries, (ii) l'inhibition sélective ; dans laquelle des inhibiteurs tels que les agents antifongiques et les antibiotiques sont incorporés pour inhiber les bactéries non actinomycètes (**Boudemagh et Bensouici 2014 ; Kumar et Jadeja, 2016**).

Les milieux sélectifs recommandés pour l'isolement des actinobactéries sont nombreux. Dans notre étude, nous avons utilisé les milieux d'Olson, czapeck-dox modifié, ISP4 et AF. Contrairement aux autres bactéries, les actinobactéries peuvent utiliser plusieurs substances carbonées, azotées et des polymères de poids moléculaire élevé. Les protéines et les acides aminés en tant que sources d'azote, jouent un rôle très important dans l'isolement sélectif de ces bactéries. La présente étude, indique que le milieu Olson est le plus indiqué pour l'isolement des actinobactéries à partir des échantillons hydriques testés. Cette constatation est corroborée par les résultats de **Hocinat (2018)**, dans des travaux similaires sur les boues activées. La caséine et L-arginine font partie de la composante principale du milieu d'Olson. Ces deux composés sont très sélectifs pour les actinobactéries (**El-Nakeeb et Lechevalier 1963 ; Kuster et Williams 1964 ; Hocinat et al., 2016 ; Hocinat et al., 2019**).

L'ajout de l'antifongique cyclohexamide dans les milieux d'isolement a permis de minimiser la contamination fongique. Par conséquent, les antifongiques se sont avérés particulièrement utiles dans de telles études. Le cycloheximide a été utilisée par **Dulaney et al., (1955)**, **Corke et Chase (1964)**.

La plupart des agents antibactériens inhibent la croissance des bactéries à Gram négatif et de certaines bactéries Gram positif comme les actinobactéries ce qui entraîne une difficulté dans la suppression des bactéries tout en permettant la croissance des actinobactéries. **Dulaney et al., (1955)** ont recommandé un mélange d'antibactériens et d'antifongiques pour permettre le développement sélectif des actinobactéries. L'acide nalidixique et le cycloheximide inhibent la plupart des bactéries Gram négatifs et les champignons et peuvent être applicables pour l'isolement de divers genres d'actinobactéries (**Kumar et al., 2015**).

En ce qui concerne la répartition des actinobactéries dans les eaux usées brutes, épurées et les bassins d'aération; les résultats obtenus montrent qu'uniquement deux isolats actinobactériens ont été purifiés à partir des eaux usées brutes et des eaux usées épurées. Ces écosystèmes sont caractérisés par un pH légèrement alcalin. Cependant, un nombre relativement important ; 13 isolats ont été isolés à partir des bassins d'aération, caractérisés par un pH très alcalin. Ces résultats confirment que de nombreuses actinobactéries peuvent vivre dans ces environnements hydriques à pH légèrement alcalins à très alcalins. En général,

la présence des actinobactéries dans les eaux de surface est due au lessivage des sols, ce qui peut expliquer la récupération d'un isolat d'actinobactérie dans les eaux usées brutes (**Ranjani et al., 2016**). Concernant les eaux usées traitées, la présence des actinobactéries dans l'eau douce et l'eau potable est très répandue, cela est dû à la résistance des actinobactéries aux irradiations ultraviolette et à la chloration (**Hozzein, 2012**).

Le nombre élevé d'actinobactéries récolté à partir des échantillons du bassin d'aération, où se trouve une quantité importante de boues activées est un résultat très logique. En effet, dans des travaux mettant en œuvre une analyse métagénomique des boues, le pourcentage des actinobactéries par rapport aux autres microorganismes qui compose la population bactérienne des boues était de 31% (**Ibarbalzet al., 2016**). Les microorganismes de la boue activée en particulier les actinobactéries, jouent un rôle crucial au cours du traitement biologique. Les activités antimicrobiennes des souches d'actinobactéries peuvent contribuer à réduire de manière significative les concentrations de microorganismes pathogènes dans les effluents des eaux usées (**Bensultana et al., 2010**). Ces bactéries, présentent également l'avantage, d'adhérer aux interfaces non miscibles de l'eau grâce à l'hydrophobie de leur paroi cellulaire (**El-Shatoury et al., 2004**). Les actinobactéries dans les boues activées ont fait l'objet d'une attention particulière. Ils ont montré une capacité d'accumuler le phosphate et de dégrader une grande variété de composés organiques complexes et récalcitrants dans les bioréacteurs d'eaux usées (**Hozzein, 2012**).

L'identification des actinobactéries au niveau du genre peut généralement être accomplie en utilisant une combinaison de propriétés morphologiques et chimiques. La caractérisation au niveau de l'espèce est souvent plus difficile. Elle requière généralement un séquençage de l'ARNr 16S. Cette technique permet également d'élucider les relations phylogénétiques entre les microorganismes (**Bensultana et al., 2010 ; Kaaniche et al., 2020**). Dans cette étude, 15 isolats d'actinobactéries ont été identifiés. Ces isolats appartiennent à trois genres différents, à savoir *Actinomadura*, *Micrococcus* et *Streptomyces*. Le genre le plus dominant était *Streptomyces* (13 souches). Ce résultat est similaire à celui trouvé par **Hocinat et Boudemagh (2016)** à la STEP d'Ibn Ziad. Ils ont récupéré des boues activées 5 souches de *Streptomyces* capables de dégrader le fongicide commercial Ortiva sur un total de 7 isolées. Les études montrent que les genres les plus fréquemment rencontrés dans les boues activées sont *Microthrix*, *Nocardia* et *Gordonia* (**Vanysacker et al., 2014 ; Khairnar et al., 2014 ; Guo et al., 2015**). Cependant, il est intéressant de noter qu'il n'existe dans la littérature, que

très peu de travaux portant sur les screening orientés dirigés vers l'isolement des *Streptomyces* à partir des boues activées (**Hocinat et Boudemagh 2016, Hocinat et al., 2020**).

La présente étude a également indiqué la présence d'*Actinomadura*, ce genre rare a été isolé également à partir de la boue activée, dans les travaux de **Al-Shahwani et al., (1988)** et plus récemment dans ceux de **El-Shatoury et al., (2004)**. Nos résultats indiquent aussi la présence de *Micrococcus* dans les stations étudiées. Ce résultat est similaire à ceux de **El-Sayed et al., (2006)**, qui ont identifié *Micrococcus* sp. MF-1 isolé à partir d'un effluent d'eau usée capable de dégrader la mélamine formaldéhyde. *Micrococcus yunnanensis* a été également isolé à partir des boues pharmaceutiques capables de dégrader l'ibuprofène (**Sharma et al., 2019**). Un autre actinomycète nommé *Micrococcus luteus* AS2, a été isolé à partir d'eaux usées industrielles. Il a montré une résistance à certains métaux lourds (**Sher et al., 2020**).

Bien que les bactéries présentes dans les boues activées soient analysées depuis des décennies par des méthodes culturales. Le faible pourcentage de bactéries de boues activées cultivables sur les milieux de culture couramment utilisés et les distorsions causées par le processus de culture ont rendu impossible le décryptage de la composition de la communauté microbienne *in situ* (**Juretschko et al., 2002**). Au cours de la dernière décennie, une variété d'approches moléculaires a été développée et appliquée pour étudier la composition et la dynamique de la communauté microbienne dans les systèmes de boues activées d'une manière indépendante de la culture. Les méthodes les plus couramment utilisées sont l'électrophorèse sur gel à gradient dénaturant (DGGE), le polymorphisme de longueur de fragment de restriction terminale (T-RFLP), le clonage, la PCR en temps réel et l'hybridation *in situ* fluorescente (**Satoh et al., 2013**).

3. Biodégradation des pesticides par les isolats actinobactériens

3.1. Test de biodégradation des pesticides sur milieu solide

La capacité des 15 isolats d'actinobactéries à dégrader séparément diverses familles de pesticides a été évaluée sur milieu minimum contenant les différents pesticides à des concentrations croissantes (50 mg/L, 200 mg/L et 500 mg/L). Toutes les souches d'actinobactéries ont montré une bonne croissance sur le milieu minimum contenant du glucose (contrôle positive). Aucun isolat n'a été capable de croître sur le milieu minimum sans aucune source de carbone (contrôle négative). La biodégradation des pesticides a été évaluée en comparant la croissance des actinobactéries en présence de pesticide avec celle obtenue sur le contrôle positive et négative. Les résultats sont rassemblés dans le **tableau 18** (Annexe n° 7).

3.1.1. Biodégradation des fongicides

La **figure 26** montre le nombre des actinobactéries capable de croître en présence de l'un des fongicides suivant : Aliette, Pelthio 70 WP, Telodr, Vapcomic, Concord 5 EC, Horizon 25 EW, Madjloul miracle, Opus et Vidan 25.

Les résultats obtenus montrent que parmi les 15 souches d'actinobactéries isolées et testées, 6 souches soit un pourcentage de 40%, sont capables de croître à une concentration de 50 mg/L. Il s'agit des souches *Streptomyces* sp. AE, ML et YO isolées de la STEP d'Ibn Ziad, des souches *Streptomyces* sp. SG et OA isolées de la STEP de Oued El Athmania et de la souche *Streptomyces* sp. OH isolée de la STEP de Sidi Merouane. Parmi ces 6 isolats, seulement les 2 souches (SG et YO) ont pu utiliser le fongicide Aliette à la concentration 200 mg/L et 500 mg/L.

Pour le fongicide Pelthio 70 WP, les 4 souches ; *Streptomyces* sp. AE, OH, SG et YO, qui proviennent des boues activées des trois STEPs sont capables de dégrader le fongicide à une concentration de 50 mg/L. Seulement la souche *Streptomyces* sp. YO présente une croissance modérée à la concentration 200 mg/L. Aucune souche n'est capable de dégrader le fongicide commercial Pelthio 70 WP à une concentration de 500 mg/L.

D'après la **figure 26**, on n'observe que les 2 souches de *Streptomyces* sp. ML et YO ainsi que la souche de *Micrococcus* sp. MM qui proviennent de la STEP d'Ibn Ziad ont pu utiliser le fongicide Teldor comme seule source de carbone à la concentration 50 mg/L. *Streptomyces* sp. ML et YO, sont les seules bactéries qui peuvent se développer à la concentration 200

mg/L. Sur le milieu minimum contenant 500 mg/L de Teldore, *Streptomyces* sp. YO présente une croissance modérée.

Selon les histogrammes de la **figure 26**, on constate que le fongicide Aliette est le pesticide le plus dégradé, suivi du fongicide Telodre puis du Pelthio 70 WP. En ce qui concerne les fongicides trizoles ; Concord 5 EC, Horizon 25 EW, Madjloul miracle, Opus et Vidan 25, aucune souche n'est capable de croître en présence des concentrations testées de ces fongicides.

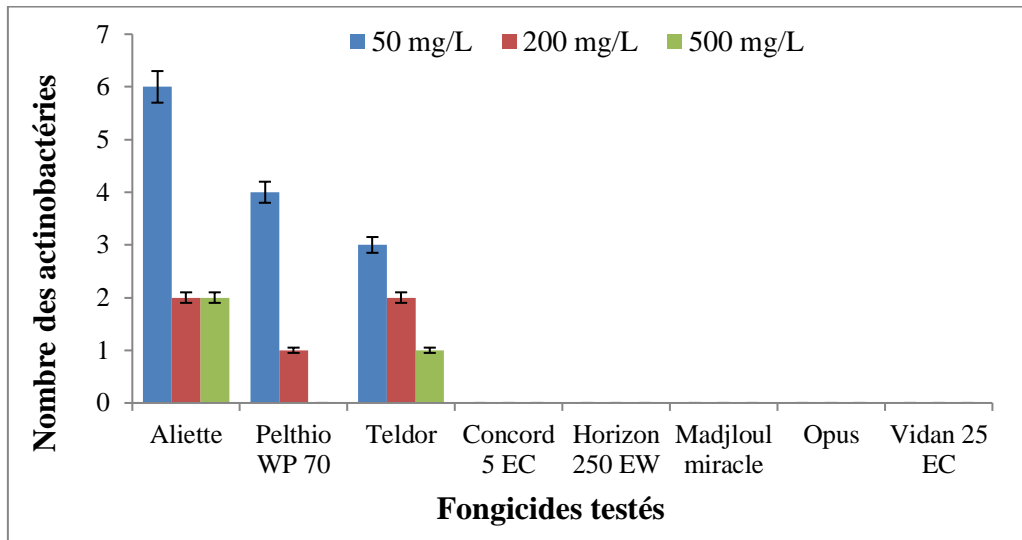


Figure 26: Nombre des actinobactéries capable de dégrader différentes concentrations des fongicides testés.

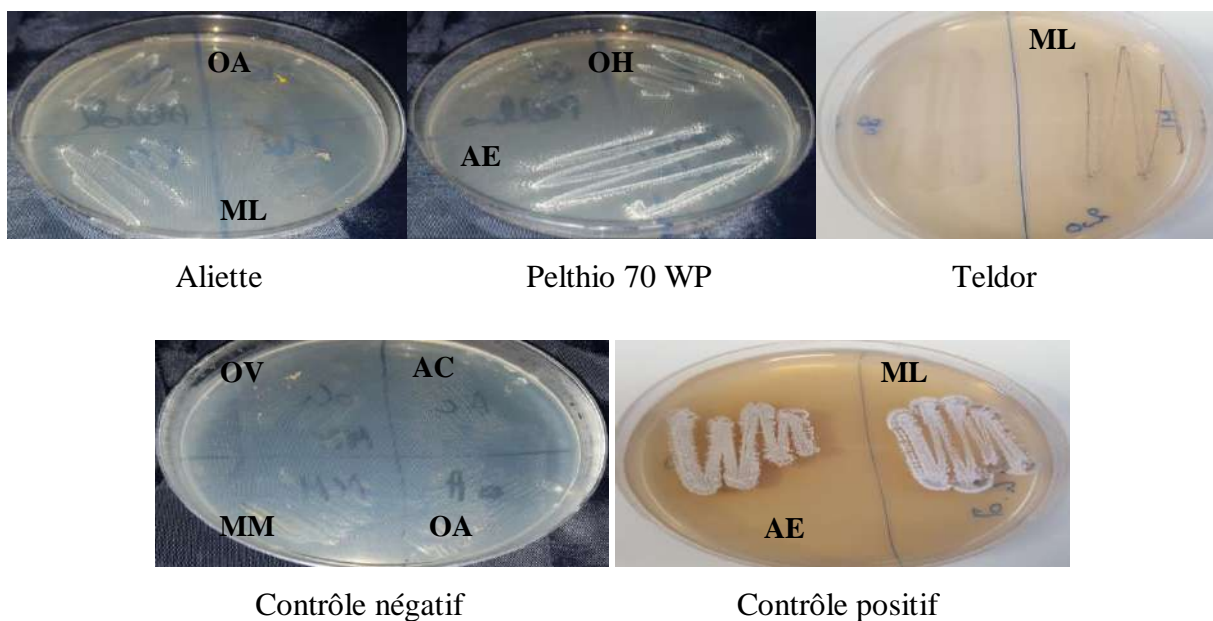


Figure 27: Photographies représentant la croissance des isolats d'actinobactéries sur le milieu minimum additionné des différents fongicides.

3.1.2. Biodégradation des Herbicides

La **figure 28** montre le nombre des actinobactéries capable de croître en présence des deux herbicides testés ; le 2,4-DCP et le Topik 80 EC.

Parmi les 15 souches isolées des STEPs étudiées, seules les 4 souches (soit 26,66%) *Streptomyces* sp. AC, AE, ML (STEP Ibn Ziad) et *Streptomyces* sp. FG (STEP Sidi Merouane) ont pu se développer en présence de la concentration 50 mg/L du 2,4-DCP. En présence de 200 mg/L du 2,4-DCP, la souche ML manifeste une croissance faible. Cependant, aucune souche n'est capable de se développer à la concentration 500 mg/L.

Selon la même figure, il apparaît qu'aucune souche n'est capable de dégrader l'herbicide Topik 80 EC à aucune des concentrations testées.

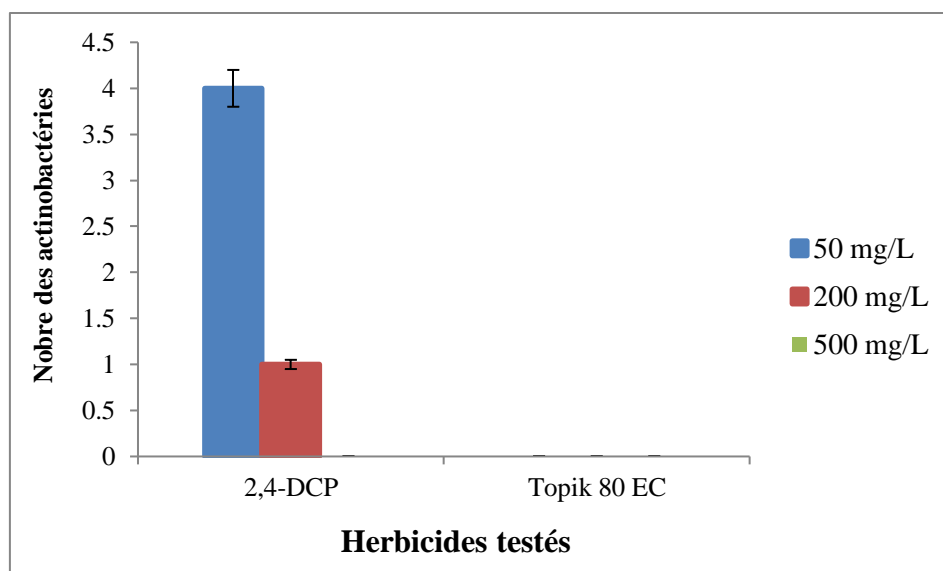


Figure 28: Nombre des actinobactéries capable de dégrader différentes concentrations des herbicides testés.

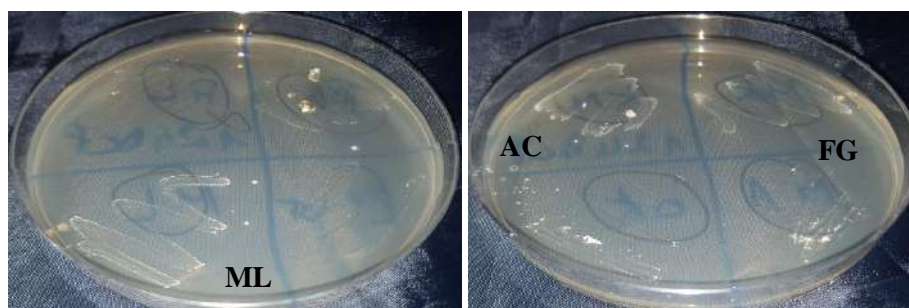


Figure 29: Photographies représentant la croissance des isolats d'actinobactéries sur le milieu minimum additionné du 2,4-DCP.

3.1.3. Biodégradation des insecticides

La **figure 30** montre le nombre des actinobactéries capable de croître en présence de l'un des insecticides suivant : Alphaban 10 SC, Diazinon, Imiguard 20% SL, Rustilan, Tiam, Lambda-cytrin 25 EC et Vapcomic.

Sur les 15 isolats d'actinobactéries, trois souches (soit 20%), sont capable de dégrader l'insecticide Alphaban 10 SC à une concentration de 50 mg/L. Il s'agit des souches *Streptomyces* sp. AG et ML isolées de la STEP d'Ibn Ziad et de la souche *Streptomyces* sp. OF isolée de la STEP de Oued El Athmania. La souche AG peut utiliser cet insecticide à la concentration de 200 mg/L comme unique source de carbone. Toutes les souches sont incapables de croître à la concentration 500 mg/L de l'insecticide Alphaban 20 SC.

La souche *Streptomyces* sp. OB originaire de la boue activée de la STEP de Sidi Merouane est la seule qui peut se développer sur le milieu minimum contenant 50 mg/L de diazinon. Cependant, dans les deux fortes concentrations (200 mg/L et 500 mg/L), cette souche est incapable de croître.

Pour le néonicotinoïde Rustilan, les 2 souches de *Streptomyces* sp. OA et SG qui proviennent de la STEP de Oued El Athmania, ont pu croître sur le milieu minimum compléter par 50 mg/L de cet insecticide.

Deux souches sont capables de dégrader le néonicotinoïde Imiguard soit 20% à une concentration de 50 mg/L. Les souches sont *Streptomyces* sp. OF et SG (STEP Oued El Athmania).

Et enfin, pour le néonicotinoïde Tiam, les 4 souches de *Streptomyces* sp. OB, OH, OV et SG présentent une croissance modérée sur le milieu minimum contenant le Tiam à la concentration 50 mg/L, tandis que la souche de *Streptomyces* sp. OA présente une croissance faible à cette même concentration.

En ce qui concerne les 3 néonicotinoïdes testés, aucune souche d'actinobactéries n'est capable de se développer à la concentration de 200 mg/L et de 500 mg/L.

Les insecticides Lambda-cytrine 25 EC et Vapcomic ne sont pas biodégradables par aucune des souches d'actinobactéries isolées dans cette étude.

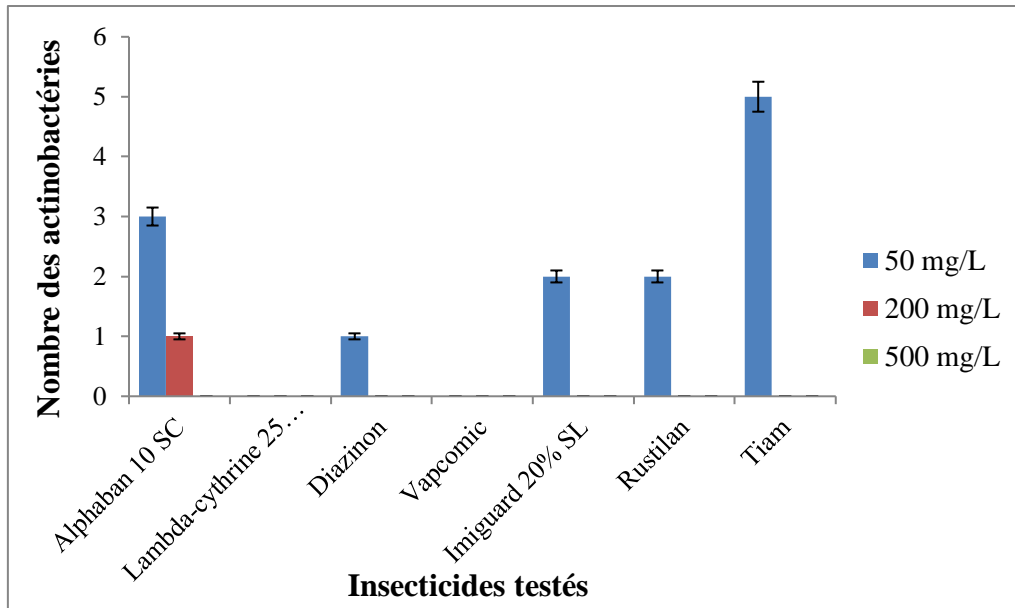


Figure 30 : Nombre des actinobactéries capable de dégrader différentes concentrations des insecticides testés.

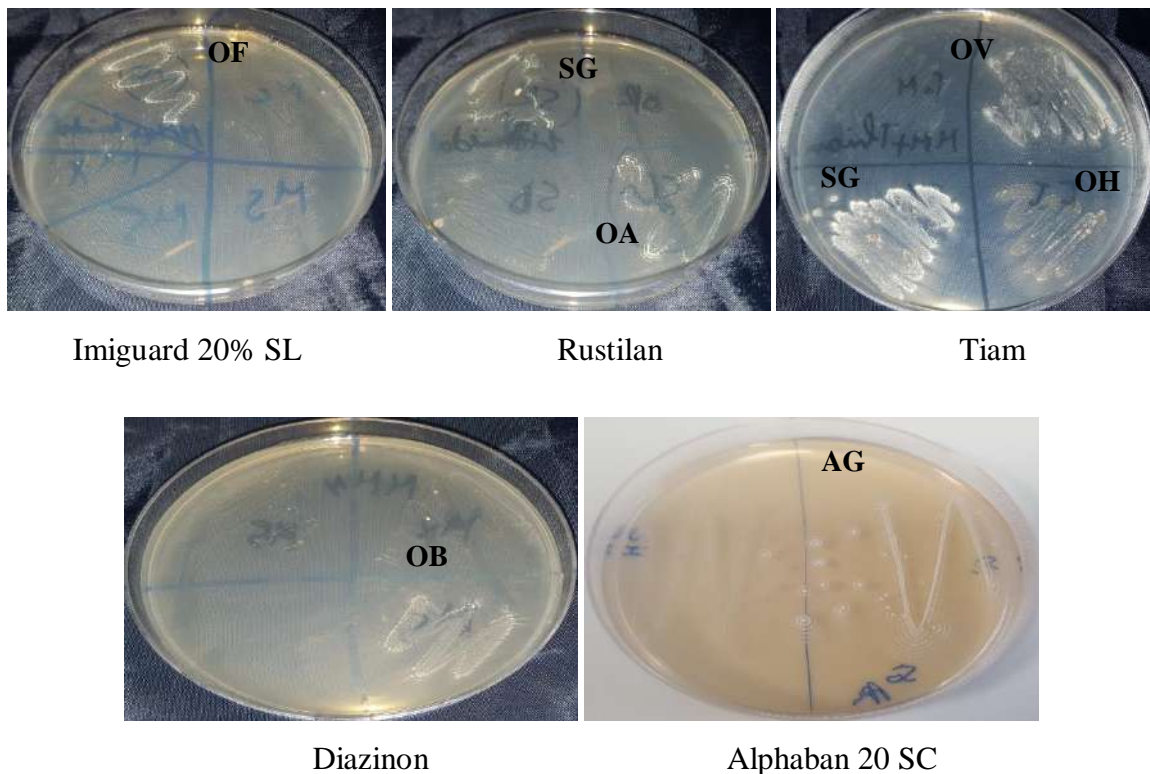


Figure 31: Photographies représentant la croissance des isolats d'actinobactéries sur le milieu minimum additionné des différents insecticides.

3.2. Biodégradation des pesticides 2,4-DCP et thiaméthoxame en milieu liquide

3.2.1. Biodégradation du 2,4-DCP

Les résultats de la cinétique de biodégradation du 2,4-DCP obtenus sont rassemblés dans les **figures 32- 34** et les **tableaux 19 et 20**.

En se basant sur les résultats de criblage préliminaire sur un milieu minimum gélosé (MM1), les 4 souches les plus performantes sont ML, AC, AE et FG. La concentration de 2,4-DCP utilisée dans cette expérience était de 50 mg/L car les 4 souches de *Streptomyces* étaient capables de se développer qu'à cette dose, la concentration de 500 mg/L du 2,4-DCP a complètement inhibé la croissance de ces souches dans l'expérience sur milieu minimum solide. Par ailleurs, la concentration de 50 mg/L est souvent utilisée dans les tests de biodégradation du 2,4-DCP (**Patel et Kumar, 2016 ; Chris Felshia et al., 2020**).

Les résultats présentés dans la **figure 32a** montrent que les souches ML, AE, AC et FG ont été capables de biodégrader respectivement 45%, 32%, 26% et 18% de la concentration initiale du 2,4-DCP comme unique source de carbone en 30 jours. En tenant compte de la stœchiométrie de la réaction, le chlorure libéré a représenté 74%, 42%, 30% et 10% de la quantité totale de substrat consommé, respectivement (**Figure 34**). Le taux de dégradation le plus élevé du 2,4-DCP a été obtenu avec la souche ML tandis que la souche FG était caractérisée par le plus faible potentiel de dégradation (**Tableau 19**). La dégradation du 2,4-DCP a été plus rapide pendant les 7 premiers jours (**Figure 32a**).

On peut voir aussi dans la **figure 32b**, que l'ajout du glucose n'a pas amélioré de manière significative le taux de dégradation du 2,4-DCP, il est de l'ordre de 48%, 32%, 30% et 18% pour les souches ML, AE, AC et FG (**Figure 32b, Tableau 20**). De même pour la biodégradation du 2,4-DCP en présence de l'acétate de sodium, le taux de dégradation n'était pas amélioré, il est de l'ordre de 46%, 32%, 27% et 18% pour les quatre souches (**Figure 32c, Tableau 20**). Cela indique que la dégradation n'était pas entravée par le manque de carbone pour la croissance cellulaire, mais était probablement inhibée par la formation de métabolites intermédiaires toxiques ou non dégradables.

Dans les flacons de contrôle abiotiques, aucune diminution de la concentration du 2,4-DCP ou de la libération de chlorure n'a été observée, révélant que la molécule n'est pas dégradée spontanément (données non présentées), ce qui indique qu'il n'y a pas eu de dégradation abiotique.

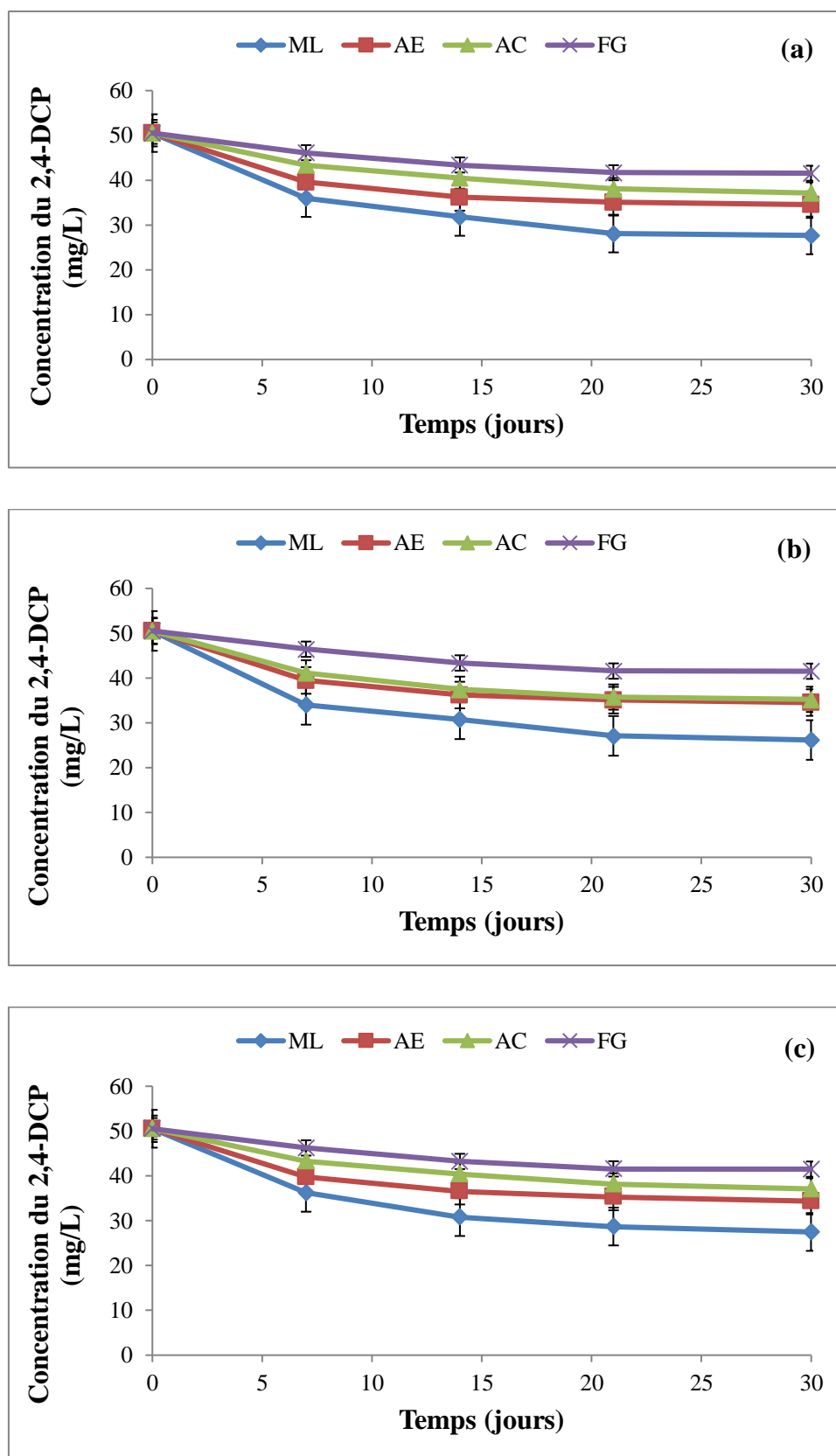


Figure 32 : Biodégradation du 50 mg/L de l'herbicide 2,4-DCP pendant 30 jours d'incubation par les 4 souches d'actinobactéries **(a)** : comme unique source de carbone, **(b)** : en présence de glucose, **(c)** : en présence d'acétate de sodium.

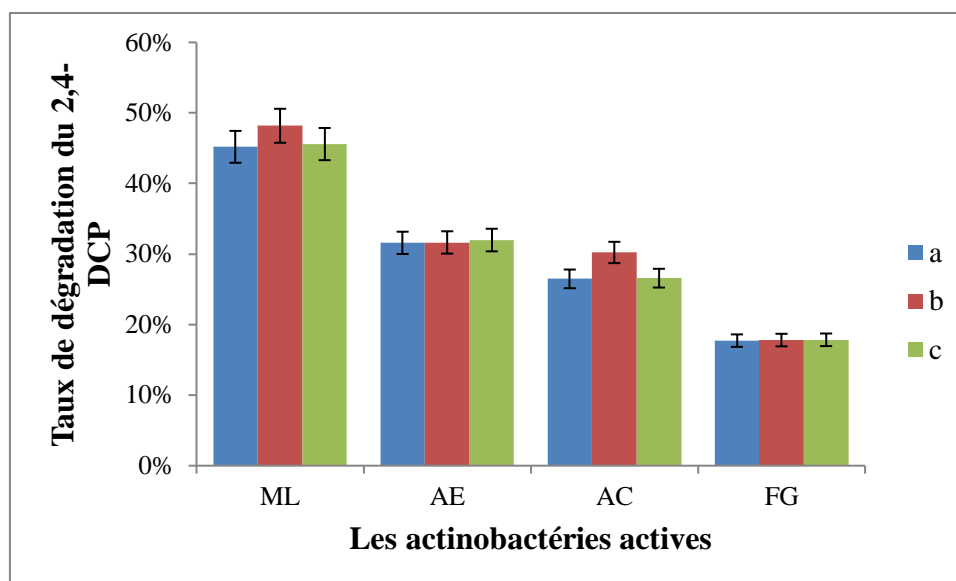


Figure 33: Taux de biodégradation du 50 mg/L du 2,4-DCP après 30 jours d'incubation par les 4 souches d'actinobactéries (a) : comme unique source de carbone, (b) : en présence de glucose, (c) : en présence d'acétate de sodium.

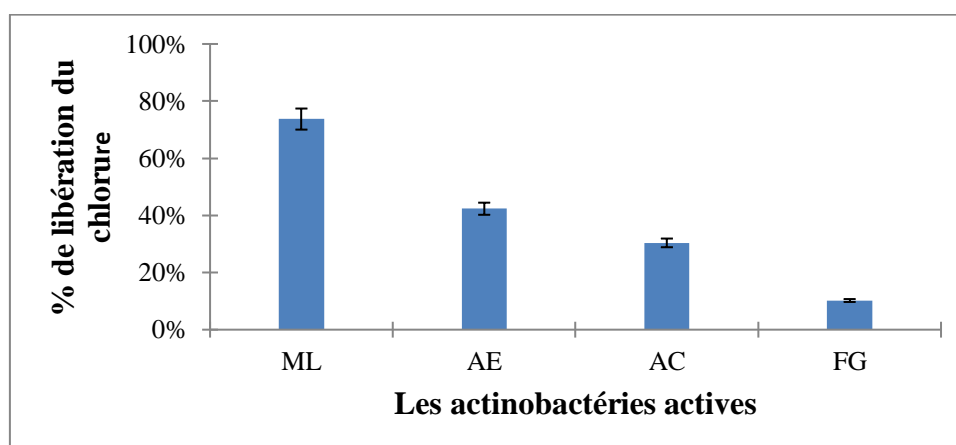


Figure 34 : Pourcentage de libération du chlorure par les actinobactéries actives lors de la biodégradation du 2,4-DCP.

Tableau 19 : Constante de vitesse (k) et temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de la dégradation de 50 mg/L du 2,4-DCP comme seule source de carbone.

La souche	K (j^{-1})	$t_{1/2}$ (jours)
ML	$0,027 \pm 0,00005$	$25,61 \pm 0,051$
AE	$0,017 \pm 0,000005$	$40,75 \pm 0,017$
AC	$0,013 \pm 0,00001$	$53,27 \pm 0,04$
FG	$0,009 \pm 0,000005$	$76,98 \pm 0,046$

Tableau 20: Constante de vitesse (k) et temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de la dégradation de 50 mg/L du 2,4-DCP en présence de co-substrat.

La souche	En présence du glucose		En présence d'acétate de sodium	
	K (j^{-1})	$t_{1/2}$ (j)	K (j^{-1})	$t_{1/2}$ (j)
ML	0,028± 0,0000058	24,74± 0,0057	0,027± 0,0000058	25,66± 0,0057
AE	0,017± 0,000011	40,75 ±0,028	0,017± 0,0000058	40,75± 0,017
AC	0,0160± 0,0000057	43,31 ±0,017	0,013± 0,0000058	53,28± 0,023
FG	0,009 ±0,00000577	76,98 ±0,046	0,009± 0,0000058	76,98± 0,046

Les cinétiques de croissance des souches ML, AE, AC et FG en présence du 2,4-DCP comme unique source de carbone et en présence du glucose et de l'acétate de sodium ainsi que les contrôles biotiques sont représentées dans la **figure 35 et 36 et le tableau 21**.

On remarque que les souches ML, AE, AC et FG sont incapables de croître sur le milieu MM1 exempt de source de carbone (**Figure 35a**). Alors que sur le milieu MM1 additionné du 2,4-DCP comme seule source de carbone, la biomasse a augmenté proportionnellement à la dégradation du 2,4-DCP. Elle est devenue constante lorsque la dégradation a cessé (**Figure 36a**), indiquant l'utilisation du 2,4-DCP dégradé comme source de carbone. Le meilleur taux de croissance été enregistré pour la souche ML avec une DO maximale de 0,42.

Sur le milieu MM1 supplémenté par le glucose ou l'acétate de sodium (**Figure 35b et c**), les souches ML, AE, AC et FG présentent une croissance modérée indiquant l'utilisation de ces sources de carbone pour leurs croissances. Cependant, sur les milieux MM1 supplémentés par le 2,4-DCP et une source de carbone supplémentaire, la croissance cellulaire de *Streptomyces* sp. ML, AE, AC et FG augmente indiquant l'utilisation du 2, 4-DCP aussi pour la croissance.

En comparant la croissance cellulaire des souches lors de la biodégradation du 2,4-DCP comme seule source de carbone et en présence de co-substrat, on constate que l'ajout de sources de carbone supplémentaires n'a pas amélioré de manière significative le taux de croissance cellulaire (**Figure 36 et Tableau 21**).

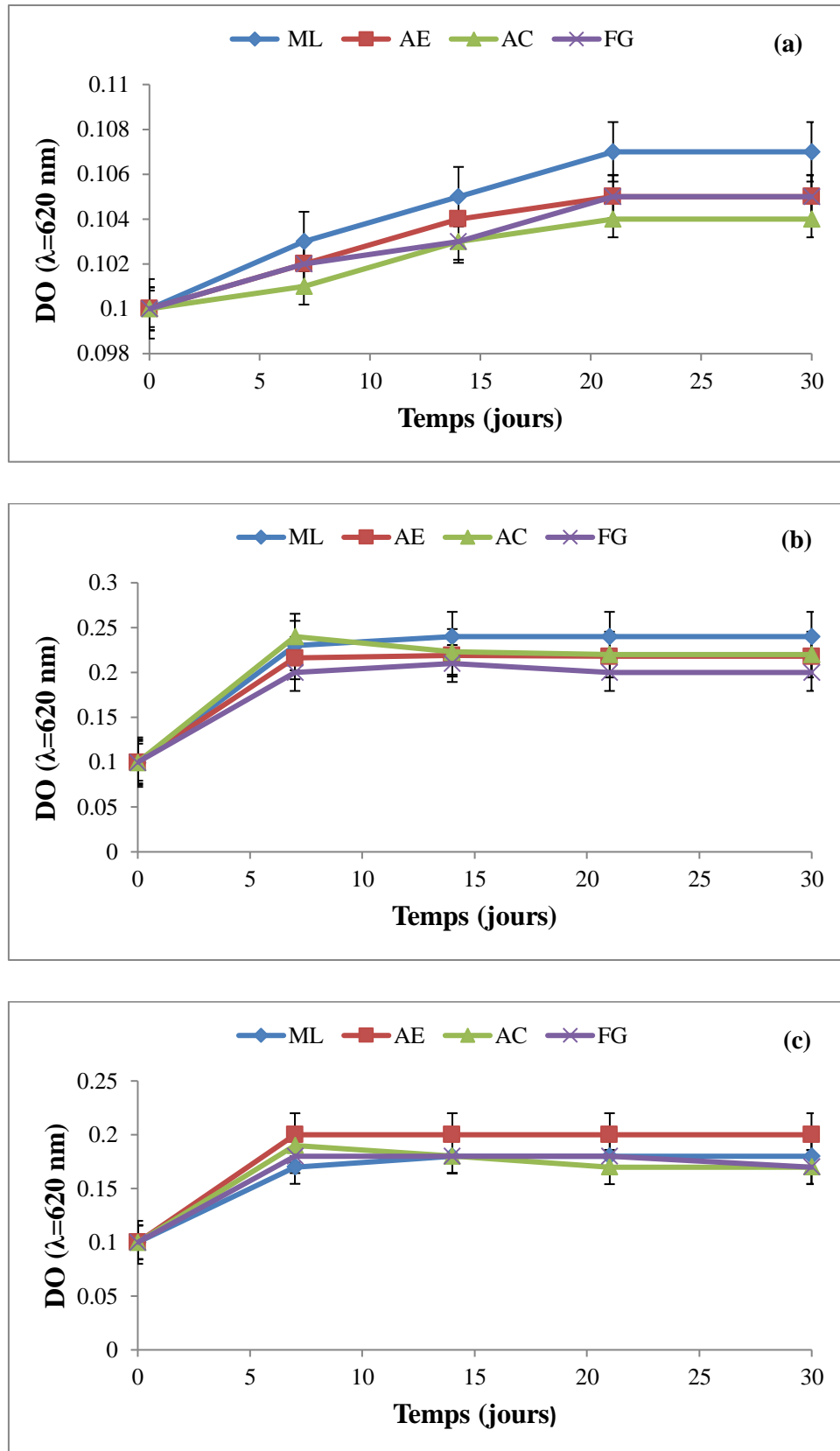


Figure 35: Croissance cellulaire des 4 souches d'actinobactéries dans le MM1 pendant 30 jours (Contrôle biotique) (a) : MM1 sans aucune source de carbone, (b) : MM1 additionné du glucose (10 mM), (c) : MM1 additionné d'acétate de sodium (5,9 mM).

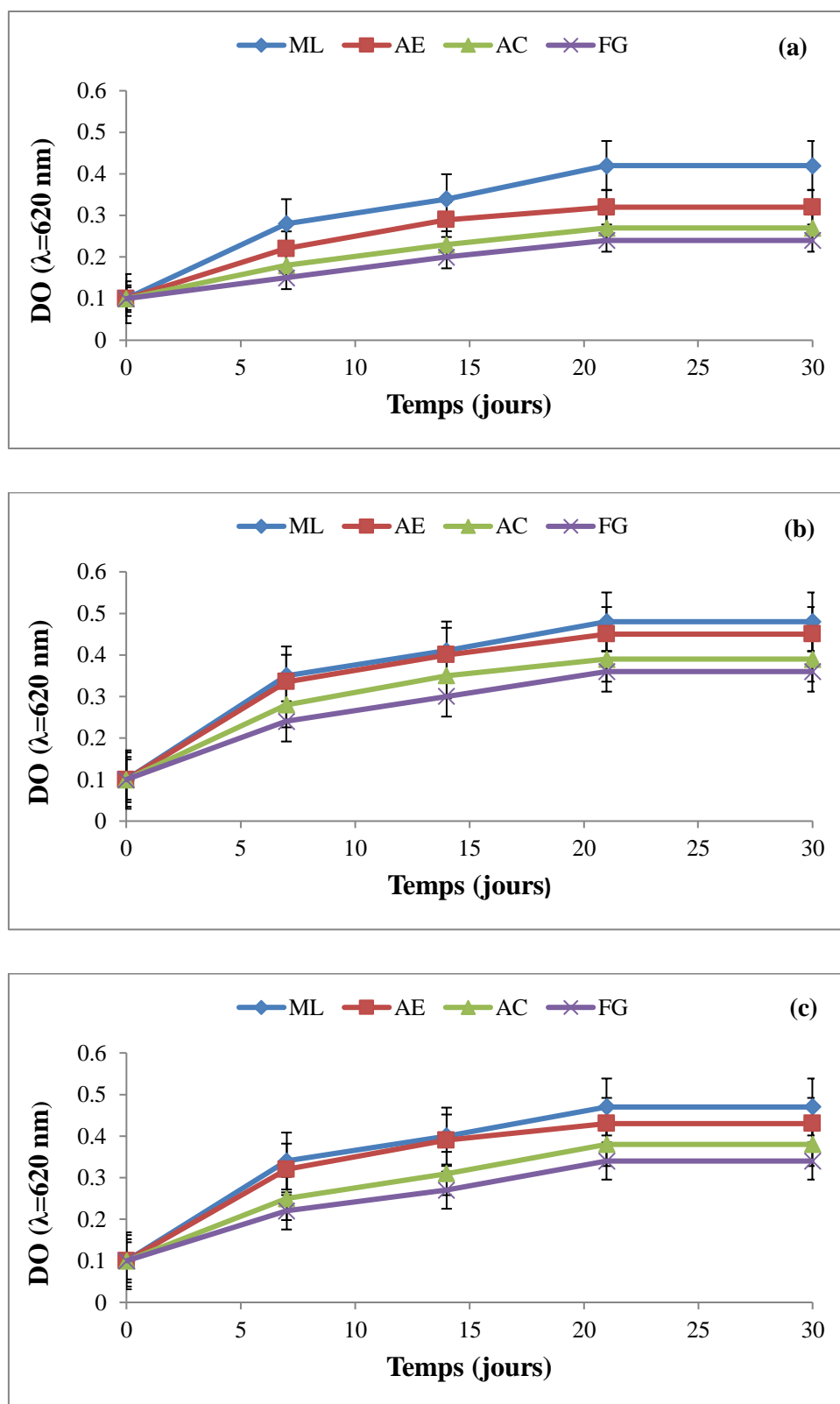


Figure 36: Croissance des 4 souches d'actinobactéries dans le milieu MM1 pendant 30 jours d'incubation. **(a)** : MM1 contenant du 2,4-DCP (50 mg/L) comme seule source de carbone, **(b)**: MM1 contenant 50 mg/L du 2,4-DCP et 10 mM du glucose, **(c)**: MM1 contenant 50 mg/L du 2,4-DCP et 5,9 mM d'acétate de sodium.

Tableau 21: Taux de croissance des 4 souches d'actinobactéries pendant la dégradation du 50 mg/L de l'herbicide 2,4-DCP.

Taux de croissance			
Souche	2,4-DCP comme seule source de carbone	2,4-DCP + glucose	2,4-DCP+ acétate de sodium
ML	0,030 ± 0,00141	0,022 ± 0,00035	0,023 ± 0,00049
AE	0,026 ± 0,00064	0,021 ± 0,00035	0,023 ± 0,00035
AC	0,029 ± 0,00035	0,023 ± 0,00042	0,028 ± 0,00028
FG	0,033 ± 0,00035	0,029 ± 0,00042	0,031 ± 0,00021

3.2.2. Biodégradation du thiaméthoxame

Les résultats des taux de biodégradation du thiaméthoxame obtenus sont rassemblés dans la **figure 37**.

En se basant sur les résultats de criblage préliminaire sur un milieu minimum (MM1) gélosé, 5 souches sont les plus performantes il s'agit de ; OA, OB, OH, OV et SG. Ils ont été étudiées dans un milieu minimum liquide pour explorer leurs potentielles de dégradation.

Les résultats présentés dans la **figure 37** montrent qu'en l'absence d'un substrat alternatif de carbone, les souches OA, OB, OH, OV et SG ont présenté un faible potentiel de dégradation qui est respectivement de l'ordre de 2, 20, 15, 11 et 19 % après 30 jours d'incubation. L'ajout de glucose comme source de carbone supplémentaire a augmenté le taux de dégradation de la souche OV à 84 % en 18 jours alors que le potentiel de dégradation des souches OA, OB, OH et SG n'était pas amélioré, il est de l'ordre de 5%, 22%, 20% et 19%. L'ajout d'acétate de sodium a augmenté le potentiel de dégradation des souches OB et OH à 78 et 69 %. Cependant, le taux de dégradation des souches OA, OV et SG n'était pas amélioré, il est de l'ordre de 14%, 34% et 33%.

Dans les flacons de contrôle abiotique, sans inoculation bactérienne, aucune diminution de la concentration de thiaméthoxame n'a été observée, révélant que la molécule ne s'est pas dégradée spontanément. Ceci indique qu'aucune dégradation photolytique ne s'est produite dans les conditions testées.

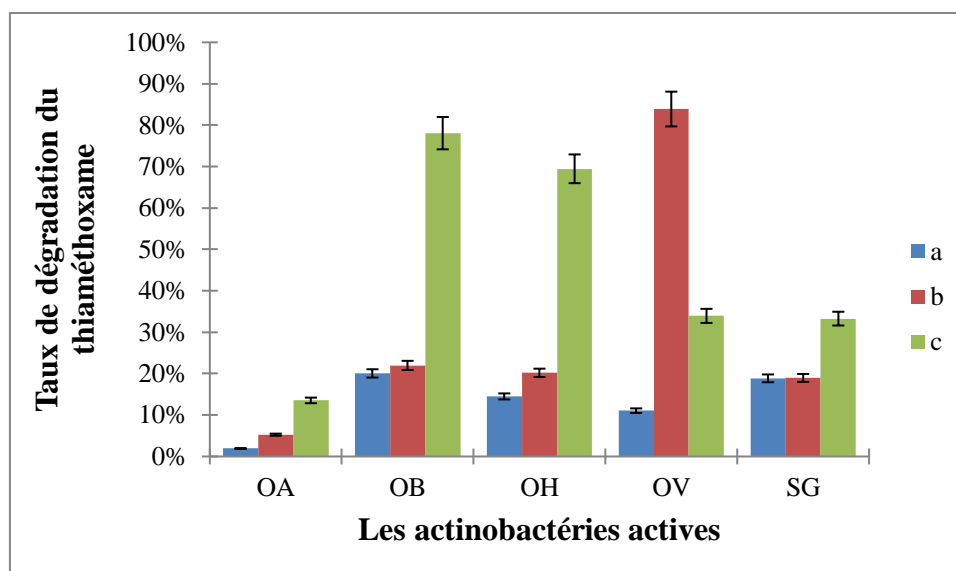


Figure 37: Biodégradation du 35 mg/L de l'insecticide thiaméthoxame par les 5 souches d'actinobactéries **(a)** : comme unique source de carbone (30 jours d'incubation), **(b)** : en présence de glucose (18 jours d'incubation), **(c)** : en présence d'acétate de sodium (18 jours d'incubation).

Les cinétiques de croissance des souches OA, OB, OH, OV et SG en présence du thiaméthoxame comme unique source de carbone et en présence du glucose et de sodium acétate ainsi que les contrôles biotiques sont représentées dans les figures **38 et 39**.

Les résultats représentés dans la **figure 38**, montrent qu'aucune croissance n'a été observée lorsque le thiaméthoxame a été dégradé en tant que seule source de carbone; le même résultat a été observé dans le contrôle biotique sans aucune source de carbone (**Figure 39**).

En présence d'un co-substrat, la biomasse a augmenté proportionnellement à la quantité de thiaméthoxame dégradée (**Figure 38**). La croissance cellulaire des souches de *Streptomyces* sp. OA, OB, OH, OV et SG est liée à la présence d'une source de carbone supplémentaire qui a été utilisée pendant la dégradation du thiaméthoxame. Il est intéressant de noter que la croissance observée pour les souches OB et OH avec de l'acétate de sodium et pour la souche OV avec du glucose était beaucoup plus élevée dans les essais de dégradation du thiaméthoxame qu'avec les sources de carbone supplémentaires seules (**Figure 38 et 39**), révélant que la dégradation du thiaméthoxame contribue également comme source de carbone pour la croissance cellulaire.

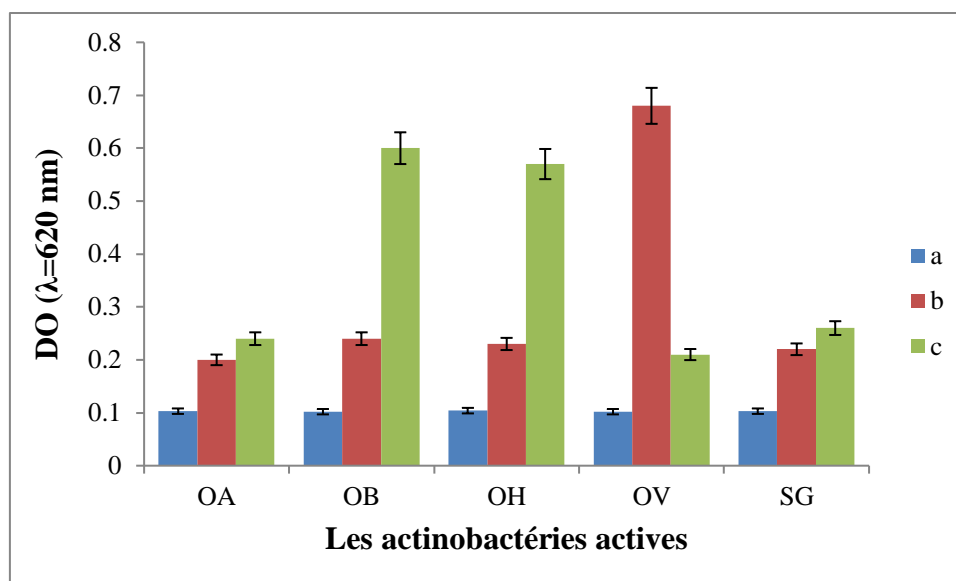


Figure 38: Croissance cellulaire des 5 souches d'actinobactéries dans le milieu MM1. **(a)** : MM1 contenant 35 mg/L du thiaméthoxame comme seule source de carbone (30 jours d'incubation), **(b)**: MM1 contenant 35 mg/L du thiaméthoxame et 10 mM du glucose (18 jours d'incubation), **(c)**: MM1 contenant 35 mg/L du thiaméthoxame et 5,9 mM d'acétate de sodium (18 jours d'incubation).

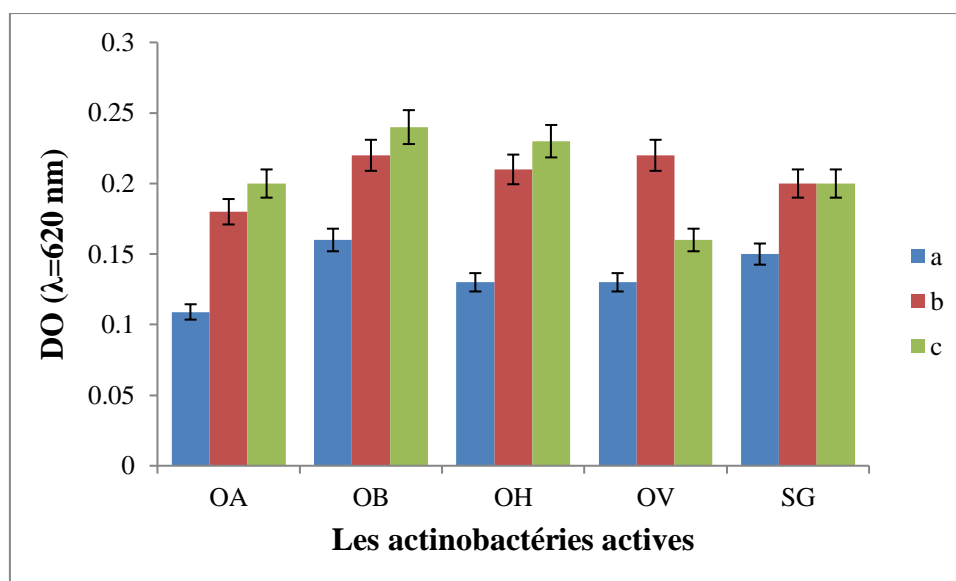


Figure 39: Croissance des 5 souches d'actinobactéries dans le milieu MM1 (Contrôle biotique). **(a)** : MM1 sans aucune source de carbone, **(b)**: MM1 additionné du glucose (10 mM), **(c)** : MM1 additionné d'acétate de sodium (5,9 mM).

Discussion

Il est certain que l'utilisation des pesticides constitue un aspect important de l'agriculture moderne. Ils sont absolument nécessaires pour une gestion économique des parasites et pour des rendements meilleurs. Cependant, l'application de pesticides peut avoir des effets néfastes sur les différentes formes de vie et sur les écosystèmes, selon le degré de sensibilité des organismes et du pesticide. La pratique inadéquate de l'application est l'un des plus importants moyens de pollution, qui a un impact profond non seulement sur les sols des zones où ils sont appliqués. Les pesticides sont entraînés dans les écosystèmes aquatiques par le ruissellement de l'eau et l'érosion des sols. Les pesticides peuvent également dériver pendant l'application et contaminer les systèmes aquatiques. Certains pesticides solubles sont facilement lessivés dans les cours d'eau et les lacs (**Hussaini et al., 2013**). De grands volumes d'effluents contaminés par des pesticides sont produits lors du traitement post-récolte des fruits, où les pesticides garantissent la protection des fruits contre les infestations fongiques et les dommages physiologiques pendant le stockage. La présence de pesticides à des concentrations extrêmement élevées dans les eaux usées urbaines brutes des STEPs a été observée (**Levio-Raiman et al., 2021**). Peu d'informations sont disponibles sur l'interaction des communautés microbiennes avec les pesticides dans les STEPs. Bien que la biodégradation par des micro-organismes résistants soit le processus le plus courant de dissipation des pesticides, certains pesticides exercent un effet délétère sur l'activité de la biomasse et le métabolisme de ces communautés (**Marinozzi et al., 2013**). Dans notre étude nous avons testé la capacité de 15 souches d'actinobactéries isolées des trois STEPs à dégrader 17 pesticides parmi les plus utilisés en Algérie. La plupart des souches d'actinobactéries (13 sur 15) ont révélé leur capacité à se développer en présence de certains des neuf pesticides, comme seule source de carbone dans un milieu minimum gélosé.

Bien que la plupart des pesticides sont souvent appliqués une fois par saison, les fongicides nécessitent des applications plus fréquentes tout au long de l'année, ce qui entraîne une pénétration persistante des résidus de fongicides dans divers compartiments de l'environnement, notamment le milieu aquatique (**Pose-Juan et al., 2015**). Un rapport publié par l'Eurostat en 2018, a révélé une distribution d'environ 173,2 tonnes de fongicides et bactéricides dans l'union européenne (**Brycht et al., 2021**).

Parmi les huit fongicides testés dans notre étude, seulement 3 ont été dégradés par les souches d'actinobactéries isolées de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane.

Le substrat actif fosetyl-Al, est vendu sous le nom commercial Aliette, est un fongicide systémique à base de phosphore inorganique appliqué pour lutter contre divers phycomycètes et ascomycètes phytopathogènes tels que *Phytophthora*, *Plasmopara* et *Phytium*. Le fosétyl-Al est rapidement absorbé par les feuilles et les racines de diverses cultures horticoles. Il agit en bloquant ou en inhibant la germination des spores, le développement du mycélium et la pénétration des agents pathogènes dans les plantes. Le profil toxicologique du fosetyl-Al est inconnu. Lorsque le fosetyl-Al est dissous dans l'eau, il est rapidement dégradé en éthanol et en acide phosphonique (**Buiarelli et al., 2018**). Aucune étude portant sur la dégradation microbienne de ce fongicide n'est disponible. La présente étude rapporte pour la première fois la biodégradation du fosetyl-Al par des actinobactéries. D'un autre part, plusieurs travaux décrivent l'effet du fosetyl-Al sur les microorganismes ont été établis. À titre d'exemple, **Fournier et al., (2020)** ont étudié l'effet du fongicide Previcur composé des deux substrats actifs: propamocarbe (47,3%) et fosétyl-Al (27,7%) sur les populations microbiennes dans des mésocosmes. Ils ont constaté que le fongicide synthétique Previcur n'avait aucun effet sur la diversité des bactéries, des champignons et des protistes. En revanche, la composition des taxons de protistes a été affectée par l'application du Previcur. L'analyse des indicateurs et de la clé de voûte microbienne du sol a montré que la communauté bactérienne, y compris les actinobactéries, a été peu affectée par le pesticide synthétique Previcur, probablement en raison de leur dégradation rapide dans le sol (**Fournier et al., 2020**).

Le fongicide commercial Pelthio 70 WP est basé sur la matière active thiophanate méthyl. C'est un fongicide prometteur, à des effets protectifs, curatifs, systémiques contre un large spectre de pathogènes fongiques notamment : *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Cylindrocladium* (**Soliman et al., 2017**). C'est un membre de la famille benzimidazole, il bloque la division nucléaire pendant la mitose et provoque la déstabilisation des structures cellulaires fongiques. En plus de sa carcinogénèse, le fongicide thiophanate méthyl est considéré comme un perturbateur endocrinien capable d'induire des dommages histopathologiques dans la thyroïde. Également, Il pourrait conduire à l'infertilité (**Zheng et al., 2018**). Le thiophanate méthyl est un composé non volatile, peu soluble, mais il se disperse facilement dans l'eau. Généralement, été détecté dans l'eau naturelle à une concentration de 0,5 µg/L (**Briggs et al., 2002**). Dans les sédiments de rivière aérobie contenant de l'eau, la demi-vie de sa dégradation est de 15 à 20 jours (**Cycoń et al., 2011**). Le thiophanate méthyl se dissipe le plus souvent dans l'environnement par photolyse. Sa dégradation dans le sol est en fonction de la texture, de l'humidité et de la teneur en matière organique. Il est important de

connaître les espèces bactériennes impliquées dans la dégradation de ce fongicide. Dans notre étude, la souche *Streptomyces* sp. YO a montré une bonne croissance sur le milieu MM1 contenant le fongicide commercial pelthio 70 WP (thiophanate méthyle). Tandis que les isolats AE, OH et SG n'ont pu se développer qu'à la concentration la plus faible. Selon nos connaissances, la biodégradation du thiophanate méthyl été rapporté seulement dans l'étude de **Cycoń et al., (2011a)**. Dans un milieu minimum, le fongicide thiophanate méthyl a été dégradé par *Enterobacter* sp. TDS-1 et *Bacillus* sp. TDS-2 isolés d'un sol sablonneux préalablement traité avec le thiophanate méthyl. Les deux souches ont été capables de se développer en présence de 50 mg/L du thiophanate méthyl comme unique source de carbone. TDS-1 et TDS-2 ont dégradé 60 % et 77 % de la dose initiale de thiophanate méthyl, après une période d'incubation de 16 jours **Cycoń et al., (2011a)**.

Teldor est une préparation commerciale de fenhexamide, qui présente une excellente activité contre la pourriture grise causé par *Botrytis cinerea*, ainsi que contre autres mycètes pathogènes des plantes comme : *Monilinia spp*, et *Sclerotinia sclerotium*. Le fenhexamide appartient à la famille des hydroxyanile, il inhibe la biosynthèse de stérol C-4 demethylate en ciblant le 3-Keto réductase, en conséquence l'élongation de tube germinatif et le développement du mycélium sont inhibés (**Debieu et al., 2001**). Il est généralement admis que le fenhexamide n'est pas susceptible de provoquer un cancer chez l'homme. Cependant, dans les cellules cancéreuses du sein humain MCF-7, T47D et MDA-MB-231, il a été découvert que le fenhexamide peut augmenter l'expression du miR-21 avec une activité anti-œstrogénique en aval (**Teng et al., 2013**). Le fenhexamide présente une faible volatilité, et il est un peu soluble dans l'eau, mais il est capable d'atteindre les eaux de surfaces, la concentration environnementale de fenhexamide dans l'eau était de 0,307 à 0,683 mg/L. Il se caractérise par un temps de demi-vie entre 78,4-155 jours dans les systèmes eau/sédiment (**Xu et al., 2017**). Sa vitesse de disparition dans l'eau naturelle semble être lente. Concernant l'impact du fenhexamide sur la microflore du sol, une étude menée par **Borzì et al., (2007)** ont démontré qu'après 7 jours du 1^{ier} traitement du sol, la quantité de fenhexamide (2 µg/g) est réduite par <30 %, cette quantité dégradable augmente dans les 7 jours après le 2^{ème} traitement et atteint 96 %, ce qui indique la possibilité d'existence d'une population microbienne capable de métaboliser cette molécule. Très peu informations existe autour la dégradation du fenhexamide par les microorganismes dans la littérature. Une étude établie par **Abbate et al., (2007)** ont révélé la capacité de *Bacillus megaterium* isolé par enrichissement à partir du sol à dégrader 83 % de la concentration initial du fenhexamide (20 mg/L) au bout de

46 jours. Dans la même étude, ils ont trouvé que la dissipation du fenhexamide dans l'eau de rivière est trop faible. Après 112 jours il reste 80 % du fenhexamide, l'ajout du glucose fait augmenter la population microbienne dans l'eau mais sans réduire la quantité du fenhexamide. Ce qui conduit à conclure que la population microbienne de cette eau n'est pas apte à dégrader le fenhexamide (Abbate *et al.*, 2007). Les résultats obtenus dans ce travail indiquent la capacité des souches de *Streptomyces* sp. ML et YO et *Micrococcus* sp. MM isolées de la STEP d'Ibn Ziad à dégrader ce fongicide.

Depuis près de deux décennies, les fongicides triazoles constituent une classe de pesticides en pleine expansion en raison de leur grande efficacité (Fenner *et al.*, 2013). Ces fongicides inhibent le stérol C-14 α -déméthylation du 24-méthylène-dihydrolanostérol, un précurseur de l'ergostérol, qui est un composant important de la membrane cellulaire des champignons. De nombreuses études ont montré que les fongicides triazoles sont hépato-cancérogène. Leurs résidus ont été fréquemment détectés dans les effluents des stations d'épuration des eaux usées. Les triazoles sont des polluants récalcitrants, caractérisés par sa grande stabilité chimique et sa faible biodégradabilité (Wang *et al.*, 2011). Cette étude le confirme, puisqu'aucun des isolats d'actinobactéries n'a pu se développer en présence de l'un des cinq fongicides triazoles testés (Concord 5 EC, Horizon 25 EW, Madjloul miracle, Opus, Vidan 25). Il n'existe aucun rapport sur la dégradation microbienne des fongicides penconazole et triadimenol. Les études sur la dégradation microbienne de l'époxiconazole, de l'hexaconazole et du tébuconazole sont limitées.

Klebsiella sp. isolé à partir du sol où le soja a été cultivé en continu et traité avec le fongicide Opera[®] (époxiconazole et pyraclostrobine), été capable de se développer en présence de 0,03 % de ce fongicide (Lopes *et al.*, 2010). En outre, le consortium bactérien composé des trois genres; *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* et *Comamonas* isolés à partir de sédiments estuariens, étaient capables de co-métaboliser 10 mg/L d'époxiconazole pendant 10 jours (Alexandrino *et al.*, 2020).

Un isolat de sol, *Penicillium frequentans* HDF-1 était capable de dégrader l'hexaconazole à une concentration de 2 mg/L (Ahmad et Kalam, 2014). Egalement, La souche *Sphingobacterium multivorum* B3 isolée à partir de boues activées a montré une efficacité pour la dégradation de l'hexaconazole. Jusqu'à 85,6% de la concentration initial (50 mg/L) été éliminé au bout de 6 jours à une température de 32,5 °C et un pH de 6,31 (An *et al.*, 2020).

Serratia marcescens B1 isolée du sol est capable de dégrader 94,05% de 200 mg/L de tébuconazole en 8 heures (**Wang et al., 2018**).

Cependant, certains auteurs ont rapporté l'effet de certains fongicides triazoles sur les communautés microbiennes. Selon **Kaziem et al., (2021)**, l'époxiconazole affecte l'abondance des bactéries dans le sol, diminue le nombre de Proteobacteria et augmente le nombre de Firmicutes. **Ju et al., (2017)** ont indiqué que l'utilisation excessive de l'hexaconazole affecte négativement les populations de bactéries fixatrices d'azote et réduit par conséquent la qualité du sol. C'est également le cas pour le fongicide penconazole qui provoque un changement significatif dans la structure de la communauté microbienne du système de biopurification de l'eau (**Marinozzi et al., 2013**). Concernant le tébuconazole, **Bačmaga et al., (2021)** ont rapporté qu'il modifiait la diversité et le nombre de bactéries dans le sol ; en inhibant la croissance des actinobactéries ainsi que leur activité métabolique.

Dans nos investigations, nous avons testé la biodégradation des deux herbicides ; le Topik 80 EC et le 2,4-DCP. Seulement le 2, 4-DCP a été dégradé par les souches d'actinobactéries isolées des STEPs.

Le Topik 80 EC a comme matière active le clodinafop propargyl. Il est utilisé pour le contrôle post émergence des graminées annuelles dans les céréales, y compris *Avena*, *Lolium*, *Setaria*, *Phalaris* et *Alopecurus* spp. Le clodinafop propargyl agit en ciblant l'enzyme acétyl-coenzyme-A-carboxylase, essentielle à la biosynthèse des lipides. L'Organisation mondiale de la santé l'a classé dans la catégorie des toxiques de classe III, il est susceptible d'être cancérogène pour l'homme (**Singh, 2013**). Dans la présente étude, aucun de nos isolats d'actinobactéries n'a été capable de se développer en présence de cet herbicide. La littérature rapporte la capacité de la souche *Pseudomonas* sp. B2 à dégrader 87,14 % à partir d'une concentration initiale de 80 mg/L (**Singh, 2013**). *Bacillus* sp. HT31 et *Bacillus cereus* HT44 ont été capables de dégrader 88,7% et 87,5% du clodinafop propargyl à partir d'un apport initial de 80 mg/L de clodinafop propargyl après 12 et 24 heures (**Ahmed et al., 2017**).

Les chlorophénols sont des xénobiotiques organiques aromatiques ubiquitaires typiques des eaux usées. Ils ont été classés dans la liste des polluants prioritaires de l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) (**Mohammadi et Sabbaghi, 2014**). Le 2,4-DCP est un composé chlorophénique largement utilisé dans l'industrie afin de produire les désinfectants, les antiseptiques, les préservatives et les pesticides (**Czaplicka, 2004**). En particulier, le 2,4-DCP peut provenir de la transformation de l'herbicide 2,4

dichlorophénoxyacétique acide (2,4-D) (**Pascal-Lorber et al., 2012**). Les effets négatifs du 2,4-DCP sur la santé sont bien connus, il a été considéré comme un perturbateur endocrinien (**Zhang et al., 2008**). En outre, Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) à classer le 2,4-DCP comme un cancérigène soupçonné appartenant au groupe des toxicant 2B (**Lurquin, 2016**). Comme le 2,4-DCP est très soluble dans l'eau et présente un potentiel de sorption élevé, il persiste plus longtemps dans l'environnement aquatique (**Gaya et al., 2010**). Dans plusieurs pays, les réglementations environnementales stipulent que la concentration maximale admissible de phénols dans les effluents industriels est inférieure à 1 mg/L. Des concentrations plus élevées de chlorophénols ont été couramment trouvées dans les zones polluées, les niveaux enregistrés variant de 0,15 mg/L à 200 mg/L et même plus (**Al-Khalid et El-Naas, 2017**). Le 2,4-DCP est considéré comme un xénobiotique ubiquitaire dans les eaux usées, ce qui a nécessité leur élimination des eaux usées avant leur rejet dans l'environnement (**Quan et al., 2004**).

Dans notre étude la souche la plus performante est *Streptomyces* sp. ML, elle est capable de dégrader 45% de la quantité fournie de 2,4-DCP (50 mg/L) comme unique source de carbone en 30 jours, avec libération de 74% du chlorure stœchiométrique. Il est connu que la biodégradation peut être altérée par la génération d'intermédiaires toxiques (**Gkorezis et al., 2016**). Ceci est confirmé dans la présente étude lorsque l'ajout de la source de carbone n'améliore pas la dégradation et la croissance cellulaire. Ce résultat est similaire à celui trouvé par **Megharaj et al., (2014)**. Ils ont signalé que le chlore vinylique provenant de la biodégradation du trichloroéthylène inhibe la dégradation du composé parent. De même, **Kwon et al., (2005)** ont trouvé que la biodégradation de l'endosulfan, un insecticide chloré, s'accompagne généralement de la formation de sulfate d'endosulfan, un métabolite plus toxique et persistant.

Il a été signalé que plusieurs microorganismes mésophiles sont capables de dégrader le 2,4-DCP. Selon **Gallizia et al., (2003)**, les microorganismes utilisent plus facilement les composés phénoliques non halogénés que les phénols chlorés car les atomes de chlore rendent les composés aromatiques moins accessibles aux microorganismes. C'est le cas de *Micrococcus* sp. isolé à partir des boues activées, qui a dégradé le phénol jusqu'à une concentration de 500 mg/L en 50 heures, alors que le 2,4-DCP s'est révélé plus récalcitrant. *Micrococcus* sp. à éliminer 883 mg/g et 230 mg/g de 2,4-DCP en 10 jours en utilisant des concentrations initiales de 100 et 200 mg/L. Les mesures de biomasse ont montré une croissance cellulaire, prouvant que le phénol et le DCP sont utilisés comme substrats de

croissance pour *Micrococcus* sp. **Herrera et al., (2008)** ont trouvés qu'un consortium de *Bacillus* a été capable de minéraliser jusqu'à 85% de la concentration initiale de 2,4-DCP (400 mg/L) pendant 21 jours avec libération de 4,7 mM de chlorure. *Bacillus endophyticus* CP1R isolé à partir des boues activées collectées de la STEP des effluents des industries de teinture à montrer une efficacité maximale de biodégradation qui a été atteint 100% pour 50 mg/L de 2,4-DCP à des conditions optimisées de pH (7,36), de température (35,1°C) et une concentration de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ de 1,4 g/L (**Patel et Kumar, 2016**). Dans les travaux de **Korobov et al., (2017)**, l'actinobactérie *Rhodococcus erythropolis* 17S, isolé d'un sol contaminé par du phénol et ses dérivés, pouvait dégrader le phénol et le 2,4-DCP (100 mg/L) comme seule source de carbone. La teneur en phénol de la culture a diminué de 55 % au quatrième jour, tandis que pour le 2,4-DCP, une dégradation de 53 % a été observée après 22 jours d'incubation. Une autre étude menée par **Al-Khalid et El-Naas, (2017)** a rapporté l'élimination du 2,4-DCP par *Pseudomonas putida* pré-adaptée au 2,4-DCP immobilisée dans une matrice de gel PVA. Il a été montré que les cellules immobilisées dégradaient une concentration initiale de 70,5 mg/L de 2,4-DCP avec un taux de dégradation de 40,1 mg/L/h. *Bacillus licheniformis* SL10 (MTCC 25059) isolée d'une STEP a montré une tolérance à 150 mg/L de 2,4-DCP (**Chris Felshia et al., 2020**).

Concernant les insecticides, parmi les 7 testés, seulement 5 insecticides appartient aux trois familles différentes ont été dégradé par les souches d'actinobactéries isolées des trois STEPs.

Les insecticides pyréthroïdes synthétiques ont été introduits à grande échelle pour lutter contre les insectes nuisibles et les vecteurs de maladies. Ils ciblent le système nerveux central des organismes cibles et non cibles. Leur principal mécanisme d'action est l'interaction avec les canaux sodiques voltage-dépendants des neurones (**Riar, 2014**). Des études ont démontré que les pyréthroïdes pouvaient avoir des effets tératogènes, mutagènes, neurotoxiques et perturbateurs endocriniens. Également, ils sont particulièrement toxiques pour les organismes aquatiques et leur demi-vie dans l'eau est 50 jours (**Feo et al., 2010; Hua et Relyea, 2019**). L'ambdacyhalothrine et l' α -cyperméthrine sont des types de pyréthroïdes synthétiques.

Les souches d'actinobactéries caractérisées dans la présente étude n'ont pas été capables de dégrader l'insecticide commercial Lambda-cyhalothrine 25 EC dont la matière active est lambda-cyhalothrine. Par contre, plusieurs microorganismes ont été décrits comme des dégradateurs de cet insecticide. **Ghumro (2017)** a rapporté la dégradation de la lambda-cyhalothrine par *Mesorhizobium* sp. S1B et *Bartonella* sp. S2B, ces souches ont été capables d'éliminer 29% et

40% de la concentration initial (250 mg/L) pendant 20 jours. *Aspergillus* sp. CBMAI 1829, *Acremonium* sp. CBMAI 1676, *Microsphaeropsis* sp. CBMAI 1675 et *Westerdykella* sp. CBMAI 1679 ont été également capables de dégrader la lamda-cyhalothrine (**Birrolli et al., 2018**).

Dans cette étude, *Streptomyces* sp. AG, ML et OF ont pu dégrader l'insecticide commercial Alphaban 20 SC dont la matière active est α -cyperméthrine. Ce résultat est similaire à celui de **Lin et al., (2011)** qui ont réussi à isoler à partir des boues d'eaux usées, la souche *Streptomyces* HU-S-01 capable d'éliminer complètement la cyperméthrine et son métabolite l'acide 3-phénoxybenzoïque en 96 h à la concentration de 50 mg/L. De plus, *Stenotrophomonas maltophilia* OG2 utilisait l' α -cyperméthrine comme seule source de carbone pour leur croissance, et sa dégradation a augmenté en présence du glucose. En l'absence et en présence de glucose, l'efficacité de dégradation de l' α -cyperméthrine (100 mg/L) par OG2 était de 69,9 % et 81,3 %, respectivement (**Gür et al., 2014**). *Bacillus* sp. SG2 isolée d'un champ agricole contaminé par la cyperméthrine a dégradé le composé jusqu'à 81,6 % en 15 jours (**Pankaj et al., 2016**). Environ 80% de la dose initiale de cyperméthrine (50 mg/L) a été dégradée en 15 jours par *Bacillus thuringiensis* SG4 (**Bhatt et al., 2020**).

En ce qui concerne les insecticides organophosphorés, cette famille représente la majorité du marché mondial des pesticides, et la contamination des sols et des systèmes d'eaux a été signalée dans le monde entier en raison de l'utilisation à grande échelle de ces composés. Ils présentent une toxicité modérée à extrêmement aiguë car ils inhibent de manière irréversible l'acétylcholinestérase dans les synapses du système nerveux central des insectes cibles, ainsi que des organismes non ciblés, y compris les vertébrés inférieurs et les humains, ce qui entraîne une perte subséquente de la fonction nerveuse et finalement la mort (**Briceño et al., 2016**). En outre, l'exposition chronique à faible dose aux organophosphorés peut entraîner le développement de maladies neuromusculaires et de cancers (**Yair et al., 2008**).

Le diazinon est un insecticide organophosphoré largement utilisé dans l'industrie de l'arboriculture fruitière et comme ectoparasiticide dans l'industrie de l'élevage. Dans l'environnement, le diazinon semble être mobile et persistant, avec une solubilité dans l'eau de 60 mg/L et une demi-vie de l'ordre de 12 à 138 jours (**Briceño et al., 2016**). Dans notre étude, la souche *Streptomyces* sp. OB isolée de la boue activée de la STEP de Sidi Merouane été capable de se développer en présence du diazinon. Cependant, plusieurs auteurs ont rapporté la biodégradation de cet insecticide. *Streptomyces* spp. a été capable d'éliminer jusqu'à 32% du diazinon à une concentration de 50 mg/L après 96 h d'incubation (**Briceño et al., 2016**).

D'autres bactéries, comme *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens* et *Pseudomonas* sp. ont été capables de se développer en présence du diazinon (50 mg/L) comme seule source de carbone, et 80-92% de la dose initiale d'insecticide était dégradée par les isolats et leur consortium en 14 jours (Cycoń *et al.*, 2009). *Serratia marcescens* DI101 isolée d'un sol agricole par une technique d'enrichissement a été capable de dégrader complètement 50 mg/L de diazinon en 11 jours (Abo-Amer, 2011). *Stenotrophomonas maltophilia* une bactérie dégradant le diazinon, isolée des sols, pouvait se développer sur le milieu minimum complété par le diazinon comme principale source de carbone (50 mg/L) (Pourbabae *et al.*, 2018).

L'insecticide abamectine commercialement connue sous le nom de Vapcomic, il est produit à partir de *Streptomyces avermitili*. Il est largement utilisé contre un large spectre d'endoparasites et d'ectoparasites chez les animaux, et contre différents parasites phytophages des cultures, des légumes ornementaux et des fruits. La cible principale des avermectines est le système nerveux des parasites. Elles interagissent avec les canaux GluCl (glutamate-gated chloride) et GABA (acide gamma-amino-butérique), dans les arthropodes et les nématodes, provoquant un fort influx de chlorure, ce qui entraîne une perturbation de la transmission des signaux neuronaux (Shinawar *et al.*, 2010). Plusieurs travaux ont démontré que l'abamectine a des effets négatifs sur la communauté microbienne du sol, une diminution considérable de la biomasse microbienne a été observée suite à l'exposition à l'abamectine (da Rocha *et al.*, 2020). D'autres recherches indiquent la résistance de certaines bactéries à cet insecticide et ont montré leurs puissantes capacités de dégradation. La souche LYH de *Bacteroidetes* endosymbionte, isolée de boues activées, été capable de dégrader 85,6 % de l'abamectine (250 mg/L) à pH 7 (Li *et al.*, 2008). *Burkholderia cepacia*-like GB-01 peut dégrader plus de 90% de l'abamectine fournie à une concentration de 50 mg/L et 100 mg/L dans un milieu liquide minimum pendant 30 h et 36 h respectivement (Shinawar *et al.*, 2010). *Stenotrophomonas maltophilia* ZJB-14120 a été capable de dégrader 84,82% de l'abamectine à une concentration initiale de 200 mg/L dans une période d'incubation de 48 h (Wang *et al.*, 2015). Les souches d'actinobactéries isolées des trois STEPs n'ont montré aucune croissance en présence de cet insecticide.

les néonicotinoïdes, sont des insecticides chimiques dérivés de la modification de la nicotine (Sánchez-Bayo *et al.*, 2016). Cette classe d'insecticides partage un mode d'action similaire ; ils agissent sur le système nerveux central des insectes en tant qu'agonistes des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs) modulant ou bloquant la transmission de l'information provoquant la paralysie et la mort de l'insecte (Zhang *et al.*, 2019). Les

néonicotinoïdes sont des molécules relativement petites et sont très solubles dans l'eau (**Bonmatin et al., 2015**). Jusqu'à présent, plusieurs auteurs se sont alarmés de l'impact négatif des néonicotinoïdes sur les organismes non ciblés (**Wood et Goulson, 2017**). Ils peuvent provoquer une toxicité reproductive et neurologique, une immuno-toxicité et une hépatocarcinogénicité (**Han et al., 2018**).

Dans notre étude, les trois insecticides néonicotinoïdes sont dégradés à la faible concentration testée par les souches de *Streptomyces* isolées des trois STEPs. La souche *Streptomyces* sp. SG, a montré un large éventail de dégradation des trois néonicotinoïdes.

Streptomyces sp. OA et SG ont été capable de croître sur le milieu MM1 contenant 50 mg/L l'insecticide Rustilan (matière active : acétamipride). De même, la biodégradation de l'acétamipride a été élucidée dans le travail de recherche de **Guo et al., (2019)** qui ont démontré la capacité de *Streptomyces canus* CGMCC 13662 isolée du sol à dégrader 70,0 % de l'acétamipride (200 mg/L) en 48 h. Plusieurs études de biodégradation de l'acétamipride par des bactéries ont été décrites dans la littérature. Une étude menée par **Yang et al., (2013)** ont montrée la biodégradation d'acétamipride par *Pigmentiphaga* sp. D-2. Cette souche a été isolée d'un bassin de traitement des eaux usées dans une usine de fabrication d'acétamipride. Dans une culture liquide, la souche D-2 est capable de dégrader 0,22 mM d'acétamipride en 72 heures. Une autre étude a rapporté la capacité de *Pigmentiphaga* sp. AAP-1, isolée d'un sol contaminé a métabolisé 100 mg/L d'acétamipride en 2,5 heures comme seule source de carbone et d'azote (**Wang et al., 2013a**). De plus, *Ochrobactrum* sp. D-12 été capable de dégrader complètement l'acétamipride avec des concentrations initiales de 0-300 mg/L en 48 heures (**Wang et al., 2013b**). La rhizobactérie *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969, a dégradé 34,7 % de 2 mg/L de l'acétamipride en 120 heures dans une eau de surface (**Sun et al., 2017**).

Pour l'insecticide imidaclopride, *Streptomyces* sp. OF et SG ont pu le dégrader. Dans un bouillon de soja tryptique contenant 1 g/L de succinate et de D-glucose. *Leifsonia* sp. PC-21 a dégradé 37 % à 58 % de 25 mg/L d'imidaclopride à 27°C pendant trois semaines d'incubation (**Anhalt et al., 2007**). Une autre étude effectuée par **Hu (2013)** a démontré qu'environ 67,67 % de l'imidaclopride (50 mg/L) a été dégradé en 48 heures par *Ochrobactrum* sp. Le consortium bactérien : *Bacillus* sp., *Brevibacterium*, *Pseudomonas putida* F1, *Bacillus subtilis* et *Rhizobium* sp. ont été capables de dégrader 25,36-45,48% de la quantité initiale d'imidaclopride (25 mg/L) dans un milieu limité en carbone (**Sabourmoghaddam et al.,**

2015). La souche *Mycobacterium* sp.MK6 a transformé 99,7 % de l'imidaclopride ajouté (150 mg/L) en moins de 15 jours (Kandil *et al.*, 2015).

Parmi les néonicotinoïdes testés, le thiaméthoxame est le plus dégradé (par 5 souches de *Streptomyces* sp). Par conséquent, été choisi pour étudier sa dégradation en milieu liquide. Les études portées sur sa dégradation restent limitées. Dans la présente étude, *Streptomyces* sp. OV a été capable de dégrader 84% de la concentration initiale de thiaméthoxame (35 mg/L) en présence de 10 mM glucose après 18 jours d'incubation. Les souches *Streptomyces* sp. OB et OH dégradent respectivement 78% et 69% de la quantité de thiaméthoxame en présence d'acétate de sodium. Le résultat obtenu dans cette étude est similaire à celui trouvé par Pandey *et al.*, (2009); ils ont trouvé que *Pseudomonas* sp. G1 isolée du sol était incapable de dégrader le thiaméthoxame comme seule source de carbone, alors qu'en présence de 10 mM glucose, 70% de la concentration initiale de thiaméthoxame (50 mg/L) a été éliminée pendant 14 jours. La disponibilité d'une source de carbone supplémentaire augmente la biomasse de cellules viables et l'activité microbienne (Ortiz *et al.*, 2013). Plusieurs études montrent que la dégradation des pesticides est plus efficace en présence d'un co-substrat et que le co-métabolisme est un mécanisme principal pour la dégradation des pesticides (Huang *et al.*, 2018). Par exemple, Zhao *et al.*, (2009) ont rapporté que la dégradation de l'insecticide thiaclopride par *Stenotrophomonas maltophilia* CGMCC 1.178 était améliorée 10 fois en présence de saccharose comme source de carbone. En outre, il a été rapporté que le pesticide chlorpyrifos était complètement dégradé par *Bacillus pumilus* C2A1 après 3 jours en présence de glucose (Anwar *et al.*, 2009).

D'autre part, l'ajout d'acétate de sodium n'améliore que marginalement l'élimination du thiaméthoxame par les souches OA et SG (15% et 33%). De même, Gangireddygar *et al.*, (2017) ont obtenu un résultat similaire dans leur étude; ils ont trouvé que l'ajout d'une source de carbone améliore légèrement la dégradation de l'insecticide quinalphos par *Bacillus thuringiensis*.

De façon générale, la dégradation microbienne du thiaméthoxame a été moins rapportée et limitée à quelques microorganismes seulement. Zhou *et al.*, (2013) ont rapporté que *Ensifer adhaerens* TMX-23 isolée de la rhizosphère a dégradé 87 % des 200 mg/L de thiaméthoxame comme source unique de carbone et d'azote après 20 jours. *Bacillus aeromonas* IMBL 4.1 et *Pseudomonas putida* IMBL 5.2 ont dégradé 45,28 et 38,23 % du thiaméthoxame (50 mg/L) en tant que seule source de carbone en 15 jours d'incubation, respectivement (Rana *et al.*, 2015). Une nouvelle étude a montré que le champignon de la pourriture blanche *Phanerochaete*

chrysosporium dégradait 49 % et 98 % de 10 mg/L de thiaméthoxame après 15 jours et 25 jours d'incubation, respectivement (**Chen et al., 2021**).

Dans cette étude nous avons montré que les souches d'actinobactéries isolées de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane peuvent dégrader différents pesticides, donc peuvent participer pleinement à l'activité de la communauté microbienne dans les STEPs de manière significative.

Il est très connu que les actinobactéries jouent des rôles écologiques importants, notamment dans le recyclage des substances et la dégradation de polymères complexes. La diversité physiologique des actinobactéries permet la production d'un grand nombre de molécules bioactives, y compris les enzymes. Dans l'environnement, le potentiel biotechnologique des actinobactéries a été démontré par leur capacité à éliminer les polluants organiques et inorganiques. Cette capacité est la raison pour laquelle les actinobactéries ont reçu une attention particulière en tant que candidats pour la bioremédiation, qui a gagné une importance en raison de la libération généralisée de contaminants dans l'environnement (**Alvarez et al., 2017**).

Certaines recherches ont montré que, spécifiquement, les actinobactéries du genre *Streptomyces* ont la capacité de dégrader les pesticides (**Briceño et al., 2012**). Cela est en accord avec notre étude, qui montre la capacité de 12 souches d'actinobactéries appartenant au genre *Streptomyces* à dégrader plusieurs classes de pesticides.

L'utilisation de ces souches d'actinobactéries indigènes pour la bioremédiation des eaux usées est une approche attrayante, car ces microorganismes sont déjà adaptés à l'habitat. En plus, les souches de *Streptomyces* peuvent être utilisées pour inoculer les sols contaminés par les pesticides en raison de leur mode de croissance mycélien, de leur taux de croissance relativement rapide, de leur colonisation de substrats semi-sélectifs et de leur capacité à être manipulées génétiquement. Un autre avantage est que la masse hyphale végétative de ces microorganismes peut se différencier en spores qui aident à la propagation et à la persistance ; les spores sont un stade semi-dormant du cycle de vie qui peut survivre dans le sol pendant de longues périodes et conférer une résistance aux faibles concentrations de nutriments et à la disponibilité de l'eau (**Benimeli et al., 2007; Briceño et al., 2012**).

4. Biodégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11

4.1. Cinétique de biodégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11

Des colonies préalablement cultivées sur la gélose nutritive ont été inoculées dans des milieux minimum (MM2, MM3 et MM4) supplémentées avec 10, 87 mg/L du thiaméthoxame comme unique source de carbone et d'azote (MM3), ou unique source de carbone et de soufre (MM4), ou comme unique source de carbone (MM2) et en présence de 5,9 mM d'acétate de sodium (pour le milieu MM2). L'expérience suivie pendant 30 jours, montre que la souche *L. portucalensis* F11 été capable de biotransformer 41% et 35% de la quantité du thiaméthoxame fournie au tant que seule source de carbone-azote et également comme source de carbone-soufre, respectivement. La souche *L. portucalensis* F11 été capable d'éliminer en 8 jours la quantité initiale de 10,87 mg/L du thiaméthoxame, en présence l'acétate et en 30 jours en son absence (**Figure 40**).

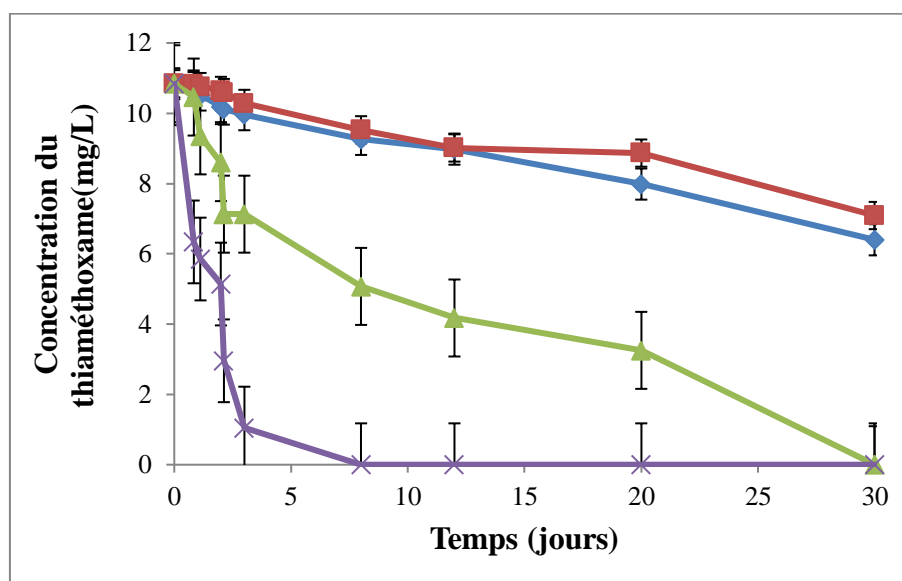


Figure 40 : Biodégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11 à la concentration de 10,84 mg/L pendant 30 jours d'incubation, en tant que : (◆) seule source de carbone et d'azote ; (■) seule source de carbone et de soufre ; (▲) seule source de carbone ; et (×) avec alimentation périodique en acétate de sodium (5,9 mM).

L'effet de la concentration initiale du thiaméthoxame sur la capacité de dégradation de la souche *L. portucalensis* F11 a également été étudié. Les expériences ont été réalisées à la fois avec le thiaméthoxame comme seule source de carbone et avec une alimentation périodique en acétate de sodium comme source supplémentaire de carbone. Dans les expériences avec le thiaméthoxame comme seule source de carbone, les taux de dégradation étaient de 43%, 29%

et 23% à des concentrations initiales de thiaméthoxame de 37,4 mg/L ; 67,64 mg/L et 128,76 mg/L, respectivement (**Figure 41a**). La dégradation du thiaméthoxame diminue fortement avec l'augmentation de sa concentration. Dans les expériences avec supplémentation de l'acétate de sodium, une élimination complète s'est produite à la concentration de 37,4 mg/L de thiaméthoxame. À des concentrations plus élevées (67,64 mg/L et 128,76 mg/L), la dégradation n'est pas complète, elle est respectivement de 80% et 48% (**Figure 41b**). La comparaison des résultats obtenus dans les cultures supplémentées avec 10,87 mg/L ; 37,4 mg/L ; 67,64 mg/L et 128,76 mg/L de thiaméthoxame avec et sans supplémentation en acétate, révèle qu'il y a un effet positif de l'addition d'une seconde source de carbone à la dégradation du thiaméthoxame. À la fin des expériences, les cellules de *L. portucalensis* F11 étaient encore viables, comme l'a montré l'ensemencement des cultures sur la gélose nutritive (**Figure 42**). Dans les essais de contrôle non inoculés et dans le contrôle inoculé avec *L. portucalensis* F11 autoclavé, aucune diminution de la concentration de thiaméthoxame n'a été observée; ceci indique que ni l'adsorption ni la dégradation photolytique n'ont eu lieu dans les conditions testées.

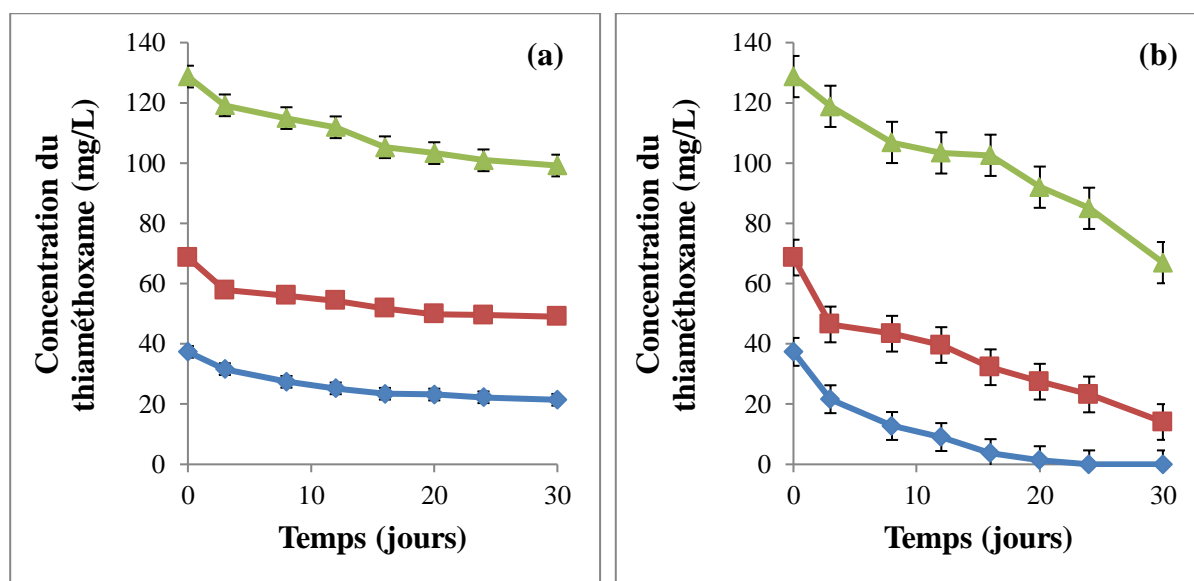


Figure 41 : Biodégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11 aux concentrations : 37,34 mg/L (◆), 68,64 mg L (■) et 128,72 mg/L (▲) pendant 30 jours d'incubation. (a) comme seule source de carbone et (b) avec une alimentation périodique en acétate de sodium (5,9 mM).



Figure 42 : Photographie de la souche *L. portucalensis* F11 cultivé sur le milieu gélose nutritive.

Les caractéristiques cinétiques de la biodégradation du thiaméthoxame peuvent fournir des informations utiles concernant l'efficacité et la faisabilité du processus de dégradation. Les données de dégradation obtenues à partir des résultats expérimentaux ont été analysées en utilisant l'équation du modèle cinétique de premier ordre : $C = C_0 e^{-kt}$. Où C_0 et C_t représentant la concentration initiale de thiaméthoxame (mg/L) et la concentration de thiaméthoxame à t (jours) dans le milieu, respectivement. K représente la constante de vitesse de biodégradation et $t_{1/2}$ est le temps où la concentration initiale été diminué de la moitié. Les paramètres cinétiques sont présentés dans les **Tableaux 22** et **23**.

Tableau 22 : Paramètres cinétiques de la biodégradation du thiaméthoxame à la concentration 10,84 mg/L par *L. portucalensis* F11.

Biodégradation du thiaméthoxame comme:	K (j^{-1})	$t_{1/2}$
Source de carbone et d'azote	$0,017 \pm 0,002$	$40,77 \pm 0,129$
Source de carbone et de soufre	$0,01 \pm 0,002$	$69,31 \pm 0,0916$
Source de carbone	$0,077 \pm 0,0025$	$8,961 \pm 0,015$
En présence d'acétate de sodium	$0,791 \pm 0,002$	$0,872 \pm 0,0013$

Tableau 23 : Paramètres cinétiques de biodégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11 aux concentrations 37,34 ; 68,64 et 128,7 mg/L.

Concentration du thiaméthoxame (mg/ L)	Thiaméthoxame comme unique source de carbone		Thiaméthoxame avec une supplémentation en acétate de sodium	
	K (j^{-1})	$t_{1/2}$	K (j^{-1})	$t_{1/2}$
37,34	$0,022 \pm 0,0015$	$31,363 \pm 0,005$	$0,156 \pm 0,0015$	$4,423 \pm 0,0015$
68,64	$0,016 \pm 0,0009$	$43,125 \pm 0,007$	$0,053 \pm 0,0004$	$13,018 \pm 0,0054$
128,73	$0,01 \pm 0,002$	$69 \pm 0,15$	$0,023 \pm 0,0014$	$31 \pm 0,055$

Les résultats obtenus impliquent que le processus de dégradation dépend de la concentration du thiaméthoxame. La valeur k a diminué avec l'augmentation des concentrations du thiaméthoxame. Par conséquent, les temps de demi-vie ont augmenté. Cela a permis de vérifier l'influence de la concentration initiale sur la biodégradation du thiaméthoxame. De plus, le processus de dégradation dépend aussi de la présence d'une source de carbone supplémentaire. L'alimentation périodique en acétate de sodium a entraîné une vitesse de réaction plus élevée (K). Par conséquent, les temps de demi-vie ont révélé une tendance inverse. Ces résultats indiquent que la disponibilité d'une seconde source de carbone pour fournir de l'énergie aux cellules peut être un facteur critique pour la biodégradation.

4.2 Cinétique de croissance de *L. portucalensis* F11 lors de la biodégradation du thiaméthoxame

La croissance de *L. portucalensis* F11 en présence du thiaméthoxame soit comme seule source de carbone-azote ou comme source de carbone-soufre (**Figure 43, Tableau 24**) était modérément plus élevée que leur croissance enregistrée dans le milieu MM3 et MM4 sans supplémentation du thiaméthoxame (**Figure 45**). Cependant, quand le thiaméthoxame été fourni comme seule source de carbone à la concentration de 10,84 mg/L, la croissance était plus forte (**Figure 43, Tableau 24**) que celle observée sur le contrôle biotique (**Figure 45**). Avec des concentrations croissantes de cet insecticide, une légère croissance a été observée (**Figure 44a, Tableau 25**). Grâce à l'alimentation périodique avec de l'acétate de sodium, comme source de carbone externe, la souche *L. portucalensis* F11 s'est bien développée dans le contrôle biotique (**Figure 45, Tableau 26**), mais une augmentation significative de la croissance cellulaire a été observée lorsque les différentes concentrations du thiaméthoxame ont été ajoutées au milieu minimum (MM2) (**Figure 44b, Tableaux 25**). Par conséquent, il est clair que la croissance de *L. portucalensis* F11 est liée à la dégradation du thiaméthoxame.

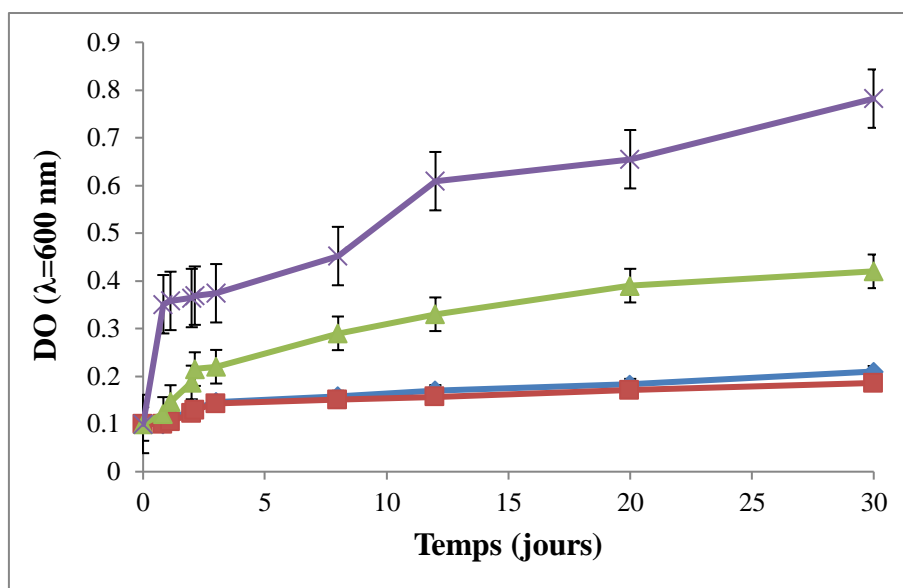


Figure 43: Croissance de *L. portucalensis* F11 pendant 30 jours d'incubation dans les milieux minimums supplémentés avec 10,84 mg/L du thiaméthoxame comme : seule source de carbone et d'azote (◆), seule source de carbone et de soufre (■), seule source de carbone (▲) et en présence d'acétate (×).

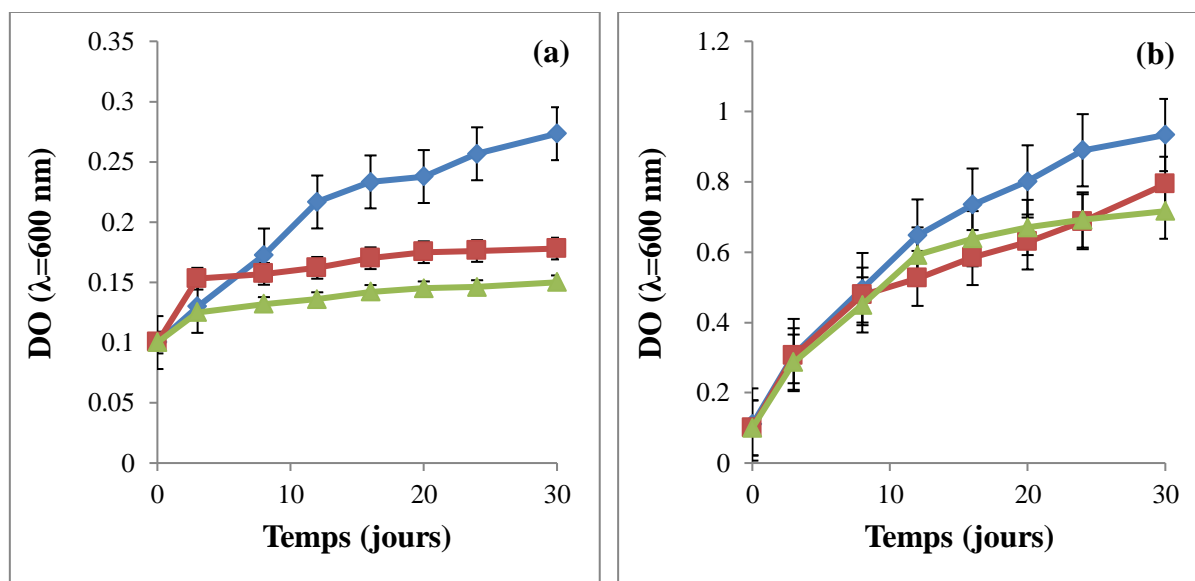


Figure 44 : Effet des concentrations initiales du thiaméthoxame: 37,34 mg/L (◆), 68,64 mg/L (■) et 128,72 mg/L (▲) sur la croissance de *L. portucalensis* F11 dans le milieu MM2 pendant 30 jours d'incubation. (a) comme seule source de carbone et (b) avec une alimentation périodique en acétate de sodium.

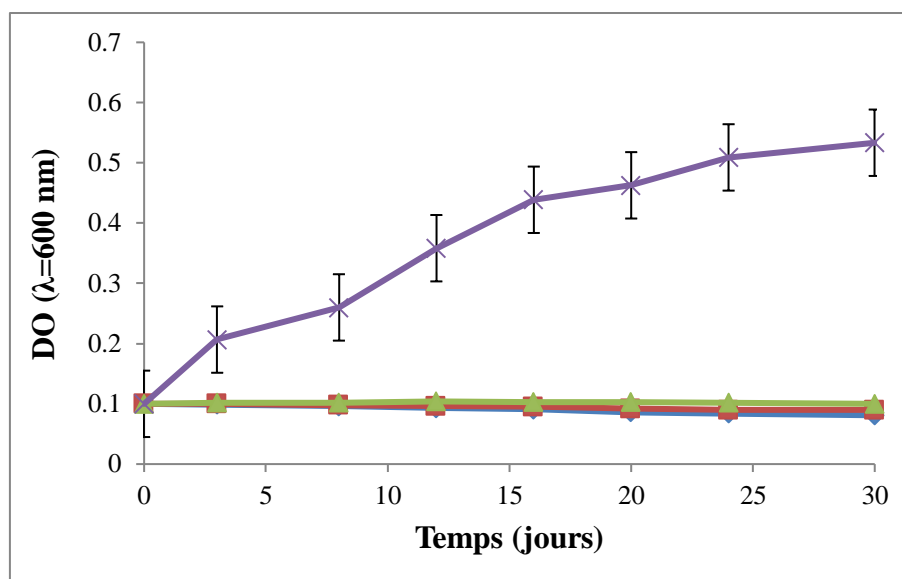


Figure 45: Croissance de *L. portucalensis* F11 pendant 30 jours d'incubation en MM2 sans aucune source de carbone (▲), MM2 supplémenté avec l'acétate de sodium comme seule source de carbone (×), MM3 (◆) sans aucune source de carbone et d'azote, et MM4 (■) sans aucune source de carbone et de soufre (Contrôles biotiques).

Tableau 24 : Taux de croissance de *L. portucalensis* F11 dans les milieux MM contenant le thiaméthoxame à la concentration de 10,84 mg/L.

Thiaméthoxame ajouter comme:	Taux de croissance (j^{-1})
Unique source de carbone et d'azote	$0,0132 \pm 0,0002$
Unique source de carbone et de soufre	$0,0097 \pm 0,0006$
Unique source de carbone	$0,0198 \pm 0,0002$
En présence d'acétate de sodium	$0,0266 \pm 0,0008$

Tableau 25 : Taux de croissance de *L. portucalensis* F11 en présence de la concentration 37,34 ; 68,64 et 128,73 mg/L du thiaméthoxame.

Concentration du thiaméthoxame (mg/L)	Comme unique source de carbone	Thiaméthoxame supplémenté avec l'acétate de sodium
	Taux de croissance (j^{-1})	Taux de croissance (j^{-1})
37,34	$0,0133 \pm 0,0005$	$0,0274 \pm 0,0003$
68,64	$0,0056 \pm 0,0002$	$0,0235 \pm 0,0004$
128,73	$0,0058 \pm 0,0002$	$0,0155 \pm 0,0007$

Tableau 26 : Taux de croissance de *L. portucalensis* F11 dans le milieu MM2 additionné de l'acétate de sodium comme seule source de carbone.

MM2 + Acétate de sodium	
Taux de croissance (j^{-1})	0,0214± 0,0007

4.3. Évaluation de l'activité de déchloration

La biodégradation complète du thiaméthoxame à la concentration de 10,84 mg/L comme unique source de carbone et en présence de l'acétate de sodium est accompagnée d'une libération complète de chlorure (**Figure 46**). En tenant compte de la stœchiométrie de la réaction, le chlorure libérée correspondait à 44%, 26% et 1% lorsque le thiaméthoxame été fournie respectivement à 37,4 mg/L ; 67,64 mg/L et 128,76 mg/L comme unique source de carbone et respectivement à 100%, 80% et 44% en présence de l'acétate de sodium. Aucune libération de chlorure n'a été enregistrée dans les essais de contrôle, ce qui prouve que ni l'adsorption ni la dégradation abiotique ne s'est produite dans les conditions testées.

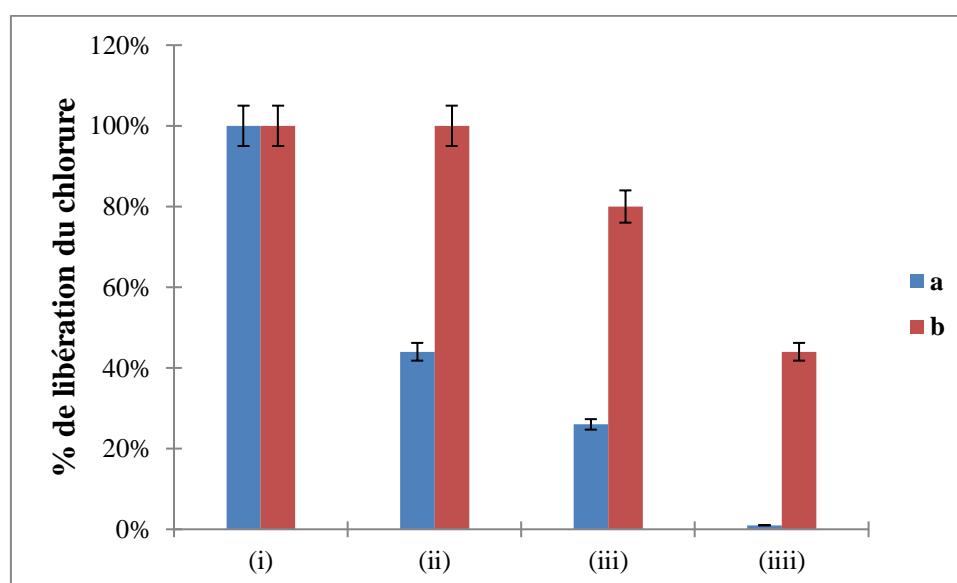


Figure 46: Pourcentage de la libération du chlorure à la fin des expériences de dégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11 à différentes concentrations initiales : (i) : 10,84 mg/L, (ii) : 37,4 mg/L, (iii) : 67,64 mg/L et (iiii) : 128,76 mg/L. (a) : comme seule source de carbone et (b) : avec l'acétate de sodium.

4.4. Évaluation du carbone organique totale et de l'azote totale

Selon la **figure 47**, on observe que lorsque le thiaméthoxame est fourni comme seule source de carbone, la diminution de la teneur en COT était respectivement de 66%, 29%, 20% et 16% pour les concentrations de 10,84 mg/L, 37,4 mg/L, 67,64 mg/L et 128,76 mg/L. En présence de l'acétate de sodium, la réduction en COT était respectivement de 68%, 65%, 51%, 30%. Cette réduction peut être due à la minéralisation de la matière carbonée organique en matière inorganique tel que le CO₂ ou à l'assimilation du carbone par la bactérie. La réduction de la teneur en AT a atteint respectivement 29%, 15%, 10%, 7% en absence de l'acétate de sodium et 31%, 29%, 25%, 16% en sa présence. Ces résultats indiquent que le thiaméthoxame n'a pas été complètement minéralisé pendant la durée des expériences.

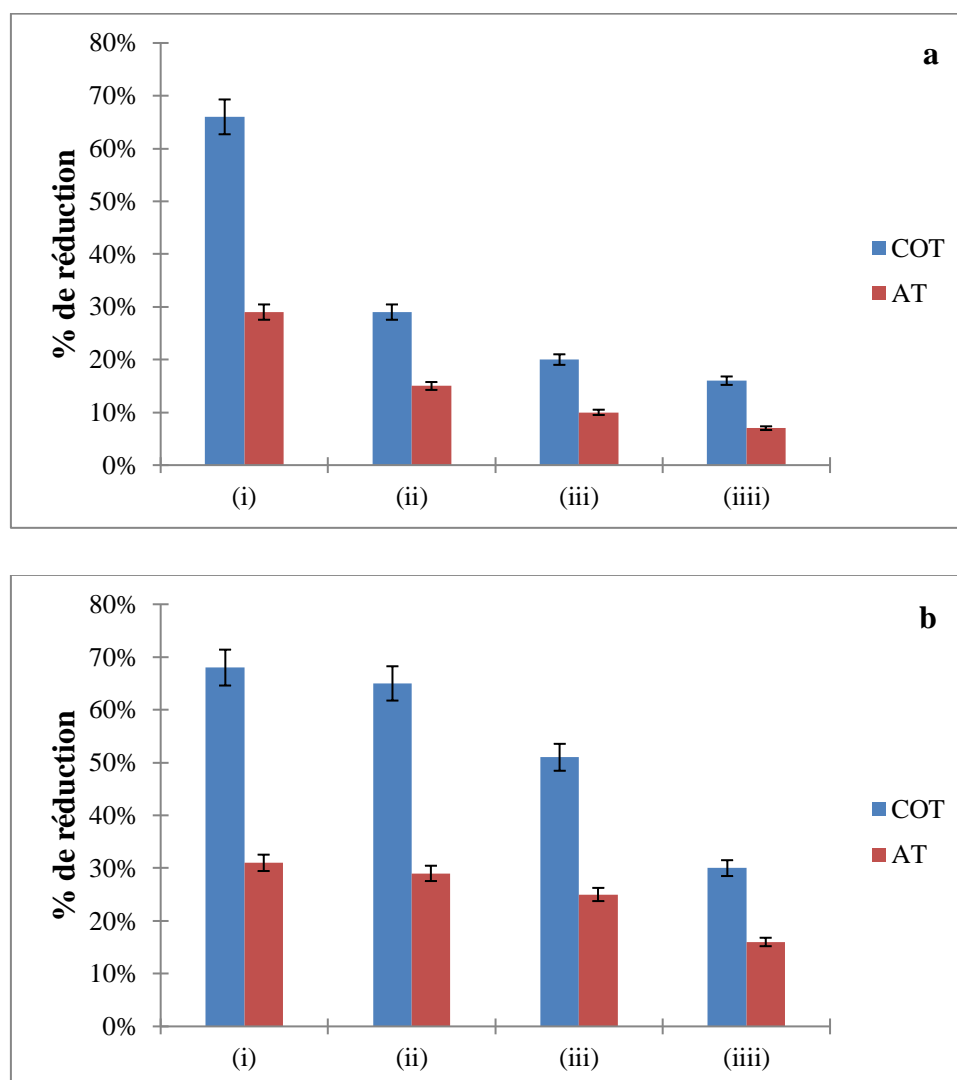


Figure 47: Réduction du COT et du AT pendant la dégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11. (a) comme seule source de carbone et (b) avec alimentation périodique en acétate de sodium.

4.5. Identification des métabolites de biodégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11

La détection et l'identification des produits de biotransformation ont été réalisées par UPLC-QTOF/SM/SM. Les chromatogrammes des échantillons prélevés aux temps 0, 3, 8, 12, 16, 20, 24 et 30 jours d'expériences en présence du thiaméthoxame comme seule source de carbone, ont clairement montré la présence de plusieurs pics d'intensité croissante par rapport à l'échantillon initial (temps zéro), principalement dans la gamme de temps de rétention entre 2,7 et 21,8 min (**Tableau 27**).

L'approche pour identifier les intermédiaires de dégradation a consisté à trier les chromatogrammes des ions totaux, acquis en mode pleine échelle. Cette approche a permis d'obtenir une grande quantité d'informations, en raison de la complexité des échantillons de dégradation biologique. En effet, il était nécessaire de distinguer les pics chromatographiques provenant de la biodégradation du thiaméthoxame, de ceux résultant du métabolisme des nutriments de la bactérie et de la lyse bactérienne. Cela a été fait en comparant les chromatogrammes de masse des échantillons provenant des expériences inoculées avec des cellules bactériennes actives et du thiaméthoxame à ceux des expériences de contrôle (c'est-à-dire avec le contrôle biotique et abiotique). Les composés qui n'ont pas été détectés dans les contrôles, ainsi qu'au début de l'expérience, ont été considérés comme des produits potentiels de la dégradation biologique du thiaméthoxame.

Dans le **tableau 27**, les masses exactes (calculées et mesurées), la formule prédite et les données SM/SM sont énumérées. La structure des métabolites identifiés (**Figure 49**) a été confirmée en interrogeant les pics détectés avec une liste des principaux produits de dégradation recueillis à partir des travaux déjà publiés dans lesquels la dégradation du thiaméthoxame était étudiée.

Les résultats obtenus montrent que les 12 métabolites identifiés ont été détectés uniquement dans les échantillons recueillis lors du traitement effectué en présence du thiaméthoxame comme source de carbone. Cela indique clairement que la formation de ces métabolites est liée à la dégradation de la thiaméthoxame par la souche F11 de *L. portucalensis*.

La plupart des intermédiaires sélectionnés présentent un fragment à m/z 132, comme le composé parent, indiquant la présence du 2-chloro-5-méthyl thiazole.

La diminution de la masse du TMX-1 par rapport à la molécule parent, nous amène à constater que la réaction de réduction du groupe nitro-imino en nitroso-imino a lieu. La **figure 48a** montre que la concentration du TMX-1 atteignant un maximum au jour 1.

Pour le TMX-2, la formule empirique présentée dans le **tableau 27** correspond à une perte d'un oxygène et à un gain simultané de deux hydrogènes. Ce métabolite apparaît rapidement, et le profil observé est extrêmement similaire à celui du TMX-1 (**Figure 48b**).

L'élimination du groupe NO ou NH₂ est indiquée par une diminution de m/z entre TMX-1 ou TMX-2 et TMX-3. Ensuite, le groupe -NH est remplacé par l'oxygène à l'origine du TMX-4. Les ions parents et les ions fragments observés correspondent aux structures du TMX-guanidine et du TMX-urée, respectivement. Lorsque les concentrations de TMX-1 et TMX-2 ont été réduites, la concentration de TMX-3 a augmenté (**Figure 48c**).

Une diminution de m/z a été détectée entre TMX-4 et TMX-7, indiquant une déméthylation. On peut dire que la masse, la formule empirique et le schéma de fragmentation de TMX-5 et TMX-6 correspondent aux produits de transformation précédemment rapportés (**Wang et al., 2020**). Après le 12^{ème} jour (**Figure 48g et 48e**), les concentrations de TMX-7 et TMX-5 ont diminué, tandis que du TMX-6 a augmenté (**Figure 48f**).

La masse moléculaire du TMX-8 a diminué par rapport au composé parent, le fragment à m/z 132, qui indique la présence du 2-chloro-5-méthyl thiazole, est absent, mais un fragment à m/z 115 est présent. D'après sa fragmentation et sa composition élémentaire prédite (**Tableau 27**), le TMX-8 (**Figure 48h**) pourrait être la conséquence d'une hydroxylation sur un site substitué par du chlore.

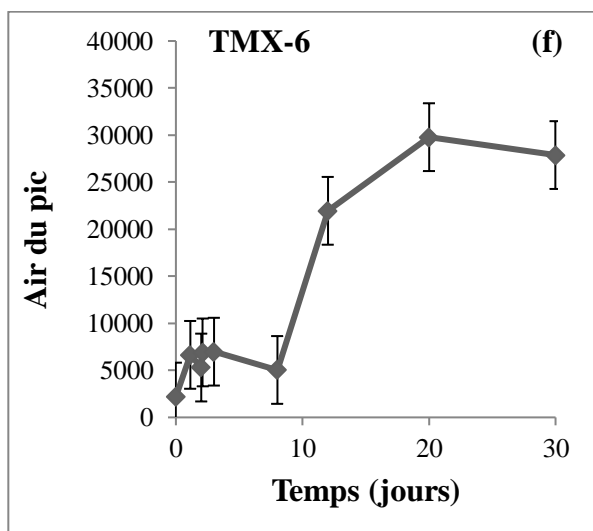
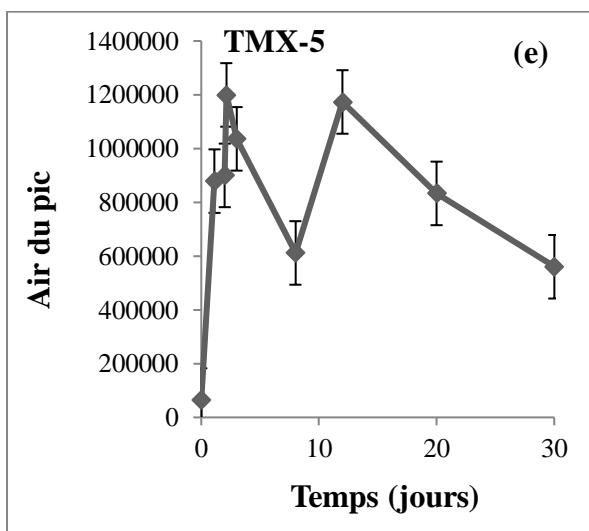
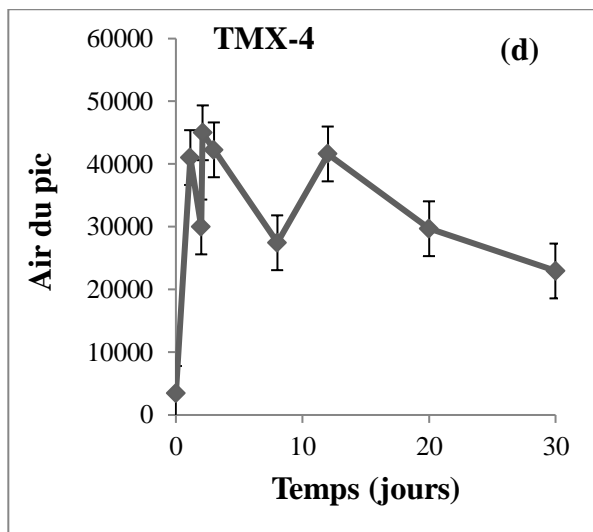
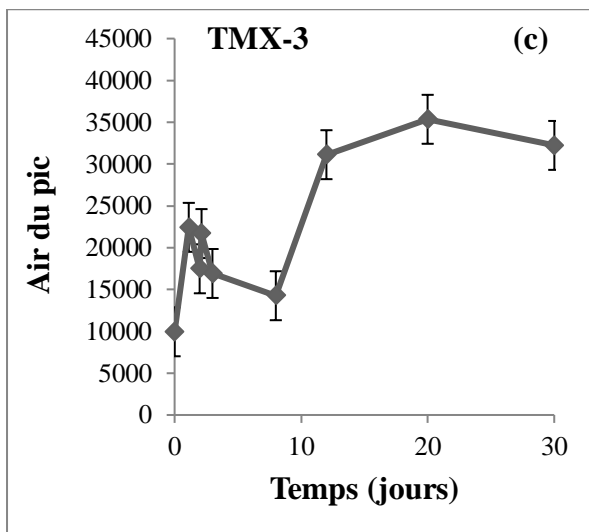
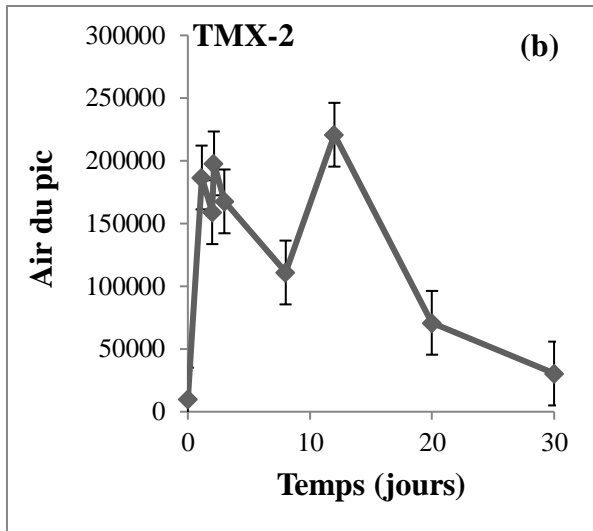
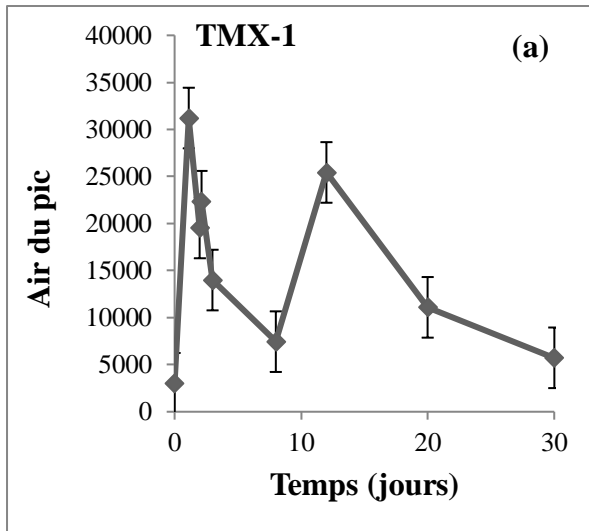
La composition élémentaire et le schéma de fragmentation du TMX-9 sont compatibles avec le clivage de l'oxodiazine, entraînant la conversion du TMX en clothianidine. La différence m/z entre le TMX-9 et le TMX-11, ainsi que la formule empirique proposée, suggèrent que le TMX-9 est formé via un processus de déméthylation. Les deux métabolites ont une tendance de formation similaire, leur apparition est rapide. Après le 12^{ème} jour, ils commencent à diminuer (**Figure 48i et 48k**).

Une diminution de m/z a été détectée entre TMX-9 et TMX-10, indiquant la dénitrification de la clothianidine (élimination du groupe -NO₂).

La différence de m/z entre TMX-10 et TMX-12 indique la transformation de la partie nitro-imino en composé urée accomplie par déméthylation. La formation du TMX-12 est retardée, sa concentration augmente après le 8^{ème} jour (**Figure 48I**).

Tableau 27 : Produits de biodégradation du thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11 détectés par UPLC-QTOF/SM/SM.

Métabolite	tr (min)	m/z	Produits SM2	Formule empirique	Références
TMX-1	8,0	276,0144	131,9574; 181,0392; 100,0698 ; 69,0398	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₂ S	Pandey et al., (2009); Zhou et al., (2013); Zhou et al., (2014)
TMX-2	8,1	262,0161	131,9667; 70,9950	C ₈ H ₁₂ ClN ₅ OS	Wang et al., (2020)
TMX-3	4,4	247,0412	131,9665; 160,9940; 44,0488	C ₈ H ₁₁ ClN ₄ OS	Pandey et al., (2009); Zhou et al., (2014); Wang et al., (2020)
TMX-4	11,2	248,0083	174,9607; 132,9650	C ₈ H ₁₀ ClN ₃ O ₂ S	Pandey et al., (2009); Zhou et al., (2013); Zhou et al., (2014); Wang et al., (2020)
TMX-5	6,9	206,0156	174,9729; 113,0172; 86,0058; 58,9941	C ₆ H ₈ N ₃ OSCl	Wang et al., (2020)
TMX-6	2,7	191,0032	131,9593; 162,8899; 70,9900	C ₆ H ₇ ClN ₂ OS	Wang et al., (2020)
TMX-7	8,3	234,0102	174,9737; 131,9673	C ₇ H ₈ ClN ₃ O ₂ S	Wang et al., (2020)
TMX-8	8,3	274,0414	137,0723; 115,0664; 84,0490; 69,0398	C ₈ H ₁₁ N ₅ O ₄ S	Chen et al., (2021)
TMX-9	10,4	250,0171	131,9674; 169,0543 ; 77,9951	C ₆ H ₈ ClN ₅ O ₂ S	Wang et al., (2020)
TMX-10	21,8	205,072	191,1282; 163,0967 ; 57,0659	C ₆ H ₉ ClN ₄ S	Wang et al., (2020); Parte et Kharat (2019)
TMX-11	8,5	235,9951	131,9577; 174,9603; 125,0087	C ₅ H ₆ ClN ₅ O ₂ S	Résultats de cette étude (en cours de publication)
TMX-12	5,3	191,9868	131,9591;174,9595 ; 70,9912	C ₅ H ₆ ClN ₃ OS	Résultats de cette étude (en cours de publication)



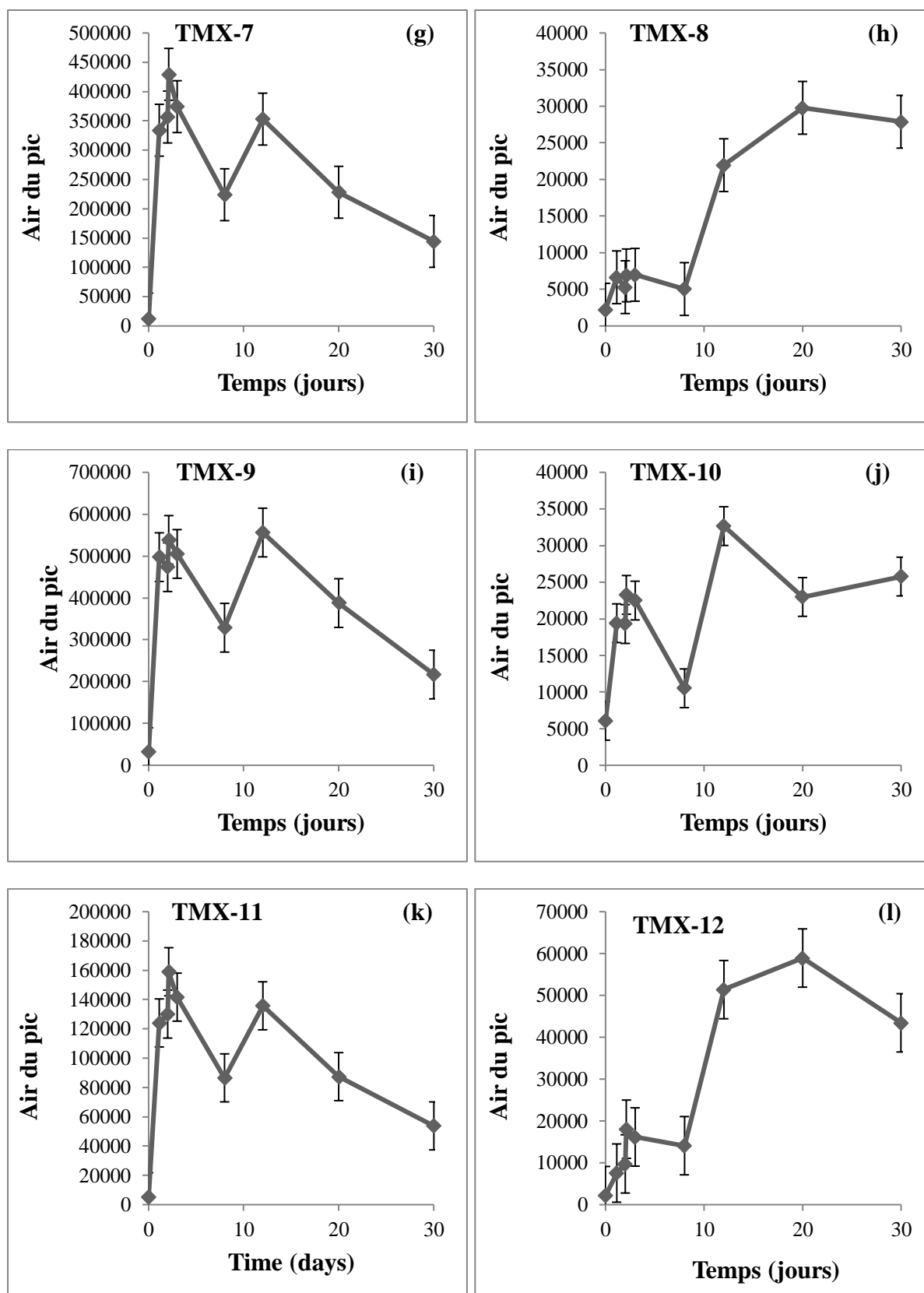


Figure 48: L'air des pics de la formation des intermédiaires TMX-1 à TMX-12 pendant la biodégradation du thiaméthoxame comme seule source de carbone par *L. portucalensis* F11 en fonction du temps.

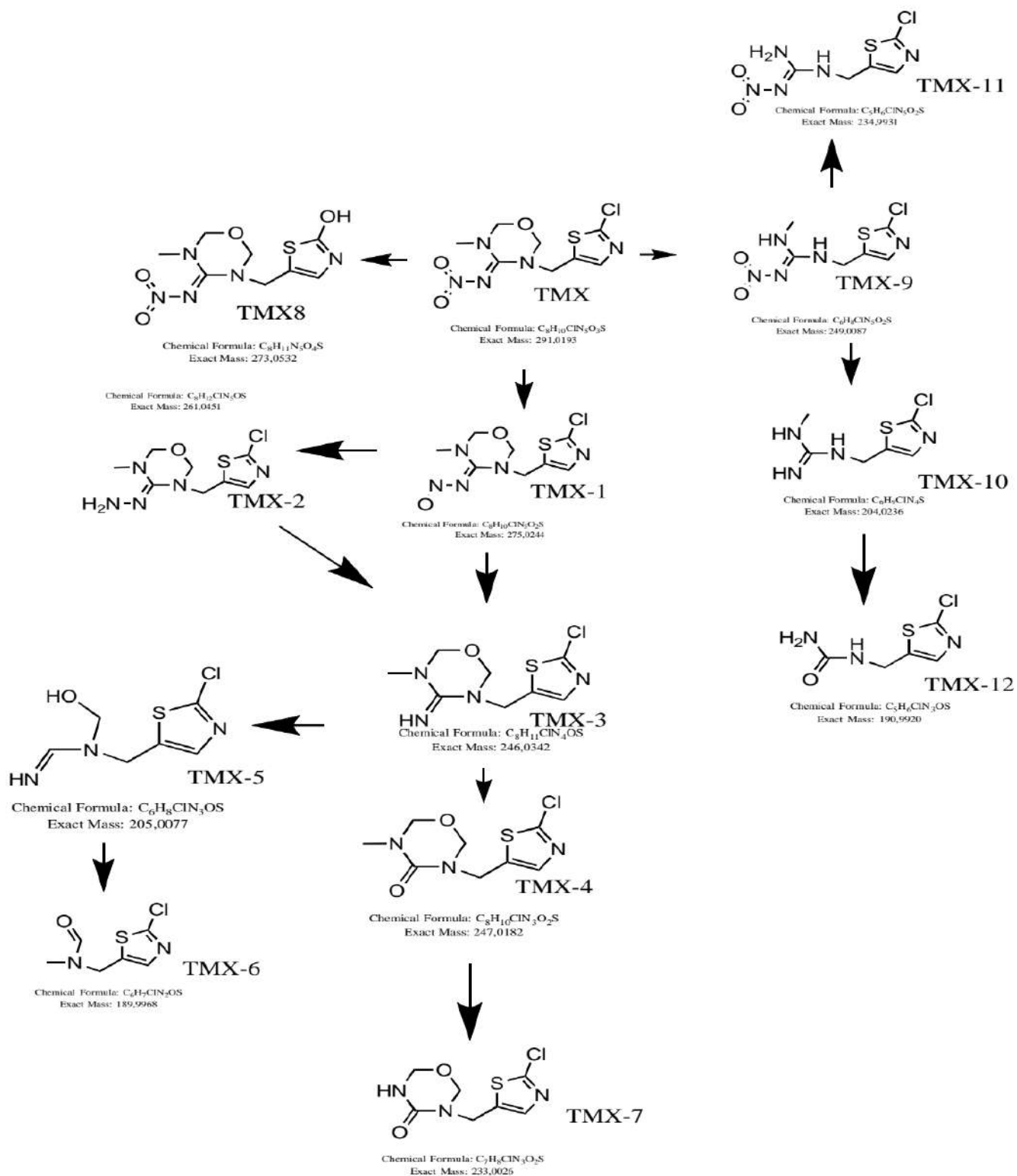


Figure 49 : Voie de biodégradation proposée pour le thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11.

4.6. Évaluation de la toxicité du thiaméthoxame et de ses métabolites

La toxicité du thiaméthoxame et de ses métabolites présents dans les essais de dégradation ont été évalués.

Les contrôles de test avec les milieux MM2 sans aucune source de carbone et MM2 supplémenté avec l'acétate de sodium non inoculé et inoculé avec la souche *L. portucalensis* F11 n'ont montré aucun effet toxique pour les tests de phytotoxicité et de bioluminescence. D'autre part, le milieu MM2 supplémenté avec de l'acétate de sodium a présenté un effet négatif sur le test Toxi-Chromo, en raison de l'incapacité d'*E.coli* à survivre en présence de concentrations plus élevées de l'acétate de sodium. Les résultats de ce test sont présentés en tenant compte de l'influence de l'acétate de sodium.

La germination des graines de *Lactuca sativa*, l'élongation des racines et des pousses n'ont pas été affectées par la présence du thiaméthoxame à la concentration 10,84 et 37,34 mg/L et/ou de ses dérivés de dégradation dans tous les échantillons analysés.

En revanche, le pourcentage d'inhibition de *V. fischeri* était de 19 % pour les échantillons prélevés au début de l'expérience où le thiaméthoxame est ajouté à la concentration de 10,84 mg/L comme unique source de carbone ou supplémenté par l'acétate de sodium. Il est intéressant de noter que lorsque la concentration atteint 37,34 mg/L, la luminosité de *V. fischeri* diminue encore plus (de 28%), le produit de dégradation n'ayant aucun effet inhibiteur. La même observation a été notée pour le test Toxi-Chromo ; le néonicotinoïde thiaméthoxame inhibe la synthèse de la β -galactosidase par *E.coli* au taux de 7,38% pour la concentration 10,84 mg/L en absence et en présence de l'acétate de sodium. L'inhibition atteint 12% avec la concentration 37,34 mg/L. la présence de produits de dégradation du thiaméthoxame n'a pas présenté de toxicité pour la bactérie mutante.

Dans cette étude, la souche *L. portucalensis* F11 a montré un bon profil de dégradation de thiaméthoxame sous différents aspects expérimentaux.

Parmi tous les néonicotinoïdes, le thiaméthoxame présente la plus grande solubilité dans l'eau (4100 mg/L à 25°C) (Patil *et al.*, 2021). Plusieurs études rapportent la présence de thiaméthoxame dans différents échantillons d'eaux à travers le monde. Aux États-Unis, le thiaméthoxame a été détecté à une concentration de 0,05 μ g/L dans 67 % des échantillons prélevés des eaux souterraines du centre du Wisconsin (Bradford *et al.*, 2018), et à une gamme de concentration comprise entre 0,24 et 4,15 ng/L dans des échantillons d'eau potable prélevés dans les robinets de l'Université de l'Iowa États-Unis (Klarich *et al.*, 2017). Les trois

insecticides imidaclopride, clothianidine et thiaméthoxame ont été détectés à des concentrations supérieures aux lignes directrices canadiennes (230 ng/L) dans 75 % des échantillons provenant des cours d'eaux (**Struger et al., 2017**). Dans le fleuve Yangtze en Chine, le thiaméthoxame figurait parmi les néonicotinoïdes les plus fréquemment détectés, avec une concentration moyenne de 1,10 ng/L (**Mahai et al., 2019**). Dans la station de traitement des eaux usées de Bucarest en Roumanie, le thiaméthoxame a été détecté à des concentrations allant de 16,4 à 23,6 ng/L dans les eaux usées brutes tandis que dans les eaux usées traitées, le thiaméthoxame a été détecté à une concentration moyenne de 14,6 ng/L (**Iancu et Radu, 2018**). Pour cette raison, le thiaméthoxame est considérée comme une source de contamination potentielle des eaux de surface et souterraines (**Lebik-Elhadi et al., 2018**). Par conséquent, ce pesticide a été inclut dans la première et la deuxième liste de surveillance européenne des polluants émergents de l'eau (**EC 2018, 2015**).

L. portucalensis F11 a montré une dégradation modérée de 10,84 mg/L de thiaméthoxame comme source unique de carbone-azote (41%). Ce résultat est en accord avec celui de **Zhou et al., (2013)** qui ont trouvé que la rhizobactérie *Ensifer adhaerens* TMX-23 isolée de la rhizosphère était capable d'éliminer 16,3% ; 26,8% ; 25,4% ; 27,2% et 21,6% respectivement de 10 mg/L, 20 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L et 200 mg/L de thiaméthoxame après 5 jours d'incubation. En revanche, **Pandey et al., (2009)** ont constaté que *Pseudomonas* G1 était incapable d'utiliser l'imidaclopride ou le thiaméthoxame comme seule source de carbone-azote.

À ce jour, cette étude montre pour la première fois l'utilisation du thiaméthoxame comme source unique de carbone et de soufre. La dégradation du thiaméthoxame en tant que source unique de carbone-azote et de carbone-soufre était très lente. Il est suggéré qu'elle a été affectée par le manque de nutriments dans les milieux MM3 et MM4 qui est considéré comme un facteur limitant pour la croissance bactérienne et la dégradation complète (**Huang et al., 2018**).

Lorsque le thiaméthoxame été fourni comme seule source de carbone à une concentration de 10,84 mg/L, une dégradation complète été obtenue. De même, **Rana et al., (2015)** ont rapporté que *Bacillus aeromonas* IMBL 4.1 et *Pseudomonas putida* IMBL 5.2 étaient capables de dégrader respectivement 45,28 % et 38,23 % de la quantité fournie de thiaméthoxame (50 mg/L) en 15 jours d'incubation à 37°C comme seule source de carbone. De plus, *Enterobacter cloacae* TMX-6 isolé d'*Ophiopogon japonicas* a été capable de

dégrader 20% de la concentration initiale de thiaméthoxame (10 mg/L) comme seule source de carbone après 15 jours d'incubation à 30°C (Zhan *et al.*, 2021). Boufercha *et al.*, (2022) ont indiqué que la biodégradation du thiaméthoxame (35 mg/L) pendant 30 jours par des souches de *Streptomyces* en tant que seule source de carbone été très faible.

Il a été admis que le co-métabolisme joue un rôle important dans la transformation microbienne des pesticides (Bose *et al.*, 2021) et le processus est très rapide en présence d'une source de carbone alternative (Wanguyun et Gerald, 2019). Ceci est en accord avec les résultats de la présente étude qui prouvent la dégradation rapide et efficace du thiaméthoxame en présence du co-substrat (acétate de sodium). Généralement, dans le co-métabolisme la croissance du microorganisme est attachée au présence d'une substrat pour satisfaire leurs besoins en nutriments (Coelho *et al.*, 2015). Cependant, en plus d'utiliser l'acétate de sodium comme support de croissance, la souche *L. portucalensis* F11 a démontré la capacité d'utiliser le thiaméthoxame pour sa croissance. L'effet positif d'une source de carbone supplémentaire pour la dégradation du thiaméthoxame a également été observé lors de la transformation microbienne de cet insecticide par Pandey *et al.*, (2009) et Boufercha *et al.*, (2022). La présence de carbone organique biodégradable peut améliorer l'élimination des micropolluants en favorisant la croissance de la biomasse et en servant de co-substrat dans une transformation co-métabolique de ces contaminants (Rauch-Williams *et al.*, 2010). En outre, il est généralement accepté que les pesticides sont dégradés par des mécanismes co-métaboliques dans les eaux usées municipales, en raison de la présence de mélanges de polluants dans la plupart des effluents.

L'évaluation des concentrations initiales sur la dégradation de thiaméthoxame par *L. portucalensis* F11 en tant que seule source de carbone et en co-métabolisme, suggère que le taux de dégradation et la demi-vie de thiaméthoxame ont été affectés. La concentration du substrat est l'un des paramètres influençant le transfert de masse diffusif des contaminants vers les microorganismes (Singh, 2013). Une fois, la concentration initiale du polluant est élevée, la distance entre le microorganisme et le pesticide se réduit (Wirsching *et al.*, 2020), ce qui implique une pénétration rapide d'une partie importante du polluant dans les cellules, qui sera disséminée et absorbée rapidement (Singh, 2013). Par conséquent, plus la concentration initiale est élevée, plus le taux de dégradation est important (Ma *et al.*, 2013). Cependant, cela est en contradiction avec les données obtenues dans cette étude qui révèle que les taux de dégradation diminuent avec l'augmentation de la concentration en thiaméthoxame. L'étude de Chen *et al.*, (2021) partage les mêmes résultats, ils ont trouvé que le champignon

de pourriture blanche *Phanerochaete chrysosporium* était capable d'éliminer 98,74 et 27% de la concentration initiale 10 mg/L, 20 mg/L et 50 mg/L de thiaméthoxame après 25 jours d'incubation à 37°C.

Il est nécessaire de préciser que le degré de minéralisation atteint est plus important que le taux de dégradation (**González et al., 2020**). Il est connu dans la littérature que le taux de minéralisation est généralement beaucoup plus lent que le taux de disparition du pesticide. Les résultats obtenus à partir des analyses HPLC, comme décrit précédemment, ont révélé une élimination complète du thiaméthoxame à la concentration 10,84 mg/L. Comme prévu, malheureusement, les analyses de carbone organique total ont confirmé un taux de minéralisation modéré. À ce propos, **Žabar et al., (2012)** ont étudié la dégradation du thiaméthoxame par photo-dégradation et ont obtenu un faible taux de minéralisation bien que sa dégradation soit complète.

L. portucalensis F11 est une bactérie aérobie Gram-négative très intéressante, isolée d'un échantillon de sédiment prélevé d'un site industriel pollué dans le nord du Portugal (**Carvalho et al., 2005**). La souche est capable de se développer à une température de 16 à 37 °C et à un pH de 4,0 à 8,0 avec des optimums de 28 à 32 °C et des valeurs de pH de 6 à 8, respectivement (**Carvalho et al., 2008**). *L. portucalensis* F11 appartient à la classe des *Alphaproteobacteria*. Le séquençage de son gène ARNr16S et l'hybridation ADN-ADN ont permis de l'affilier à une nouvelle espèce du genre *Labrys*. Le nom *Labrys portucalensis* F11 est donc attribué à cette bactérie (**Carvalho et al., 2008**). La souche F11 est une souche bactérienne polyvalente qui présente un potentiel pour la dégradation d'une large gamme de composés aromatiques (**Moreira et al., 2012 ; Amorim et al., 2013a**), y compris des produits pharmaceutiques, tels que la fluoxétine (**Moreira et al., 2014**) et les fluoroquinolones (**Amorim et al., 2014 ; Carvalho et al., 2016**). Dans la présente étude, *L. portucalensis* F11 a été évaluée pour la première fois pour sa capacité à dégrader le pesticide thiaméthoxame.

Ces données confirment le potentiel de la souche bactérienne *L. portucalensis* F11 pour la remédiation des polluants organiques et son application potentielle pour le traitement des eaux usées dans les STEPs suivant des schémas de bioaugmentation. À titre d'exemple, la bioaugmentation a été utilisée comme une stratégie réussie pour introduire d'autres souches de dégradation dans différents bioréacteurs, tels que les contacteurs biologiques rotatifs (**Amorim et al., 2013b**) ou les réacteurs aérobies à boues granulaires (**Duque et al., 2011 ; Bessa et al., 2021**). De plus, la souche F11 est une bactérie rhizobienne qui peut être utilisée

comme inoculant dans le sol pour améliorer l'absorption des minéraux (N, P, K, Fe, Zn, et Mg) nécessaires à la croissance des plantes (**Pang et al., 2020**) et aussi pour détoxifier les sols contaminés par le thiaméthoxame.

La voie de dégradation dépend du type de microorganisme et des conditions de réaction dans le système. Les métabolites du thiaméthoxame après dégradation par *L. portucalensis* et la voie correspondante ont été identifiés en utilisant le surnageant de culture après 30 jours de dégradation. Les résultats ont montré que plusieurs composés intermédiaires ont été identifiés.

Sur la base des intermédiaires identifiés ; la réduction du nitrate, le clivage du cycle de l'oxadiazine et la déchloration, ont été proposés comme les voies principales de biodégradation du thiaméthoxame.

La réduction du nitrate est considérée comme la voie métabolique majeure de dégradation du thiaméthoxame. Le groupe N-nitroimino (=N-NO₂) de thiaméthoxame est réduit en N-nitrosimine/nitrosoguanidine (=N-NO) et amino-guanidine (=N-NH₂), puis clivé en dérivés de desnitro/guanidine/imine (=NH) et urée (=O). Une voie de transformation similaire a été observée dans les études de **Pandey et al., (2009)** ; **Zhou et al., (2013)** et **Zhou et al., (2014)**. De même, cette voie a été rapportée dans les systèmes des mammifères (**Tomizawa et Casida, 2005** ; **Ford et Casida, 2006**). Dans notre étude, *L. portucalensis* F11 a ensuite métabolisé l'urée par déméthylation.

Le clivage de l'oxadiazine est la deuxième voie de transformation du thiaméthoxame. Il est intéressant de noter que le clivage de l'oxadiazine du thiaméthoxame entraîne la formation d'un autre insecticide néonicotinoïde commercial ; la clothianidine. Cette voie a été signalée chez les souris, les insectes, les épinards et les tomates (**Casida, 2011**) ainsi que pour les microorganismes du sol (**Zhou et al., 2014**). Dans la présente étude, *L. portucalensis* F11 a pu dégrader le métabolite clothianidine via le mécanisme de dénitrification comme il est observé chez *Pseudomonas stutzeri* smk (**Parte et Kharat, 2019**). En parallèle, la déméthylation de la clothianidine suivie de la transformation de la fraction nitro-imino en urée, a également été observée. Ce mécanisme est également signalé par **Wang et al., (2020)** lors de la dégradation du thiaméthoxame par un consortium bactérien. Deux autres métabolites, qui peuvent être attribués à un clivage du cycle oxodiazine ont été détectés, mais le clivage se trouvait dans une position différente de celle qui donne naissance à la clothianidine. Ces métabolites ont été précédemment identifiés dans les eaux usées (**Wang et al., 2020**).

Enfin, la troisième voie observée était la déchloration du thiaméthoxame. Cette voie a également été signalée chez le champignon de la pourriture blanche *Phanerochaete*

chryso sporium lors de la biodégradation du thiaméthoxame. De plus, Le mécanisme de déshalogénéation hydrolytique remplaçant le chlore par un groupe hydroxyle a été précédemment identifié chez *L. portucalensis* F11 lors de la biodégradation des produits pharmaceutiques ciprofloxacine (Amorim *et al.*, 2014) et diclofénac (Moreira *et al.*, 2018).

La toxicité et les effets nocifs du thiaméthoxame sur de nombreux invertébrés, vertébrés, les microorganismes dans le sol et le milieu aquatique, et même l'homme ont été rapportés (Ludicke et Nieh, 2020). La réduction de la toxicité de polluant est l'objectif principal dans le domaine de la biodégradation des polluants environnementaux. Dans la présente étude, trois bio-essais ont été utilisés pour évaluer la toxicité du thiaméthoxame et ces produits de dégradation. Les tests avec *L. sativum* n'ont montré aucun effet sur les paramètres analysés. Chen *et al.*, (2021) ont également testé la toxicité de thiaméthoxame envers les grains de colza et du chou et ont observé aucune toxicité en présence de thiaméthoxame. De plus, Huang *et al.*, (2015) ont signaler que le thiaméthoxame n'a pas affecté le taux de germination du colza (*Brassica napus*), du blé de printemps (Macedo et Castro, 2011) et du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) (Wanchai *et al.*, 2012), et le soja (Dhungana *et al.*, 2016). D'autres études indiquent que le thiaméthoxame améliore la vigueur des graines et des plantules. Après avoir été traitée au thiaméthoxame, la croissance des plantules de riz a été stimulée et le rendement du riz a augmenté (Deng *et al.*, 2016), la croissance des pousses a été favorisée (Macedo et Castro, 2011), la croissance des racines des graines de *Brachiaria brizantha* a augmenté de façon significativement (Macedo *et al.*, 2013).

Au contraire, *V. fischeri* a montré une sensibilité modérée à l'exposition au thiaméthoxame. Ces résultats corroborent l'étude menée par Šojić *et al.*, (2012) selon lesquelles le thiaméthoxame à une concentration de 0,05 mmol/L a affecté la bioluminescence de *V. fischeri*. Les métabolites de dégradation générés étaient non toxiques pour *V. fischeri*.

De même, l'exposition aux produits de dégradation de thiaméthoxame n'a pas affecté la production de l'enzyme β -galactosidase par les bactéries mutantes dans le test Toxi-Chromo. Mais le composant parent thiaméthoxame a inhibé légèrement la synthèse de la β -galactosidase. Aucun rapport publié dans la littérature à évaluer la toxicité potentielle du thiaméthoxame sur le test Toxi-Chromo. Cependant, Chen *et al.*, (2021) ont indiqué que le thiaméthoxame à la concentration de 0-2,5 mg/L, a peu d'influence sur la croissance d'*E. coli*.

Tous ces résultats ont révélé que *L. portucalensis* a montré un excellent potentiel de dégradation du thiaméthoxame et a supprimé sa toxicité biologique.

CONCLUSION ET **PERSPECTIVES**

La pollution de l'environnement par les pesticides est une conséquence de l'expansion agricole continue, associée à l'augmentation de la population. Leur application se fait principalement au niveau des sols, mais ils sont aussi retrouvés dans les effluents d'eaux usées des stations d'épuration. Le microbiote naturel est continuellement exposé aux pesticides. Il n'est donc pas surprenant que ces microorganismes, qui vivent dans des environnements pollués, soient armés d'une résistance par des processus cataboliques pour éliminer les composés toxiques. Dans la littérature, plusieurs microorganismes ont été décrits pour leurs capacités à dégrader les pesticides. Les actinobactéries ont démontré leur potentiel en tant qu'outils pour la biodégradation de plusieurs contaminants y compris les pesticides, sur la base de leur polyvalence physiologique et métabolique.

L'objectif principal de cette thèse était d'isoler des actinobactéries à partir des stations d'épuration des eaux usées, afin de mettre en évidence leurs capacités à dégrader une variété de pesticides parmi les plus utilisés en Algérie. Ce travail met en évidence aussi le rôle de la bactérie *Labrys portucalensis* F11 dans la biodégradation de l'insecticide thiaméthoxame. Cette bactérie isolée précédemment d'un sédiment contaminé dans le nord du Portugal a montré dans plusieurs autres travaux des capacités importantes de dégradation de plusieurs polluants (Amorim *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2016; Moreira *et al.*, 2018; Bessa *et al.*, 2019).

Cette étude nous a permis de faire un diagnostic de l'état de la pollution et de suivre les performances épuratoires des STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane. Les résultats des analyses physico-chimiques des 3 STEPs ont montré que l'ensemble des paramètres étudiés, en particulier les paramètres de pollution organique (DBO5, DCO et MES) présentent une pollution organique, assez élevée. À la sortie de la STEP de Oued El Athmania et de Sidi Merouane, les paramètres physico-chimiques des eaux usées épurées en terme de MES, DBO5 et DCO étaient conformes aux limites recommandées par le Journal Officielle Algérien. Alors que celle de la STEP d'Ibn Ziad dépasse légèrement les normes recommandées.

L'utilisation des milieux de culture sélective nous a permis d'isoler un totale de 15 isolats à partir de la STEP d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane, répartis comme suit : un isolat des eaux usées brutes, 13 isolats des bassins d'aération et un isolat à partir des eaux usées épurées. Une conclusion importante montre, que les boues activées sont une source importante d'actinobactéries. Ce résultat est selon nous très prometteur qui nous

renseigne sur une biodiversité des actinobactéries longtemps ignorée par les chercheurs. Les investigations dans ce biotope, méritent d'après nous d'être entreprises dans l'avenir, afin de dévoiler le reste de la population microbienne actinobactérienne.

La caractérisation phénotypique et moléculaire des 15 isolats d'actinobactéries qui proviennent des trois STEPs a permis de les affilier aux genres ; *Streptomyces* (13 isolats), *Actinomadura* (1 isolat) et *Micrococcus* (1 isolat). *Streptomyces* étant dans cette étude, le genre d'actinobactérie le plus dominant dans cet écosystème. Ceci est, probablement due à sa remarquable résistance aux mauvaises conditions environnementales et à différents polluants, ainsi qu'à leur activité antagoniste contre les microorganismes pathogènes.

Le criblage des 15 souches d'actinobactéries sur des milieux minimum gélosés contenant des pesticides, a montré que 13 souches dont 11 appartiennent au genre *Streptomyces* et une au genre *Micrococcus*, peuvent se développer en présence des pesticides 2,4-DCP, Aliette, Alphaban 10 SC, Diazinon, Imiguard 20% SL, Pelthio 70 WP, Rustilan, Teldor et Tiam. Cependant, aucune souche n'est capable de se développée en présence de l'herbicide Topik 80 EC, des insecticides Lambda-cythrin 25 Ec et Vapcomic, et des fongicides triazoles ; Concord 5 EC, Horizon 25 EW, Madjloul miracle, Opus et Vidan.

Parmi les souches isolées, deux ont montré un large éventail de potentiel de dégradation des pesticides. En particulier, *Streptomyces* sp. SG a été capable de dégrader les trois néonicotinoïdes testés ; le Tiam, l'Imiguard 20% SL et le Rustilan, ainsi que les deux fongicides Aliette et Pelthio 70 WP. *Streptomyces* sp. ML a également montré un potentiel de dégradation de 2,4-DCP, de l'Alphaban 10 SC, de l'Aliette et du Teldor.

Le criblage dans un milieu minimum liquide additionné de 50 mg/L du 2,4-DCP a montré que la souche *Streptomyces* sp. ML est capable de le dégrader à un taux de 45%, suivi par la souche *Streptomyces* sp.AC (32%), AE (26%) et FG (18%). L'ajout d'une deuxième source de carbone représentée par le glucose ou l'acétate de sodium n'a pas amélioré le taux de dégradation du 2, 4-DCP.

En ce qui concerne le thiaméthoxame, le criblage en milieux liquide de *Streptomyces* sp. OA, OB, OH, OV et SG a révélé que le taux de dégradation du thiaméthoxame (35 mg/L) comme unique source de carbone par ces souches est très faible. L'ajout du glucose à améliorer le taux de dégradation de la souche *Streptomyces* sp. OV à un taux de 84%, ainsi

que l'ajout d'acétate de sodium à améliorer le taux de dégradation des souches OB et OH (78% et 69%).

La dégradation du thiaméthoxame par *Labrys portucalensis* F11 est signalée pour la première fois. Cette souche était capable de dégrader le thiaméthoxame comme unique source de carbone-azote, carbone-soufre, carbone et en co-métabolisme. L'addition d'acétate de sodium est bénéfique pour la dégradation de thiaméthoxame. *L. portucalensis* F11 a converti le thiaméthoxame en métabolites non toxique comme l'ont révélé les études toxicologiques sur *L. sativa*, *V. fischeri* et Toxi-chromo. La minéralisation du thiaméthoxame soutenue par la réduction du carbone organique total et l'azote total a montré que la dégradation du thiaméthoxame s'accompagne d'une minéralisation modérée, ce qui indique la formation de sous-produits de transformation. La déchloration, la réduction des nitrates et le clivage C-N entre le cycle 2-chlorothiazole et l'oxadiazine ont été proposés comme principales voies de biodégradation. De nouveaux métabolites à savoir ; $C_5H_6ClN_5O_2S$ et $C_5H_6ClN_3OS$ ont été identifiés pour la biodégradation du thiaméthoxame.

Ces résultats favorisent l'application des actinobactéries et de la bactérie *Labrys portucalensis* F11 comme agents potentiels pour la bioremédiation des environnements pollués par les différents pesticides testés dans cette étude.

À la lumière de ces résultats, il serait intéressant de réaliser à l'avenir une identification complète du génome complet des souches performantes et de détecter les gènes de ménages responsables de ces biodégradations. L'emploi des approches métagénomiques afin d'étudier la biodiversité microbienne des boues activées serait également très souhaitable et très avantageuse. Des recherches plus approfondies sont également nécessaires comme l'identification des enzymes de dégradation de ces pesticides. Il serait très pertinent de déterminer les sous-produits de dégradation de tous les pesticides et évaluer leurs effets toxiques. L'optimisation des biodégradations soit par cultures bactériennes mixtes (consortiums) ou par souche unique est très importante. En outre, nous espérons réaliser des biodégradations dans des réacteurs de laboratoire ou pilote comme le réacteur aérobie à boue granulaire. En fin une étude *in-situ* serait plus que nécessaire.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abbate, C., Borzì, D., Caboni, P., Baglieri, A., et Gennari, M. (2007). Behavior of fenhexamid in soil and water. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 42(7), 843-849. <https://doi.org/10.1080/03601230701555088>.
- Abo-Amer, A. E. (2011). Biodegradation of Diazinon by *Serratia marcescens* DI101 and its use in bioremediation of contaminated environment. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(1), 71-80. <https://doi.org/10.4014/jmb.1007.07024>.
- Aboulhassan, M. A., Souabi, S., Ouarghi, H. E., et Bahlaoui, M. A. (2014). Treatment of textile wastewater using a continuous flow activated sludge system at pilot-scale. *Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 15(3), 221.
- Abraham, J., Shanker, A., et Silambarasan, S. (2013). Role of *Gordonia* sp JAAS1 in biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysing metabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. *Letters in Applied Microbiology*, 57(6), 510-516. <https://doi.org/10.1111/lam.12141>.
- Abraham, J., et Silambarasan, S. (2016). Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol using a novel bacterium *Ochrobactrum* sp. JAS2 : A proposal of its metabolic pathway. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 126, 13-21. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.07.001>.
- Abubakar, Y., Tijjani, H., Egbuna, C., Adetunji, C. O., Kala, S., Kryeziu, T. L., Ifemeje, J. C., et Patrick-Iwuanyanwu, K. C. (2020). Pesticides, history, and classification. *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control*, 29-42. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819304-4.00003-8>.
- Adams, R. M., McAdams, B. C., Arnold, W. A., et Chin, Y. P. (2016). Transformation of chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl in prairie pothole pore waters. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 18(11), 1406-1416. <https://doi.org/10.1039/C6EM00404K>.
- Ahmad, A., Mohd-Setapar, S. H., Chuong, C. S., Khatoon, A., Wani, W. A., Kumar, R., et Rafatullah, M. (2015). Recent advances in new generation dye removal technologies :

- Novel search for approaches to reprocess wastewater. *RSC Advances*, 5(39), 30801-30818. <https://doi.org/10.1039/C4RA16959J>.
- Ahmad, S. R., et Kalam, A. (2014). Hexaconazole biodegradation by a soil isolate and its dehydrogenase study. *Innovations in Pharmaceuticals and Pharmacotherapy* 2 (4), 491-496. <https://doi.org/10.1007%2Fs13205-016-0429-3>.
- Ahmed, I., Mohammed, O., Bahgat, M., Montaser, H. (2017). Biodegradation of Cladinafop Propargyl by *Bacillus* sp. and *Bacillus cereus* Isolated from Field Crop. *Journal of American Science*, 13 (4). <https://doi:10.7537/marsjas130417.10>.
- Aktar, M.W., Sengupta, D., et Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary toxicology*, 2(1), 1-12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>.
- Alexandrino, D. A. M., Mucha, A. P., Almeida, C. M. R., et Carvalho, M. F. (2020). Microbial degradation of two highly persistent fluorinated fungicides—Epoconazole and fludioxonil. *Journal of Hazardous Materials*, 394, 122545. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122545>.
- Al-Khalid, T., et El-Naas, M. H. (2017). Biodegradation of 2, 4 Dichlorophenol. *American Journal of Engineering and Applied Sciences*, 10(1), 175-191. <https://doi.org/10.3844/ajeassp.2017.175.191>.
- Almandoz, M. C., Pagliero, C. L., Ochoa, N. A., et Marchese, J. (2015). Composite ceramic membranes from natural aluminosilicates for microfiltration applications. *Ceramics International*, 41(4), 5621-5633. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.12.144>.
- Al-Shahwani, M. F., Jazrawi, S. F., et Al-Rawi, E. H. (1988). Analysis of flocculation by *Actinomadura* sp. *Biological Wastes*, 26(3), 159-165. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(88\)90162-0](https://doi.org/10.1016/0269-7483(88)90162-0).
- Alvarez, A., Saez, J. M., Davila Costa, J. S., Colin, V. L., Fuentes, M. S., Cuozzo, S. A., Benimeli, C. S., Polti, M. A., et Amoroso, M. J. (2017). *Actinobacteria* : Current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals. *Chemosphere*, 166, 41-62. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.070>.

- Alvarez, A., Yañez, M. L., Benimeli, C. S., et Amoroso, M. J. (2012). Maize plants (*Zea mays*) root exudates enhance lindane removal by native *Streptomyces* strains. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 66(1), 14-18. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.10.001>.
- Alzahrani, A.M. (2009). Insects cytochrome P450 enzymes: Evolution, functions and methods of analysis. *Global Journal of Molecular Sciences*, 4(2), 167-179. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.44.1.507>.
- Amaral, A. F. S. (2014). Pesticides and Asthma : Challenges for epidemiology. *Frontiers in Public Health*, 2, 6. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00006>.
- Amorim, C. L., Carvalho, M. F., Afonso, C. M. M., et Castro, P. M. L. (2013a). Biodegradation of fluoroanilines by the wild strain *Labrys portucalensis*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 80, 10-15. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.02.001>.
- Amorim, C. L., Duque, A. F., Afonso, C. M. M., et Castro, P. M. L. (2013b). Bioaugmentation for treating transient 4-fluorocinnamic acid shock loads in a rotating biological contactor. *Bioresource Technology*, 144, 554-562. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.010>.
- Amorim, C. L., Moreira, I. S., Maia, A. S., Tiritan, M. E., et Castro, P. M. L. (2014). Biodegradation of ofloxacin, norfloxacin, and ciprofloxacin as single and mixed substrates by *Labrys portucalensis* F11. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(7), 3181-3190. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5333-8>.
- An, X., Tian, C., Xu, J., Dong, F., Liu, X., Wu, X., et Zheng, Y. (2020). Characterization of hexaconazole-degrading strain *Sphingobacterium multivorum* and analysis of transcriptome for biodegradation mechanism. *Science of The Total Environment*, 722, 137-171. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137171>.
- Anderson, B. S., Phillips, B. M., Voorhees, J. P., Deng, X., Geraci, J., Worcester, K., et Tjeerdema, R. S. (2018). Changing patterns in water toxicity associated with current use pesticides in three California agriculture regions : Changing patterns in pesticides in regional California agricultural runoff. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 14(2), 270-281. <https://doi.org/10.1002/ieam.2005>.

- Anderson, S. E., et Meade, B. J. (2014). Potential health effects associated with dermal exposure to occupational chemicals. *Environmental Health Insights*, 8, EHI.S15258. <https://doi.org/10.4137/EHI.S15258>.
- Anhalt, J. C., Moorman, T. B., et Koskinen, W. C. (2007). Biodegradation of imidacloprid by an isolated soil microorganism. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 42(5), 509-514. <https://doi.org/10.1080/03601230701391401>.
- Aniyikaiye, T., Oluseyi, T., Odiyo, J., et Edokpayi, J. (2019). Physico-chemical analysis of wastewater discharge from selected paint industries in Lagos, Nigeria. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(7), 1235. <https://doi.org/10.3390/ijerph16071235>.
- Ansara-Ross, T., Wepener, V., van den Brink, P., et Ross, M. (2012). Pesticides in South African fresh waters. *African Journal of Aquatic Science*, 37(1), 1-16. <https://doi.org/10.2989/16085914.2012.666336>.
- Anukool, S., et Shivani, S. (2011). Assessment of physico-chemical properties and sewage pollution indicator bacteria in surface water of River Gomti in Uttar Pradesh. *International Journal of Environmental Sciences*, 2(1), 325-336.
- Anwar, S., Liaquat, F., Khan, Q. M., Khalid, Z. M., et Iqbal, S. (2009). Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1. *Journal of Hazardous Materials*, 168(1), 400-405. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.02.059>.
- Arbuckle, T. E., Lin, Z., et Mery, L. S. (2001). An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. *Environmental Health Perspectives*, 109(8), 7. <https://doi.org/10.1289%2Fehp.01109851>.
- Arif, I.A., Bakir, M.A., et Khan, H.A. (2012). Microbial remediation of pesticides. In *Pesticides: Evaluation of environmental pollution*, Taylor & Francis Group, 131–144.
- Atlas, R. (1997). Principles of microbiology. *WCB McGraw-Hill*, New York, NY. (No. 631.46 A8.).
- Azam, K., Raza, R., Shezad, N., Shabir, M., Yang, W., Ahmad, N., Shafiq, I., Akhter, P., Razzaq, A., et Hussain, M. (2020). Development of recoverable magnetic mesoporous

carbon adsorbent for removal of methyl blue and methyl orange from wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), 104220. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104220>.

B

Baćmaga, M., Wyszowska, J., et Kucharski, J. (2021). Bacterial diversity and enzymatic activity in a soil recently treated with tebuconazole. *Ecological Indicators*, 123, 107373. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107373>.

Baczynski, T. P., Pleissner, D., et Grotenhuis, T. (2010). Anaerobic biodegradation of organochlorine pesticides in contaminated soil – Significance of temperature and availability. *Chemosphere*, 78(1), 22-28. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.058>.

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., Clément, C., Ouhdouch, Y., et van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>.

Beard, J. D., Umbach, D. M., Hoppin, J. A., Richards, M., Alavanja, M. C. R., Blair, A., Sandler, D. P., et Kamel, F. (2014). Pesticide exposure and depression among male private pesticide applicators in the agricultural health study. *Environmental Health Perspectives*, 122(9), 984-991. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307450>.

Benaricha, B., et Elouissi, A. (2015). Physico-chemical characterization of effluent from the effluent treatment plant using activated sludge from Saida city (Algeria) and evaluation of the pollution degree. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(9), 749-763.

Benedetti, D., Da Silva, F. R., Kvitko, K., Fernandes, S. P., et da, J. (2014). Genotoxicity induced by occupational exposure to pesticides. *Pesticides—Toxic Aspects. InTech; Munich, Germany*, 29-51. <https://doi.org/10.5772/57319>.

Bengherbia, A., Hamaidi, F., Zahraoui, R., et Megateli, S. (2014). Impact des rejets des eaux usées sur la qualité physico-chimique et bactériologique de l’oued Beni Aza (Blida, Algérie). *Lebanese Science Journal*, 15(2), 39-51.

- Benimeli, C. S., Amoroso, M. J., Chaile, A. P., et Castro, G. R. (2003). Isolation of four aquatic streptomycetes strains capable of growth on organochlorine pesticides. *Bioresource Technology*, 89(2), 133-138. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00061-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00061-0).
- Benimeli, C. S., Castro, G. R., Chaile, A. P., et Amoroso, M. J. (2006). Lindane removal induction by *Streptomyces* sp. M7. *Journal of Basic Microbiology*, 46(5), 348-357. <https://doi.org/10.1002/jobm.200510131>.
- Benimeli, C. S., Castro, G. R., Chaile, A. P., et Amoroso, M. J. (2007). Lindane uptake and degradation by aquatic *Streptomyces* sp. Strain M7. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59(2), 148-155. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.07.014>.
- Benimeli, C. S., Fuentes, M. S., Abate, C. M., et Amoroso, M. J. (2008). Bioremediation of lindane-contaminated soil by *Streptomyces* sp. M7 and its effects on *Zea mays* growth. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 61(3), 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.09.001>.
- Bensultana, A., Ouhdouch, Y., Hassani, L., Mezrioui, N. E., et Rafouk, L. (2010). Isolation and characterization of wastewater sand filter actinomycetes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(3), 481-487. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0194-0>.
- Bernardes, M. F. F., Pazin, M., Pereira, L. C., et Dorta, D. J. (2015). Impact of pesticides on environmental and human health. *Toxicology Studies—Cells, Drugs and Environment*, 195-233. <https://doi.org/10.5772/59710>.
- Bertomeu-Sánchez, J. R. (2019). Introduction. Pesticides : Past and Present. *HoST - Journal of History of Science and Technology*, 13(1), 1-27. <https://doi.org/10.2478/host-2019-0001>.
- Bessa, V. S., Moreira, I. S., Murgolo, S., Mascolo, G., et Castro, P. M. L. (2019). Carbamazepine is degraded by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11. *Science of The Total Environment*, 690, 739-747. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.461>.

- Bessa, V. S., Moreira, I. S., Van Loosdrecht, M. C. M., et Castro, P. M. L. (2021). Biological removal processes in aerobic granular sludge exposed to diclofenac. *Environmental Technology*, 1-14. <https://doi.org/10.1080/09593330.2021.1921048>.
- Betancur-Corredor, B., Pino, N. J., Cardona, S., et Peñuela, G. A. (2015). Evaluation of biostimulation and Tween 80 addition for the bioremediation of long-term DDT-contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences*, 28, 101-109. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.06.044>.
- Bhalerao, T. S., et Puranik, P. R. (2007). Biodegradation of organochlorine pesticide, endosulfan, by a fungal soil isolate, *Aspergillus niger*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59(4), 315-321. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.09.002>.
- Bhatt, P., Huang, Y., Zhang, W., Sharma, A., et Chen, S. (2020). Enhanced cypermethrin degradation kinetics and metabolic pathway in *Bacillus thuringiensis* strain SG4. *Microorganisms*, 8(2), 223. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020223>.
- Birilli, W. G., Vacondio, B., Alvarenga, N., Selegim, M. H. R., et Porto, A. L. M. (2018). Enantioselective biodegradation of the pyrethroid (\pm)-lambda-cyhalothrin by marine-derived fungi. *Chemosphere*, 197, 651-660. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.054>.
- Bo, Y.C., et Zhang, X. (2018). Online adaptive dynamic programming based on echo state networks for dissolved oxygen control. *Applied Soft Computing*, 62, 830-839. <https://doi.org/10.1016/j.asoc.2017.09.015>.
- Boks, N. P., Norde, W., van der Mei, H. C., et Busscher, H. J. (2008). Forces involved in bacterial adhesion to hydrophilic and hydrophobic surfaces. *Microbiology*, 154(10), 3122-3133. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2008/018622-0>.
- Bolognesi, C., et Merlo, F.D. (2011). Pesticides: human health effects. *Encyclopedia of Environmental Health*. 438-453. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.014>.
- Bonmatin, J. M., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreuzweiser, D. P., Krupke, C., Liess, M., Long, E., Marzaro, M., Mitchell, E. A. D., Noome, D. A., Simon-Delso, N., et Tapparo, A. (2015). Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil.

- Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 35-67.
<https://doi.org/10.1007/s11356-014-3332-7>.
- Borzì, D., Abbate, C., Martin-Laurent, F., El Azhari, N., et Gennari, M. (2007). Studies on the response of soil microflora to the application of the fungicide fenhexamid. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 87(13-14), 949-956.
<https://doi.org/10.1080/03067310701451103>.
- Bose, S., Kumar, P. S., Vo, D. V. N., Rajamohan, N., et Saravanan, R. (2021). Microbial degradation of recalcitrant pesticides : A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4), 3209-3228. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01236-5>.
- Bošković, N., Brandstätter-Scherr, K., Sedláček, P., Bílková, Z., Bielská, L., et Hofman, J. (2020). Adsorption of epoxiconazole and tebuconazole in twenty different agricultural soils in relation to their properties. *Chemosphere*, 261, 127637.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127637>.
- Boudemagh, A. (2007). Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse de doctorat: Microbiologie appliquée. Université frères Mentouri – Constantine, Algérie. Page: 144.
- Boudemagh, A., et Bensouici, K. (2014). The effect of thermic pretreatment and antibiotics on the selective isolation of the culturable actinomycetes from the Algerian desert soil. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 39, 25-32.
- Boufercha, O., Moreira, I. S., Castro, P. M. L., et Boudemagh, A. (2022). *Actinobacteria* isolated from wastewater treatment plants located in the east-north of Algeria able to degrade pesticides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(6), 105.
<https://doi.org/10.1007/s11274-022-03282-9>.
- Boughou, N., Majdy, I., Cherkaoui, E., Khamar, M., et Nounah, A. (2018). Physico-chemical characterization of wastewater from slaughterhouse: Case of Rabat in Morocco. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 13 (2), 6.
- Bradford, B. Z., Huseth, A. S., et Groves, R. L. (2018). Widespread detections of neonicotinoid contaminants in central Wisconsin groundwater. *PLOS ONE*, 13(10), 0201753. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201753>.

- Brenner, K., You, L., et Arnold, F. H. (2008). Engineering microbial consortia : A new frontier in synthetic biology. *Trends in Biotechnology*, 26(9), 483-489. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.05.004>.
- Briceño, G., Fuentes, M. S., Palma, G., Jorquera, M. A., Amoroso, M. J., et Diez, M. C. (2012). Chlorpyrifos biodegradation and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol production by *Actinobacteria* isolated from soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 73, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.06.002>.
- Briceño, G., Fuentes, M. S., Rubilar, O., Jorquera, M., Tortella, G., Palma, G., Amoroso, M. J., et Diez, M. C. (2015). Removal of the insecticide diazinon from liquid media by free and immobilized *Streptomyces* sp. isolated from agricultural soil : Removal of insecticide diazinon from liquid residues. *Journal of Basic Microbiology*, 55(3), 293-302. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300576>.
- Briceño, G., Schalchli, H., Rubilar, O., Tortella, G. R., Mutis, A., Benimeli, C. S., Palma, G., et Diez, M. C. (2016). Increased diazinon hydrolysis to 2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinol in liquid medium by a specific *Streptomyces* mixed culture. *Chemosphere*, 156, 195-203. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.118>.
- Briggs, J., Whitwell, T., Fernandez, R. T., et Riley, M. B. (2002). Effect of integrated pest management strategies on chlorothalonil, metalaxyl, and thiophanate-methyl runoff at a container nursery. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(6), 1018-1024. <https://doi.org/10.21273/JASHS.127.6.1018>.
- Brycht, M., Łukawska, A., Frühbauerová, M., Pravcová, K., Metelka, R., Skrzypek, S., et Sýs, M. (2021). Rapid monitoring of fungicide fenhexamid residues in selected berries and wine grapes by square-wave voltammetry at carbon-based electrodes. *Food Chemistry*, 338, 127975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127975>.
- Buiarelli, F., Di Filippo, P., Riccardi, C., Pomata, D., Marsiglia, R., Console, C., et Puri, D. (2018). Hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of fosetyl-aluminum in airborne particulate matter. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2018/8792085>.

Bull, A. T., Stach, J. E. M., Ward, A. C., et Goodfellow, M. (2005). Marine Actinobacteria : Perspectives, challenges, future directions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 87(1), 65-79. <https://doi.org/10.1007/s10482-004-6562-8>.

Bull, A. T., Ward, A. C., et Goodfellow, M. (2000). Search and discovery strategies for biotechnology : The paradigm shift. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(3), 573-606. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.3.573-606.2000>.

C

Carvalho, M. F., De Marco, P., Duque, A. F., Pacheco, C. C., Janssen, D. B., et Castro, P. M. L. (2008). *Labrys portucalensis* sp. Nov., a fluorobenzene-degrading bacterium isolated from an industrially contaminated sediment in northern Portugal. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(3), 692-698. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65472-0>.

Carvalho, M. F., Ferreira Jorge, R., Pacheco, C. C., De Marco, P., et Castro, P. M. L. (2005). Isolation and properties of a pure bacterial strain capable of fluorobenzene degradation as sole carbon and energy source. *Environmental Microbiology*, 7(2), 294-298. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00714.x>.

Carvalho, M. F., Maia, A. S., Tiritan, M. E., et Castro, P. M. L. (2016). Bacterial degradation of moxifloxacin in the presence of acetate as a bulk substrate. *Journal of Environmental Management*, 168, 219-228. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.010>.

Casida, J. E. (2011). Neonicotinoid Metabolism : Compounds, Substituents, Pathways, Enzymes, Organisms, and Relevance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 2923-2931. <https://doi.org/10.1021/jf102438c>.

Casida, J. E., et Durkin, K. A. (2017). Pesticide chemical research in toxicology : Lessons from nature. *Chemical Research in Toxicology*, 30(1), 94-104. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00303>.

Celik-Ozenci, C., Tasatargil, A., Tekcan, M., Sati, L., Gungor, E., Isbir, M., Usta, M. F., Akar, M. E., et Erler, F. (2012). Effect of abamectin exposure on semen parameters

- indicative of reduced sperm maturity: A study on farmworkers in Antalya (Turkey). *Andrologia*, 44(6), 388-395. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2012.01297.x>.
- Chater, K.F., et Chandra, G. (2006). The evolution of development in *Streptomyces* analysed by ge-nome comparisons. *FEMS microbiology reviews*, 30, 651-672. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00033.x>.
- Chatterjee, A., Shamim, S., Jana, A. K., et Basu, J. K. (2020). Insights into the competitive adsorption of pollutants on a mesoporous alumina–silica nano-sorbent synthesized from coal fly ash and a waste aluminium foil. *RSC Advances*, 10(26), 15514-15522. <https://doi.org/10.1039/D0RA01397H>.
- Chen, A., Li, W., Zhang, X., Shang, C., Luo, S., Cao, R., et Jin, D. (2021). Biodegradation and detoxification of neonicotinoid insecticide thiamethoxam by white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Hazardous Materials*, 417, 126017. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126017>.
- Chen, S., Deng, J., Deng, Y., et Gao, N. (2019) Influencing factors and kinetic studies of imidacloprid degradation by ozonation. *Environmental Technology*, 40(16), 2127–2134. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1439105>.
- Chen, S., Lai, K., Li, Y., Hu, M., Zhang, Y., et Zeng, Y. (2011). Biodegradation of deltamethrin and its hydrolysis product 3-phenoxybenzaldehyde by a newly isolated *Streptomyces aureus* strain HP-S-01. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(4), 1471-1483. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3136-3>.
- Chen, W., et Georgiou, G. (2002). Cell-Surface display of heterologous proteins : From high-throughput screening to environmental applications. *Biotechnology and Bioengineering*, 79(5), 496-503. <https://doi.org/10.1002/bit.10407>.
- Choi, Y.Y., Baek, S.R., Kim, J.I., Choi, J.W., Hur, J., Lee, T.U., Park, C.J., et Lee, B. (2017). Characteristics and biodegradability of wastewater organic matter in municipal wastewater treatment plants collecting domestic wastewater and industrial discharge. *Water*, 9(6), 409. <https://doi.org/10.3390/w9060409>.

- Chris Felshia, S., AshwinKarthick, N., Thilagam, R., et Gnanamani, A. (2020). Elucidation of 2, 4-Dichlorophenol degradation by *Bacillus licheniformis* strain SL10. *Environmental Technology*, 41(3), 366-377. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1498923>.
- Coelho, L. M., Rezende, H. C., Coelho, L. M., de Sousa, P. A. R., Melo, D. F. O., et Coelho, N. M. M. (2015). Bioremediation of polluted waters using microorganisms. *Advances in Bioremediation of Wastewater and Polluted Soil*, 10, 60770. <https://doi.org/10.5772/60770>.
- Connell, D.W. (2005). Basic concepts of environmental chemistry. *CRC/Taylor & Francis*, 480. <https://doi.org/10.1201/b12378>.
- Copley, S. D. (2009). Evolution of efficient pathways for degradation of anthropogenic chemicals. *Nature Chemical Biology*, 5(8), 559-566. <https://doi.org/10.1038/nchembio.197>.
- Corke, C. T., et Chase, F. E. (1964). Comparative studies of Actinomycete populations in acid podzolic and neutral mull forest soils. *Soil Science Society of America Journal*, 28(1), 68-70. <https://doi.org/10.2136/sssaj1964.03615995002800010034x>.
- Corniani, N., Velini, E. D., Silva, F. M. L., Nanayakkara, N. P. D., Witschel, M., et Dayan, F. E. (2014). Novel bioassay for the discovery of inhibitors of the 2-c-methyl-d-erythritol 4-phosphate (MEP) and terpenoid pathways leading to carotenoid biosynthesis. *PLoS ONE*, 9(7), 103704. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103704>.
- Cross, T. (1981). Aquatic Actinomycetes : A critical survey of the occurrence, growth and role of actinomycetes in aquatic habitats. *Journal of Applied Bacteriology*, 50(3), 397-423. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1981.tb04245.x>.
- Cross, T., et Goodfellow, M. (1973). Taxonomy and classification of the actinomycetes. *Society for Applied Bacteriology symposium series 2*, 11-112.
- Cycoń, M., Mroziak, A., et Piotrowska-Seget, Z. (2017). Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review. *Chemosphere*, 172, 52-71. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.129>.
- Cycoń, M., Wójcik, M., et Piotrowska-Seget, Z. (2009). Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia* sp. and *Pseudomonas* sp. and their

- use in bioremediation of contaminated soil. *Chemosphere*, 76(4), 494-501. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.023>.
- Cycoń, M., Wójcik, M., et Piotrowska-Seget, Z. (2011a). Biodegradation kinetics of the benzimidazole fungicide thiophanate-methyl by bacteria isolated from loamy sand soil. *Biodegradation*, 22(3), 573-583. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9430-4>.
- Cycoń, M., Żmijowska, A., et Piotrowska-Seget, Z. (2011b). Biodegradation kinetics of 2,4-D by bacterial strains isolated from soil. *Central European Journal of Biology*, 6(2), 188-198. <https://doi.org/10.2478/s11535-011-0005-0>.
- Czaplicka, M. (2004). Sources and transformations of chlorophenols in the natural environment. *Science of The Total Environment*, 322(1-3), 21-39. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.09.015>.
- Czene, K., Lichtenstein, P., et Hemminki, K. (2002). Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish family-cancer database. *International Journal of Cancer*, 99(2), 260-266. <https://doi.org/10.1002/ijc.10332>.
- D**
- Damalas, C. A., et Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(5), 1402-1419. <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>.
- da Rocha, A. G., Pitombo, L. M., Bresolin, J. D., da Silva, W. T. L., Espindola, E. L. G., et de Menezes Oliveira, V. B. (2020). Single and combined toxicity of the pesticides abamectin and difenoconazole on soil microbial activity and *Enchytraeus crypticus* population. *SN Applied Sciences*, 2(8), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-3175-4>.
- Das, S., Hageman, K. J., Taylor, M., Michelsen-Heath, S., et Stewart, I. (2020). Fate of the organophosphate insecticide, chlorpyrifos, in leaves, soil, and air following application. *Chemosphere*, 243, 125-194. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125194>.
- Debieu, D., Bach, J., Hugon, M., Malosse, C., et Leroux, P. (2001). The hydroxyanilide fenhexamid, a new sterol biosynthesis inhibitor fungicide efficient against the plant

- pathogenic fungus *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*). *Pest Management Science*, 57(11), 1060-1067. <https://doi.org/10.1002/ps.394>.
- de la Peña Mattozzi, M., Tehara, S.K., Hong, T., et Keasling, J.D. (2006). Mineralization of paraoxon and its use as a sole C and P source by a rationally designed catabolic pathway in *Pseudomonas putida*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(10):6699–6706.
- Deng, L., Li, B., Xu, Y., Shi, Q., et Pan, X. (2011). Efficacy of two flubendiamide ready mixture insecticides on *Stenchaetothrips biformis* and the growth of direct seeding rice by seed dressing. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27, 286–290.
- De Paolis, M. R., Lippi, D., Guerriero, E., Polcaro, C. M., et Donati, E. (2013). Biodegradation of α -, β -, and γ -Hexachlorocyclohexane by *Arthrobacter fluorescens* and *Arthrobacter giacomelloi*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(3), 514-524. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0147-9>.
- De-Bashan, L. E., et Bashan, Y. (2010). Immobilized microalgae for removing pollutants : Review of practical aspects. *Bioresource Technology*, 101(6), 1611-1627. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.043>.
- Deegan, A. M., Shaik, B., Nolan, K., Urell, K., Oelgemöller, M., Tobin, J., et Morrissey, A. (2011). Treatment options for wastewater effluents from pharmaceutical companies. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 8(3), 649-666. <https://doi.org/10.1007/BF03326250>.
- del Pilar Castillo, M., von Wirn-Lehr, S., Scheunert, I., et Torstensson, L. (2001). Degradation of isoproturon by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Biology and Fertility of Soils*, 33(6), 521-528. <https://doi.org/10.1007/s003740100372>.
- Dennis, L. K., Lynch, C. F., Sandler, D. P., et Alavanja, M. C. R. (2010). Pesticide use and cutaneous melanoma in pesticide applicators in the agricultural health study. *Environmental Health Perspectives*, 118(6), 812-817. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901518>.
- de Sena, R. F., Moreira, R. F. P. M., et José, H. J. (2008). Comparison of coagulants and coagulation aids for treatment of meat processing wastewater by column flotation.

- Bioresource Technology*, 99(17), 8221-8225.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.014>.
- de Souza, A. J., de Andrade, P. A. M., de Araújo Pereira, A. P., Andreote, F. D., Tornisielo, V. L., et Regitano, J. B. (2017). The depleted mineralization of the fungicide chlorothalonil derived from loss in soil microbial diversity. *Scientific Reports*, 7(1), 14646. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14803-0>.
- de Souza, R. M., Seibert, D., Quesada, H. B., de Jesus Bassetti, F., Fagundes-Klen, M. R., et Bergamasco, R. (2020). Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water : A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 135, 22-37.
<https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.12.035>.
- Devers-Lamrani, M., Pesce, S., Rouard, N., et Martin-Laurent, F. (2014). Evidence for cooperative mineralization of diuron by *Arthrobacter* sp. BS2 and *Achromobacter* sp. SP1 isolated from a mixed culture enriched from diuron exposed environments. *Chemosphere*, 117, 208-215. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.080>.
- Dhanasekaran, D., Thajuddin, N., et Panneerselvam, A. (2015). *Antimicrobials : Synthetic and Natural Compounds*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b19224>.
- Dhouib, I., Jallouli, M., Annabi, A., Marzouki, S., Gharbi, N., Elfazaa, S., et Lasram, M. M. (2016). From immunotoxicity to carcinogenicity : The effects of carbamate pesticides on the immune system. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(10), 9448-9458. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6418-6>.
- Dhungana, S. K., Kim, I.D., Kwak, H.S., et Shin, D.H. (2016). Unraveling the effect of structurally different classes of insecticide on germination and early plant growth of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 130, 39-43. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.12.002>.
- Dietz, A., et Mathews, J. (1971). Classification of *Streptomyces* spore surfaces into five groups. *Applied Microbiology*, 21(3), 527-533.
<https://doi.org/10.1128%2Fam.21.3.527-533.1971>.

- Donlan, R. M., et Costerton, J. W. (2002). Biofilms : Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167-193. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>.
- Doolotkeldieva, T., Bobusheva, S., et Konurbaeva, M. (2021). The Improving conditions for the aerobic bacteria performing the degradation of obsolete pesticides in polluted soils. *Air, Soil and Water Research*, 14, 117862212098259. <https://doi.org/10.1177/1178622120982590>.
- Doolotkeldieva, T., Konurbaeva, M., et Bobusheva, S. (2018). Microbial communities in pesticide-contaminated soils in Kyrgyzstan and bioremediation possibilities. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(32), 31848-31862. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0048-5>.
- Dua, M., Singh, A., Sethunathan, N., et Johri, AK. (2002). Biotechnology and bioremediation: suc- cesses and limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59:143–152. <https://doi.org/10.1007/ s00253-002-1024-6>.
- Duan, L., Wang, W., et Sun, Y. (2013). Ammonium nitrogen adsorption-desorption characteristics and its hysteresis of typical soils from guanzhong basin, China. *Asian Journal of Chemistry*, 25, 3850–3854.
- Dulaney, E. L., Larsen, A. H., et Stapley, E. O. (1955). A note on the isolation of microorganisms from natural sources. *Mycologia*, 47(3), 420. <https://doi.org/10.2307/3755463>.
- Duque, A. F., Bessa, V. S., Carvalho, M. F., de Kreuk, M. K., Van Loosdrecht, M. C. M., et Castro, P. M. L. (2011). 2-Fluorophenol degradation by aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. *Water Research*, 45(20), 6745-6752. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.033>.
- Dyguda-Kazimierowicz, E., Roszak, S., et Sokalski, W. A. (2014). Alkaline hydrolysis of organophosphorus pesticides: The dependence of the reaction mechanism on the incoming group conformation. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(26), 7277-7289. <https://doi.org/10.1021/jp503382j>.

E

- Eckenfelder, W.W., et Cleary, J.G. (2014). Activated sludge technologies for treating industrial wastewaters: Design and troubleshooting. DEStech Publications, Inc.
- Edwards, C. (1993). Isolation properties and potential applications of thermophilic actinomycetes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 42(2), 161–179. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02788050>.
- Eissa, F.I., Mahmoud, H.A., et Massoud, O.N. (2014). Biodegradation of chlorpyrifos by microbial strains isolated from agricultural wastewater. *Journal of American Science*, 10(3), 98-108.
- El Hachemi. O. (2012). Traitement des eaux usées par lagunage naturel en milieu désertique (Oasis de Figuig) : Performances épuratoires et aspect phytoplanctonique. Thèse de Doctorat : Ecologie végétale -Université Mohammed Premier –Oujda, Maroc. Page: 140.
- El-Nakeeb, M. A., et Lechevalier, H. A. (1963). Selective isolation of aerobic actinomycetes. 3. *International Journal of Sediment Research*, 31(1), 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.ijsrc.2013.03.001>.
- El-Naggar, N. E.A., Abdelwahed, N. A. M., Saber, W. I. A., et Mohamed, A. A. (2014). Bioprocessing of some agro-industrial residues for endoglucanase production by the new subsp.; *Streptomyces albogriseolus* subsp. *Cellulolyticus* strain NEAE-J. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(2), 743-751. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014005000049>.
- El Nemr, A., et El-Sadaawy, M. M. (2016). Polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide residues in surface sediments from the Mediterranean Sea (Egypt). *International Journal of Sediment Research*, 31(1), 44-52.
- El-Sayed, W. S., El-Baz, A. F., et Othman, A. M. (2006). Biodegradation of melamine formaldehyde by *Micrococcus* sp. strain MF-1 isolated from aminoplastic wastewater effluent. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 57(2), 75-81. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2005.11.006>.

El-Shatoury, S., Mitchell, J., Bahgat, M., et Dewedar, A. (2004). Biodiversity of actinomycetes in a constructed wetland for industrial effluent treatment. *Actinomycetologica*, 18(1), 1-7. https://doi.org/10.3209/saj.18_1.

Elskens, M. (2010). Analyse des eaux résiduaires, Mesure de la pollution. Techniques de l'ingénieur- Techniques d'analyse, 2, 4200.

EU, COMMISSION IMPLEMENTING DECISION 2018/ 840 - of 5 June 2018 - establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/ 105/ EC of the European Parliament and of the Council and repealing Commission Implementing Decision (EU) 2015/ 495 - (notified under document C(2018) 3362), 4.

F

Fang, H., Deng, Y., Ge, Q., Mei, J., Zhang, H., Wang, H., et Yu, Y. (2018). Biodegradability and ecological safety assessment of *Stenotrophomonas* sp. DDT-1 in the DDT-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 158, 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.026>.

Fareed, M., Kesavachandran, C. N., Pathak, M. K., Bihari, V., Kuddus, M., et Srivastava, A. K. (2012). Visual disturbances with cholinesterase depletion due to exposure of agricultural pesticides among farm workers. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 94(8), 1601-1609. <https://doi.org/10.1080/02772248.2012.718780>.

Faria, N. M. X., Facchini, L. A., Fassa, A. G., et Tomasi, E. (2005). Pesticides and respiratory symptoms among farmers. *Revista de Saúde Pública*, 39(6), 973-981. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102005000600016>.

Fathallah, Z., Elkharrim, K., Fathallah, R., Hbaiz, E.M., Hamid, C., Ayyach, A., Elkhadmaoui, A., et Belghyti, D. (2014). Étude physico-chimique des eaux usées de l'unité industrielle papetière (cdm) a Sidi Yahia El Gharb (Maroc). *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (20)

Fazlurrahman, Batra, M., Pandey, J., Suri, C.R., et Jain, R.K., (2009). Isolation and characterization of an atrazine-degrading *Rhodococcus* sp. strain MB-P1 from contaminated soil. *Letters in Applied Microbiology*, 49(6), 721-729.

- Fenner, K., Canonica, S., Wackett, L. P., et Elsner, M. (2013). Evaluating pesticide degradation in the environment: blind spots and emerging opportunities. *Science*, 341(6147), 752-758. <https://doi.org/10.1126/science.1236281>.
- Feo, M. L., Ginebreda, A., Eljarrat, E., et Barceló, D. (2010). Presence of pyrethroid pesticides in water and sediments of Ebro River Delta. *Journal of Hydrology*, 393(3-4), 156-162. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.08.012>.
- Fernández-López, M. G., Popoca-Ursino, C., Sánchez-Salinas, E., Tinoco-Valencia, R., Folch-Mallol, J. L., Dantán-González, E., et Laura Ortiz-Hernández, M. (2017). Enhancing methyl parathion degradation by the immobilization of *Burkholderia* sp. Isolated from agricultural soils. *MicrobiologyOpen*, 6(5), e00507. <https://doi.org/10.1002/mbo3.507>.
- Ferrusquía-García, C. J., Roa-Morales, G., et García-Fabila, M. M. (2008). Evaluación de la degradación de metil paratión en solución usando fotocatalisis heterogénea. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 4(2), 285-290.
- Fischer, K., et Majewsky, M. (2014). Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(15), 6583-6597. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5826-0>.
- Flärdh, K. (2003). Growth polarity and cell division in *Streptomyces*. *Current Opinion in Microbiology*, 6(6), 564-571. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.10.011>.
- Flemming, H. C., et Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623-633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>.
- Fontana, A. R., Lana, N. B., Martinez, L. D., et Altamirano, J. C. (2010). Ultrasound-assisted leaching-dispersive solid-phase extraction followed by liquid-liquid microextraction for the determination of polybrominated diphenyl ethers in sediment samples by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*, 82(1), 359-366. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.04.050>.

- Fournier, B., Pereira Dos Santos, S., Gustavsen, J. A., Imfeld, G., Lamy, F., Mitchell, E. A. D., Mota, M., Noll, D., Planchamp, C., et Heger, T. J. (2020). Impact of a synthetic fungicide (fosetyl-Al and propamocarb-hydrochloride) and a biopesticide (*Clonostachys rosea*) on soil bacterial, fungal, and protist communities. *Science of The Total Environment*, 738, 139635. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139635>.
- Frazer, C. (2000). The bioremediation and phytoremediation of pesticide-contaminated sites. Washington D.C. 49: US Environmental Protection Agency.
- Fuentes, M. S., Colin, V. L., Amoroso, M. J., et Benimeli, C. S. (2016). Selection of an *Actinobacteria* mixed culture for chlordane remediation. Pesticide effects on microbial morphology and bioemulsifier production : *Actinobacteria* mixed culture for chlordane remediation. *Journal of Basic Microbiology*, 56(2), 127-137. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500514>.
- Fuentes, M.S., Colin, V.L., et Saez, J.M. (2018). Strategies for bioremediation of organic and inorganic pollutants (1st ed.). CRC Press, 312. <https://doi.org/10.1201/b22045>.
- Fuentes, M. S., Sáez, J. M., Benimeli, C. S., et Amoroso, M. J. (2011). Lindane biodegradation by defined consortia of indigenous *Streptomyces* strains. *Water, Air, & Soil Pollution*, 222(1-4), 217-231. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0818-5>.
- G**
- Gallizia, I., McClean, S., et Banat, I. M. (2003). Bacterial biodegradation of phenol and 2,4-dichlorophenol. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 78(9), 959-963. <https://doi.org/10.1002/jctb.890>.
- Gangireddygari, V. S. R., Kalva, P. K., Ntushelo, K., Bangeppagari, M., Djami Tchatchou, A., et Bontha, R. R. (2017). Influence of environmental factors on biodegradation of quinalphos by *Bacillus thuringiensis*. *Environmental Sciences Europe*, 29(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s12302-017-0109-x>.
- Gao, B., et Gupta, R.S. (2012). Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum *Actinobacteria*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(1), 66-112. <http://dx.doi.org/10.1128/MMBR.05011-11>.

- Gaya, U. I., Abdullah, A. H., Zainal, Z., et Hussein, M. Z. (2010). Photocatalytic degradation of 2,4-dichlorophenol in irradiated aqueous ZnO suspension. *International Journal of Chemistry*, 2(1), 180. <https://doi.org/10.5539/ijc.v2n1p180>.
- Geng, Y., Ma, J., Zhou, R., Jia, R., Li, C., et Ma, X. (2017). Assessment of insecticide risk to human health in groundwater in Northern China by using the China-PEARL model: Insecticide groundwater risk assessment by the China-PEARL model. *Pest Management Science*, 73(10), 2063-2070. <https://doi.org/10.1002/ps.4572>.
- Ghai, R., McMahon, K. D., et Rodriguez-Valera, F. (2012). Breaking a paradigm: Cosmopolitan and abundant freshwater actinobacteria are low GC: Freshwater Actinobacteria are low GC. *Environmental Microbiology Reports*, 4(1), 29-35. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2011.00274.x>.
- Ghumro, W. A. (2017). Pesticide lambda-cyhalothrin degradation using *Mesorhizobium* sp.(S1b) and *Bartonella* sp.(S2b) strains isolated from cotton crop. *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*, 18(2), 112-119. <https://doi.org/10.21743/pjaec/2017.12.11>.
- Gilden, R.C., Huffling, K., et Sattler, B., (2010). Pesticides and health risks. *Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing*, 39(1), 103-110. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1552-6909.2009.01092.x>. PMID 20409108.
- Girard, G., Traag, B. A., Sangal, V., Mascini, N., Hoskisson, P. A., Goodfellow, M., et van Wezel, G. P. (2013). A novel taxonomic marker that discriminates between morphologically complex actinomycetes. *Open Biology*, 3(10), 130073. <https://doi.org/10.1098/rsob.130073>.
- Girard, G., Willemsse, J., Zhu, H., Claessen, D., Bukarasam, K., Goodfellow, M., et van Wezel, G. P. (2014). Analysis of novel *kitasatosporae* reveals significant evolutionary changes in conserved developmental genes between *Kitasatospora* and *Streptomyces*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106(2), 365-380. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0209-1>.
- Gkorezis, P., Daghigho, M., Franzetti, A., Van Hamme, J. D., Sillen, W., et Vangronsveld, J. (2016). The interaction between plants and bacteria in the remediation of petroleum

- hydrocarbons : An environmental perspective. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1836. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01836>.
- González, T., Dominguez, J. R., et Correia, S. (2020). Neonicotinoids removal by associated binary, tertiary and quaternary advanced oxidation processes : Synergistic effects, kinetics and mineralization. *Journal of Environmental Management*, 261, 110-156. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110156>.
- Goodfellow, M., Davenport, R., Stainsby, F. M., et Curtis, T. P. (1996). Actinomycete diversity associated with foaming in activated sludge plants. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 17(3-4), 268-280. <https://doi.org/10.1007/BF01574701>.
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M. E., Suzuki, K., Ludwig, W., et Whitman, W. B. (2012). The Actinobacteria, part A. *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*, 5. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68233-4>.
- Grandclément, C., Seyssiecq, I., Piram, A., Wong-Wah-Chung, P., Vanot, G., Tiliacos, N., Roche, N., et Doumenq, P. (2017). From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal : A review. *Water Research*, 111, 297-317. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.005>.
- Grdiša, M., Varga, F., Ninčević, T., Ptiček, B., Dabić, D., et Biošić, M. (2020). The extraction efficiency of maceration, UAE and MSPD in the extraction of pyrethrins from Dalmatian pyrethrum. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 85(3), 257-267.
- Grella, M., Miranda-Fuentes, A., Marucco, P., Balsari, P., et Gioelli, F. (2020). Development of drift-reducing spouts for vineyard pneumatic sprayers : Measurement of droplet size spectra generated and their classification. *Applied Sciences*, 10(21), 7826. <https://doi.org/10.3390/app10217826>.
- Grossart, H. P., Schlingloff, A., Bernhard, M., Simon, M., et Brinkhoff, T. (2004). Antagonistic activity of bacteria isolated from organic aggregates of the German Wadden Sea. *FEMS Microbiology Ecology*, 47(3), 387-396. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(03\)00305-2](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(03)00305-2).

- Guerin, T. F. (2005). Natural attenuation of metabolites of a chlorinated pesticide in soil. *International Journal of Environmental Studies*, 62(2), 235-248. <https://doi.org/10.1080/0020723042000257745>.
- Guo, F., Wang, Z. P., Yu, K., et Zhang, T. (2015). Detailed investigation of the microbial community in foaming activated sludge reveals novel foam formers. *Scientific Reports*, 5(1), 7637. <https://doi.org/10.1038/srep07637>.
- Guo, L., Fang, W. W., Guo, L. L., Yao, C. F., Zhao, Y. X., Ge, F., et Dai, Y. J. (2019). Biodegradation of the neonicotinoid insecticide acetamiprid by actinomycetes *Streptomyces canus* CGMCC 13662 and characterization of the novel nitrile hydratase involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(21), 5922-5931. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06513>.
- Gür, Ö., Özdal, M., et Algur, Ö. F. (2014). Biodegradation of the synthetic pyrethroid insecticide α -cypermethrin by *Stenotrophomonas maltophilia* OG2. *Turkish Journal of Biology*, 38(5), 684-689. DOI: 10.3906/biy-1402-10.
- Gyawali, K. (2018). Pesticide uses and its effects on public health and environment. *Journal of Health Promotion*, 6, 28-36. <https://doi.org/10.3126/jhp.v6i0.21801>.

H

- Haddi, K., Tomé, H. V. V., Du, Y., Valbon, W. R., Nomura, Y., Martins, G. F., Dong, K., et Oliveira, E. E. (2017). Detection of a new pyrethroid resistance mutation (V410L) in the sodium channel of *Aedes aegypti*: A potential challenge for mosquito control. *Scientific Reports*, 7(1), 46549. <https://doi.org/10.1038/srep46549>.
- Hamedi, J., et Poorinmohammad, N., (2016). The cellular structure of *Actinobacteria*. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, 5-28. Springer, Cham.
- Han, D. M., Tong, X. X., Jin, M. G., Hepburn, E., Tong, C. S., et Song, X. F. (2013). Evaluation of organic contamination in urban groundwater surrounding a municipal landfill, Zhoukou, China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(4), 3413-3444. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2801-z>.

- Han, W., Tian, Y., et Shen, X. (2018). Human exposure to neonicotinoid insecticides and the evaluation of their potential toxicity: An overview. *Chemosphere*, 192, 59-65. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.149>.
- Hanke, W., et Jurewicz, J. (2004). The risk of adverse reproductive and developmental disorders due to occupational pesticide exposure: an overview of current epidemiological evidence. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 17(2), 223-243.
- Hankin, L., Zucker, M., et Sands, D. C. (1971). Improved Solid Medium for the Detection and Enumeration of pectolytic bacteria. *Applied Microbiology*, 22(2), 205-209. <https://doi.org/10.1128%2Fam.22.2.205-209.1971>
- Harding, D. P., et Raizada, M. N. (2015). Controlling weeds with fungi, bacteria and viruses : A review. *Frontiers in Plant Science*, 6, 659. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00659>.
- Harir, M., Bellahcene, M., Fortas, Z., García-Arenzana, J. M., Veloso, A., et Rodriguez-Couto, S. (2017). Isolation and characterisation of *Actinobacteria* from Algerian Sahara soils with antimicrobial activities. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 6(2). <https://doi.org/10.22088/acadpub.BUMS.6.2.5>.
- Hassaan, M. A., et El Nemr, A. (2020). Pesticides pollution : Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3), 207-220. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>.
- Hatcher, J.M., Pennell, K.D., et Miller, G.W. (2008). Parkinson's disease and pesticides: a toxicological perspective. *Trends in Pharmacological Cciences*, 29(6), 322-329. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.03.007>.
- Hayden, K. M., Norton, M. C., Darcey, D., Ostbye, T., Zandi, P. P., Breitner, J. C. S., Welsh-Bohmer, K. A., et For the Cache County Study Investigators. (2010). Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD : The cache county study. *Neurology*, 74(19), 1524-1530. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181dd4423>.
- Hays, S. G., Patrick, W. G., Ziesack, M., Oxman, N., et Silver, P. A. (2015). Better together : Engineering and application of microbial symbioses. *Current Opinion in Biotechnology*, 36, 40-49. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.08.008>.

- Hazarika, S. N., et Thakur, D. (2020). *Actinobacteria. Beneficial Microbes in Agro-Ecology*, 443-476. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00021-6>.
- Helmke, E., et Weyland, H. (1984). *Rhodococcus marinonascens* sp. nov., an actinomycete from the sea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 34(2), 127-138.
- Henze, M., van Loosdrecht, M. C. M., Ekama, G. A., et Brdjanovic, D. (2008). Biological wastewater treatment: Principles. Modelling and Design, 493-494. <https://doi.org/10.2166/9781780401867>.
- Herrera, Y., Okoh, A. I., Alvarez, L., Robledo, N., et Trejo-Hernández, M. R. (2008). Biodegradation of 2,4-dichlorophenol by a *Bacillus* consortium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(1), 55-60. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9437-0>.
- Hervé, C., de Franco, P. O., Groisillier, A., Tonon, T., et Boyen, C. (2008). New members of the glutathione transferase family discovered in red and brown algae. *Biochemical Journal*, 412(3), 535-544. <https://doi.org/10.1042/BJ20071464>.
- Hu, G. (2013). Isolation of an Indigenous Imidacloprid-degrading bacterium and imidacloprid bioremediation under simulated in situ and *ex situ* conditions. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(11), 1617-1626. <https://doi.org/10.4014/jmb.1305.05048>.
- Hua, J., et Relyea, R. (2019). The effect of a common pyrethroid insecticide on wetland communities. *Environmental Research Communications*, 1(1), 015003. <https://doi.org/10.1088/2515-7620/aaebb3>.
- Huang, L., Zhao, C., Huang, F., Bai, R., Lü, Y., Yan, F., et Hao, Z. (2015). Effects of imidacloprid and thiamethoxam as seed treatments on the early seedling characteristics and aphid-resistance of oilseed rape. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(12), 2581-2589. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61140-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61140-6).
- Huang, W., He, Y., Xiao, J., Huang, Y., Li, A., He, M., et Wu, K. (2019). Risk of breast cancer and adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides: A hospital-based case-control study in Chinese women.

- Environmental Science and Pollution Research*, 26(31), 32128-32136.
<https://doi.org/10.1007/s11356-019-06404-3>.
- Huang, Y., Xiao, L., Li, F., Xiao, M., Lin, D., Long, X., et Wu, Z. (2018). Microbial degradation of pesticide residues and an emphasis on the degradation of cypermethrin and 3-phenoxy benzoic acid: A Review. *Molecules*, 23(9), 2313.
<https://doi.org/10.3390/molecules23092313>.
- Hugo, H. J., Mouton, C., et Malan, A. P. (2016). Accelerated microbial degradation of nematicides in vineyard and orchard soils. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 35(1). <https://doi.org/10.21548/35-1-998>.
- Hussain, S., Hartley, C. J., Shettigar, M., et Pandey, G. (2016). Bacterial biodegradation of neonicotinoid pesticides in soil and water systems. *FEMS Microbiology Letters*, 363(23), fnw252. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw252>.
- Hussaini, S. Z., Shaker, M., et Iqbal, M. A. (2013). *Isolation of Bacterial for Degradation of Selected Pesticides. Advances in Bioresearch*, 4(3), 82-85.
- Hocinat, A. (2018). Biodégradation de quelques composés organiques volatils et certains pesticides par des actinomycètes provenant d'un sol agricole et des boues activées. Thèse de doctorat. Université frères Mentouri Constantine1:223.
- Hocinat, A., Ali-Khodja, H., et Boudemagh, A. (2019). Capability of *Nocardia nova* found in activated sludge to use synthetic BTEX as sole source of carbon and energy. *International Journal of Environmental Studies*.
<https://doi.org/10.1080/00207233.2019.1579585>.
- Hocinat, A., et Boudemagh, A. (2016). Biodegradation of commercial Ortiva fungicide by isolated actinomycetes from the activated sludge. *Desalination and Water Treatment*, 57(13), 6091-6097. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1022799>.
- Hocinat, A., Boudemagh, A., Ali-Khodja, H., et Medjemadj, M. (2020). Aerobic degradation of BTEX compounds by *Streptomyces* species isolated from activated sludge and agricultural soils. *Archives of Microbiology* 202, 2481–2492.
<https://doi.org/10.1007/s00203-020-01970-4>.

Hozzein, W. (2012). Efficiency of some actinomycete isolates in biological treatment and removal of heavy metals from wastewater. *African Journal of Biotechnology*, 11(5). <https://doi.org/10.5897/AJB11.2869>.

I

Iancu, V.I., et Radu, G.L. (2018). Occurrence of neonicotinoids in waste water from the Bucharest treatment plant. *Analytical Methods*, 10(23), 2691-2700. <https://doi.org/10.1039/C8AY00510A>.

IARC (International Agency for Research on Cancer). (1991). Occupational exposures in insecticide application, and some pesticides. IARC Working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 53, 5-586.

Ibarbalz, F. M., Orellana, E., Figuerola, E. L. M., et Erijman, L. (2016). Shotgun metagenomic profiles have a high capacity to discriminate samples of activated sludge according to wastewater type. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(17), 5186-5196. <https://doi.org/10.1128/AEM.00916-16>.

International Organization for Standardization, (2007). ISO 11348-2:2007 - Water quality - determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio Fischeri* (Luminescent Bacteria Test).

Iwasaki, I., Utsumi, S., Hagino, K., et Ozaw, T. (1956). A new spectrophotometric method for the determination of small amounts of chloride using the mercuric thiocyanate method. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 29(8), 860-864. <https://doi.org/10.1246/bcsj.29.860>.

J

Jablonkai, I. (2011). Molecular mechanism of function of herbicides. Herbicides, mechanisms and mode of action. *IntechOpen*, 3-24. <https://doi.org/10.5772/31251>

Jariyal, M., Jindal, V., Mandal, K., Gupta, V. K., et Singh, B. (2018). Bioremediation of organophosphorus pesticide phorate in soil by microbial consortia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 159, 310-316. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.063>.

Jaseela, P. K., Garvasis, J., et Joseph, A. (2019). Selective adsorption of methylene blue (MB) dye from aqueous mixture of MB and methyl orange (MO) using mesoporous titania

- (TiO₂) – poly vinyl alcohol (PVA) nanocomposite. *Journal of Molecular Liquids*, 286, 110908. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.110908>.
- Jayaraj, R., Megha, P., et Sreedev, P. (2016). Review Article. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology*, 9(3-4), 90-100. <https://doi.org/10.1515/intox-2016-0012>.
- Ji, X., Su, Z., Xu, M., Ma, G., et Zhang, S. (2016). A TiO₂-horseradish peroxidase hybrid catalyst based on hollow nanofibers for simultaneous photochemical- enzymatic degradation of 2,4-dichlorophenol. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(7), 3634-3640. <https://doi.org/DOI: 10.1021/ acssuschemeng.6b00075>.
- Jiang, J., et Li, S. (2018). Microbial degradation of chemical pesticides and bioremediation of pesticide-contaminated sites in China. *Twenty Years of Research and Development on Soil Pollution and Remediation in China*, 655-670. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6029-8_40.
- Jin, Y., Luan, Y., Ning, Y., et Wang, L. (2018). Effects and mechanisms of microbial remediation of heavy metals in soil : A critical review. *Applied Sciences*, 8(8), 1336. <https://doi.org/10.3390/app8081336>.
- Jo, M.S., Lee, J.B., Kim, J.E., Sohn, H.Y., Jeon, C.P., Choi, C.S., et Kwon, G.S. (2010). Biodegradation of endosulfan by *Klebsiella oxytoca* KE-8 immobilized on activated carbon. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 29(2), 176-183. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2010.29.2.176>.
- Johnston, D. W., et Cross, T. (1976). The occurrence and distribution of actinomycetes in lakes of the English Lake District. *Freshwater Biology*, 6(5), 457-463. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1976.tb01635.x>.
- JORA (Journal Officiel de la République Algérienne). (2006). Décret Exécutif n° 06-141 du 20 Rabie El Aouel 1427 correspondant au 19 Avril 2006, section 1, article 3.
- Joss, A., Zabczynski, S., Göbel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C. S., Ternes, T. A., Thomsen, A., et Siegrist, H. (2006). Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment : Proposing a classification scheme. *Water Research*, 40(8), 1686-1696. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.02.014>.

- Ju, C., Xu, J., Wu, X., Dong, F., Liu, X., Tian, C., et Zheng, Y. (2017). Effects of hexaconazole application on soil microbes community and nitrogen transformations in paddy soils. *Science of The Total Environment*, 609, 655-663. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.146>.
- Juretschko, S., Loy, A., Lehner, A., et Wagner, M. (2002). The microbial community composition of a nitrifying-denitrifying activated sludge from an industrial sewage treatment plant analyzed by the full-cycle rRNA approach. *Systematic and Applied Microbiology*, 25(1), 84-99. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00093>.
- Jurewicz, J., Hanke, W., et Makowiec-Dabrowska, T. (2008). Low risk of reproductive disorders among female greenhouse workers - safe work conditions or health selection for the light work? *Medycyna Pracy*, 59(2), 123-131.

K

- Kaaniche, F., Hamed, A., Elleuch, L., Chakchouk-Mtibaa, A., Smaoui, S., Karray-Rebai, I., Koubaa, I., Arcile, G., Allouche, N., et Mellouli, L. (2020). Purification and characterization of seven bioactive compounds from the newly isolated *Streptomyces cavourensis* TN638 strain via solid-state fermentation. *Microbial Pathogenesis*, 142, 104106. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104106>.
- Kabbaj, H., Mai, H. E., Galindo-Riño, M. D., et Stitou, M. (2014). Physicochemical characterization and Analysis of total metal concentration of grease and wastewater samples : Case study for two wastewater treatment plants in the North of Morocco : Tangier and Tetouan. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(5), 1622-1632.
- Kalakoutskiip, L. V., et Agre, A. N. S. (1976). Comparative Aspects of Development and Differentiation in Actinomycetes. *Bacteriological reviews*, 40(2), 469-524. <https://doi.org/10.1128%2Fbr.40.2.469-524.1976>.
- Kamaraj, M., Srinivasan, N. R., Assefa, G., Adugna, A. T., et Kebede, M. (2020). Facile development of sunlit ZnO nanoparticles-activated carbon hybrid from pernicious weed as an operative nano-adsorbent for removal of methylene blue and chromium from aqueous solution: Extended application in tannery industrial wastewater. *Environmental Technology & Innovation*, 17, 100540. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100540>.

- Kanaujiya, D. K., Paul, T., Sinharoy, A., et Pakshirajan, K. (2019). Biological treatment processes for the removal of organic micropollutants from wastewater : A review. *Current Pollution Reports*, 5(3), 112-128. <https://doi.org/10.1007/s40726-019-00110-x>.
- Kandil, M. M., Trigo, C., Koskinen, W. C., et Sadowsky, M. J. (2015). Isolation and Characterization of a Novel Imidacloprid-Degrading *Mycobacterium* sp. strain MK6 from an Egyptian Soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(19), 4721-4727. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00754>.
- Karich, A., Ullrich, R., Scheibner, K., et Hofrichter, M. (2017). Fungal unspecific peroxygenases oxidize the majority of organic EPA priority pollutants. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1463. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01463>.
- Karigar, C. S., et Rao, S. S. (2011). Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants : A review. *Enzyme Research*, 1-11. <https://doi.org/10.4061/2011/805187>.
- Katagi, T. (2018). Direct photolysis mechanism of pesticides in water. *Journal of Pesticide Science*, 43(2), 57-72. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D17-081>.
- Kato, S., Haruta, S., Cui, Z. J., Ishii, M., et Igarashi, Y. (2005). Stable coexistence of five bacterial strains as a cellulose-degrading community. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11), 7099-7106. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7099-7106.2005>.
- Kaur, D., Singh, A., Abhijit Kumar, et Gupta, S. (2020). Genetic engineering approaches and applicability for the bioremediation of metalloids. *Plant Life Under Changing Environment*, 207-235. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00010-2>.
- Kaziem, A. E., He, Z., Li, L., Wen, Y., Wang, Z., Gao, Y., et Wang, M. (2021). Changes in soil and rat gut microbial diversity after long-term exposure to the chiral fungicide epoxiconazole. *Chemosphere*, 272, 129618. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129618>.
- Khajezadeh, M., Abbaszadeh-Goudarzi, K., Pourghadamyari, H., et Kafilzadeh, F. (2020). A newly isolated *Streptomyces rimosus* strain capable of degrading deltamethrin as a

- pesticide in agricultural soil. *Journal of Basic Microbiology*, 60(5), 435-443. <https://doi.org/10.1002/jobm.201900263>.
- Khairnar, K., Pal, P., Chandekar, R. H., et Paunekar, W. N. (2014). Isolation and characterization of bacteriophages infecting Nocardioforms in wastewater treatment plant. *Biotechnology Research International*, 1-5. <https://doi.org/10.1155/2014/151952>.
- Kheddam-Benadjal, N. (2012). Enquête sur la gestion des pesticides en Algérie et recherche d'une méthode de lutte alternative contre *Meloidogyne incognita* (Nematoda : *Meloidogynide*). Mémoire de magister : Sciences agronomiques. Ecole national supérieur El-Harrach-Alger, Algérie. Page : 81.
- Khessairi, A., Fhoula, I., Jaouani, A., Turki, Y., Cherif, A., Boudabous, A., Hassen, A., et Ouzari, H. (2014). Pentachlorophenol degradation by *Janibacter* sp., a new actinobacterium isolated from saline sediment of arid land. *BioMed Research International*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/296472>.
- Kim, S.B., Lonsdale, J., Seong, C.N., et Goodfellow, M. (2003). *Streptacidiphilus* gen. nov., acidophilic actinomycetes with wall chemotype I and emendation of the family *Streptomycetaceae*. (Waksman and Henrici (1943) AL) emend. Rainey et al. 1997. *Antonie van Leeuwenhoek*, 83(2), 107-116.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2), 111-120. <https://doi.org/10.1007/bf01731581>.
- Kirby, R. (2011). Chromosome diversity and similarity within the Actinomycetales. *FEMS Microbiology letters*, 319(1), 1-10. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02242.x>.
- Kirkhorn, S. R., et Garry, V. F. (2000). Agricultural lung diseases. *Environmental Health Perspectives*, 108 (4), 705-712.
- Kitouni, M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de doctorat: Microbiologie appliquée. Université frères Mentouri –Constantine, Algérie. Page: 205.

- Klarich, K. L., Pflug, N. C., DeWald, E. M., Hladik, M. L., Kolpin, D. W., Cwiertny, D. M., et LeFevre, G. H. (2017). Occurrence of neonicotinoid insecticides in finished drinking water and fate during drinking water treatment. *Environmental Science & Technology Letters*, 4(5), 168-173. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.7b00081>.
- Kleinschmidt, I., Bradley, J., Knox, T. B., Mnzava, A. P., Kafy, H. T., Mbogo, C., Ismail, B. A., Bigoga, J. D., Adechoubou, A., Raghavendra, K., Cook, J., Malik, E. M., Nkuni, Z. J., Macdonald, M., Bayoh, N., Ochomo, E., Fondjo, E., Awono-Ambene, H. P., Etang, J., et Donnelly, M. J. (2018). Implications of insecticide resistance for malaria vector control with long-lasting insecticidal nets : A WHO-coordinated, prospective, international, observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(6), 640-649. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30172-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30172-5).
- Köck-Schulmeyer, M., Villagrasa, M., López de Alda, M., Céspedes-Sánchez, R., Ventura, F., et Barceló, D. (2013). Occurrence and behavior of pesticides in wastewater treatment plants and their environmental impact. *Science of The Total Environment*, 458, 466-476. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.010>.
- Kolekar, P. D., Phugare, S. S., et Jadhav, J. P. (2014). Biodegradation of atrazine by *Rhodococcus* sp. BCH2 to N-isopropylammelide with subsequent assessment of toxicity of biodegraded metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(3), 2334-2345. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2151-6>.
- Korobov, V. V., Zhurenko, E. I., Zharikova, N. V., Iasakov, T. R., et Markusheva, T. V. (2017). Possibility of using phenol- and 2,4-Dichlorophenol-degrading strain, *Rhodococcus erythropolis* 17S, for treatment of industrial wastewater. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 72(4), 201-205. <https://doi.org/10.3103/S0096392517040083>.
- Koutros, S., Silverman, D. T., Alavanja, M. C., Andreotti, G., Lerro, C. C., Heltshe, S., Lynch, C. F., Sandler, D. P., Blair, A., et Beane Freeman, L. E. (2016). Occupational exposure to pesticides and bladder cancer risk. *International Journal of Epidemiology*, 45(3), 792-805. <https://doi.org/10.1093/ije/dyv195>.

- Kumar, M., Lakshmi, C. V., et Khanna, S. (2008). Biodegradation and bioremediation of endosulfan contaminated soil. *Bioresource Technology*, 99(8), 3116-3122. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.05.057>.
- Kumar, R. R., et Jadeja, V. J. (2016). Isolation of actinomycetes : A complete approach. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(5), 606-618. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.505.062>.
- Kuster, E., Williams, S. (1964). Selective media for the isolation of streptomycetes. *Nature*, 202(4935), 928-929. <https://doi.org/10.1038/202928a0>.
- Kwon, G. S., Sohn, H. Y., Shin, K. S., Kim, E., et Seo, B. I. (2005). Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Klebsiella oxytoca* KE-8. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67(6), 845-850. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1879-9>.

L

- Labite, H., Holden, N. M., Richards, K. G., Kramers, G., Premrov, A., Coxon, C. E., et Cummins, E. (2013). Comparison of pesticide leaching potential to groundwater under EU FOCUS and site specific conditions. *Science of The Total Environment*, 463-464, 432-441. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.06.050>.
- Lai, W. (2017). Pesticide use and health outcomes : Evidence from agricultural water pollution in China. *Journal of Environmental Economics and Management*, 86, 93-120. <https://doi.org/10.1016/j.jeem.2017.05.006>.
- Lakhlifi, M., Rhaouat, O. E., Belghyti, D., et Kharrim, K. E. (2017). Evaluation de la performance d'une station d'épuration de type lagunage à boues activées : Cas de la STEP Skhirat, Maroc. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 20(2), 724.
- Langley, R.L. (2011). Consequences of respiratory exposures in the farm environment. *North Carolina Medical Journal*, 72(6), 477-480. <http://dx.doi.org/10.18043/ncm.72.6.477>.
- Law, J. W. F., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N. S., Wong, S. H., Goh, B. H., et Lee, L. H. (2019). A Review on mangrove actinobacterial diversity : The roles of *Streptomyces*

- and novel species discovery. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, 2(1). <https://doi.org/10.36877/pmmb.a0000024>.
- Lawler, S. P. (2017). Environmental safety review of methoprene and bacterially-derived pesticides commonly used for sustained mosquito control. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 139, 335-343. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.12.038>.
- Lebik-Elhadi, H., Frontistis, Z., Ait-Amar, H., Amrani, S., et Mantzavinos, D. (2018). Electrochemical oxidation of pesticide thiamethoxam on boron doped diamond anode : Role of operating parameters and matrix effect. *Process Safety and Environmental Protection*, 116, 535-541. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.03.021>.
- Lechevalier, H.A., et Lechevalier, M.P. (1965). Classification des actinomycètes aérobies basée sur leur morphologie et leur composition chimique. *Ann Inst Pasteur*, 108, 662–673. *Annales de l'Institut PASTEUR* (Vol. 108, No. 5, pp. 662). 21 Street Camille Desmoulins, ISSY, 92789 Moulinaux Cedex 9, France: Masson Editeur.
- Lechevalier H.A, et Lechevalier M.P. (1994). *Nocardia Amarae* sp. Nov. an Actinomycete common in foaming activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 24(2), 278-288. <http://dx.doi.org/10.1099/00221287-135-6-1547>.
- Lee, A., Elam, J. W., et Darling, S. B. (2016). Membrane materials for water purification : Design, development, and application. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 2(1), 17-42. <https://doi.org/10.1039/C5EW00159E>.
- Letek, M., Ordóñez, E., Vaquera, J., Margolin, W., Flärdh, K., Mateos, L. M., et Gil, J. A. (2008). DivIVA is required for polar growth in the mreB-lacking rod-shaped actinomycete *Corynebacterium glutamicum*. *Journal of Bacteriology*, 190(9), 3283-3292. <https://doi.org/10.1128/JB.01934-07>.
- Levio-Raiman, M., Briceño, G., Leiva, B., López, S., Schalchli, H., Lamilla, C., Bornhardt, C., et Diez, M. C. (2021). Treatment of pesticide-contaminated water using a selected fungal consortium : Study in a batch and packed-bed bioreactor. *Agronomy*, 11(4), 743. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040743>.

- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., et Jiang, C. (2016a). Cultural, physiological, and biochemical identification of *Actinobacteria*. *Actinobacteria—Basics and Biotechnological Applications*, 87-111. <https://doi.org/10.5772/61462>.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., et Jiang, C. (2016b). Morphological identification of actinobacteria. *Actinobacteria—Basics and Biotechnological Applications*, 59-86. <https://doi.org/10.5772/61461>.
- Li, Y., Zhang, C., Yin, Y., Cui, F., Cai, J., Chen, Z., Jin, Y., Robson, M., Li, M., Ren, Y., Huang, X., et Hu, R. (2014). Neurological effects of pesticide use among farmers in China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(4), 3995-4006. <https://doi.org/10.3390/ijerph110403995>.
- Li, Z., Song, C., Yang, J., Guo, J., et Xing, L. (2008). Biodegradation of avermectin by *Bacteroidetes* endosymbiont strain LYH. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(3), 361-366. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9482-8>.
- Lin, Q. S., Chen, S. H., Hu, M. Y., Haq, M. R. U., Yang, L., et Li, H. (2011). Biodegradation of Cypermethrin by newly isolated actinomycetes HU-S-01 from wastewater sludge. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 8(1), 45-56. <https://doi.org/10.1007/BF03326194>.
- Liu, Y., Mo, R., Tang, F., Fu, Y., et Guo, Y. (2015). Influence of different formulations on chlorpyrifos behavior and risk assessment in bamboo forest of China. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(24), 20245-20254. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5272-2>.
- Locci, R., et Sharples, G.P. Morphology. (1984). The biology of the Actinomycetes. *Academic Press*, 165-199.
- Lopes, F. M., Batista, K. A., Batista, G. L. A., Mitidieri, S., Bataus, L. A. M., et Fernandes, K. F. (2010). Biodegradation of epoxyconazole and piraclostrobin fungicides by *Klebsiella* sp. From soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(7), 1155-1161. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0283-0>.

- Ludicke, J. C., et Nieh, J. C. (2020). Thiamethoxam impairs honey bee visual learning, alters decision times, and increases abnormal behaviors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 193, 110367. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110367>.
- Ludwig, W., Euzéby, J., Schumann, P., Buss, H.J., Trujillo, M.E., Kämpfer, P., et Whiteman, W.B. (2012). Road map of the phylum *Actinobacteria*. *Bergey's manual® of systematic bacteriology*, 1-28. Springer, New York, NY. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.bm00029>.
- Lurquin, P. F. (2016). Production of a toxic metabolite in 2,4-D-resistant GM crop plants. *3 Biotech*, 6(1), 82. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0387-9>.
- Luo, X., Zhang, D., Zhou, X., Du, J., Zhang, S., et Liu, Y. (2018). Cloning and characterization of a pyrethroid pesticide decomposing esterase gene, Est3385, from *Rhodopseudomonas palustris* PSB-S. *Scientific Reports*, 8(1), 7384. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25734-9>.
- Lushchak, V. I., Matviishyn, T. M., Husak, V. V., Storey, J. M., et Storey, K. B. (2018). Pesticide toxicity: A mechanistic approach. *EXCLI Journal*, 17,1101. <https://doi.org/10.17179/EXCLI2018-1710>.

M

- Ma, J., Xu, L., et Jia, L. (2013). Characterization of pyrene degradation by *Pseudomonas* sp. Strain Jpyr-1 isolated from active sewage sludge. *Bioresource Technology*, 140, 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.184>.
- Macedo, W. R., et Castro, P. R. de C. e. (2011). Thiamethoxam: Molecule moderator of growth, metabolism and production of spring wheat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(3), 299-304. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.05.003>.
- Macedo, W. R., Fernandes, G. M., Possenti, R. A., Lambais, G. R., et de Camargo e Castro, P. R. (2013). Responses in root growth, nitrogen metabolism and nutritional quality in Brachiaria with the use of thiamethoxam. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(1), 205-211. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1064-1>.
- Maeng, S. K., Choi, B. G., Lee, K. T., et Song, K. G. (2013). Influences of solid retention time, nitrification and microbial activity on the attenuation of pharmaceuticals and estrogens in membrane bioreactors. *Water Research*, 47(9), 3151-3162. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.014>.

- Mahai, G., Wan, Y., Xia, W., Yang, S., He, Z., et Xu, S. (2019). Neonicotinoid insecticides in surface water from the central Yangtze River, China. *Chemosphere*, 229, 452-460. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.040>.
- Mahajan, G.B., et Balachandran, L. (2012). Antibacterial agents from Actinomycetes - A review. *Frontiers, Bioscience* 4, 240-253. <https://doi.org/10.2741/373>.
- Makhoukh, M., Sbaa, M., et Berrahou, A. (2011). Contribution a l'étude physico-chimique des eaux superficielles de l'oued Moulouya (Maroc oriental). *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (9).
- Makkar, N. S., et Cross, T. (1982). Actinoplanetes in soil and on plant litter from freshwater habitats. *Journal of Applied Bacteriology*, 52(2), 209-218. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1982.tb04842.x>.
- Maleiro Porto, A. L. M., Melgar, G. Z., Kasemodel, M. C., et Nitschke, M. (2011). Biodegradation of Pesticides. Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/17686>.
- Malviya, N., Yandigeri, M. S., Yadav, A. K., Solanki, M. K., et Arora, D. K. (2014). Isolation and characterization of novel alkali-halophilic actinomycetes from the Chilika brackish water lake, India. *Annals of Microbiology*, 64(4), 1829-1838. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0831-1>.
- Mamta, Rao, R.J., et Wani, K.A. (2015). Bioremediation of pesticides under the influence of bacteria and fungi. Handbook of research on uncovering new methods for ecosystem management through bioremediation. Information Science Reference, 51-72. <https://doi.org/10.4018/978-1-4666-8682-3.ch003>.
- Manchisi, J., Matinde, E., Rowson, N. A., Simmons, M. J. H., Simate, G. S., Ndlovu, S., et Mwewa, B. (2020). Ironmaking and steelmaking slags as sustainable adsorbents for industrial effluents and wastewater treatment: A critical review of properties, performance, challenges and opportunities. *Sustainability*, 12(5), 2118. <https://doi.org/10.3390/su12052118>.
- Margot, J., Lochmatter, S., Barry, D. A., et Holliger, C. (2016). Role of ammonia-oxidizing bacteria in micropollutant removal from wastewater with aerobic granular sludge. *Water Science and Technology*, 73(3), 564-575. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.514>.

- Marie, L., Sylvain, P., Benoit, G., Maurice, M., et Gwenaël, I. (2017). Degradation and transport of the chiral herbicide S-Metolachlor at the catchment scale : Combining observation scales and analytical approaches. *Environmental Science & Technology*, 51(22), 13231-13240. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02297>.
- Marinozzi, M., Coppola, L., Monaci, E., Karpouzas, D. G., Papadopoulou, E., Menkissoglou-Spiroudi, U., et Vischetti, C. (2013). The dissipation of three fungicides in a biobed organic substrate and their impact on the structure and activity of the microbial community. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(4), 2546-2555. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1165-9>.
- Martins, S.C.S., Martins, C.M., et Santaella, S.T. (2013). Immobilization of microbial cells: a promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater. *African Journal of Biotechnology*, 12(28). <http://dx.doi.org/10.5897/AJB12.2677>.
- Mazlan, N., Ahmed, M., Muharam, F.M., et Alam, M. A. (2017). Status of persistent organic pesticide residues in water and food and their effects on environment and farmers: A comprehensive review in Nigeria. *Semina: Ciências Agrárias*, 38(4), 2221-2236. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017V38N4P2221>.
- Medjemadj, M., Escuder-Rodríguez, J. J., Boudemagh, A., et González-Siso, M. I. (2020). *Actinobacteria* isolated from Algerian hot spring waters : A potential source of important enzymes. *Ecology, Environment and Conservation Journal Papers*, 26 (3): 1145-1157.
- Meenakshi, Sharon, P., Bhawana, M., et Anita, S., V.K., G. (2012). A short review on how pesticides affect human health. *International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, 2(05).
- Meerbergen, K., Willems, K. A., Dewil, R., Van Impe, J., Appels, L., et Lievens, B. (2018). Isolation and screening of bacterial isolates from wastewater treatment plants to decolorize azo dyes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 125(4), 448-456. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2017.11.008>.
- Megharaj, M., Venkateswarlu, K., et Naidu, R. (2014). Bioremediation. *Encyclopedia of Toxicology*, 485-489. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.01001-0>.

- Messrouk, H., Mahammed, M. hadj, Touil, Y., et Amrane, A. (2014). Physico-chemical characterization of industrial effluents from the town of Ouargla (South East Algeria). *Energy Procedia*, 50, 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.06.031>.
- Minotto, E., Milagre, L. P., et Oliveira, M. T. (2014). Enzyme characterization of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants. *Journal of Advanced Scientific Research*, 5(2).
- Mishra, J. Tewari, S., Singh, S., et Arora, N.K. (2015). Biopesticides: Where we stand? In *Plant microbes symbiosis: applied facets*, 37-75. Springer, New Delhi. http://dx.doi.org/10.1007/978-81-322-2068-8_2.
- Mishra, S., Lin, Z., Pang, S., Zhang, W., Bhatt, P., et Chen, S. (2021). Recent advanced technologies for the characterization of xenobiotic-degrading microorganisms and microbial Communities. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 63-259. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.632059>.
- Mitra, S., Chakrabarti, N., Dutta, S. S., Ray, S., Bhattacharya, P., Sinha, P., et Bhattacharyya, A. (2015). Gender-specific brain regional variation of neurons, endogenous estrogen, neuroinflammation and glial cells during rotenone-induced mouse model of Parkinson's disease. *Neuroscience*, 292, 46-70. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.12.052>.
- Mittal, G. (2006). Treatment of wastewater from abattoirs before land application—A review. *Bioresource Technology*, 97(9), 1119-1135. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.11.021>.
- Mohammadi, M., et Sabbaghi, S. (2014). Photo-catalytic degradation of 2,4-DCP wastewater using MWCNT/TiO₂ nano-composite activated by UV and solar light. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 1-2, 24-29. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2014.09.002>.
- Montesinos, E. (2003). Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *International Microbiology*, 6(4), 245-252. <https://doi.org/10.1007/s10123-003-0144-x>.

- Moreira, I. S., Amorim, C. L., Carvalho, M. F., et Castro, P. M. L. (2012). Degradation of difluorobenzenes by the wild strain *Labrys portucalensis*. *Biodegradation*, 23(5), 653-662. <https://doi.org/10.1007/s10532-012-9541-1>.
- Moreira, I.S., Amorim, C.L., Carvalho, M.F., Ferreira, A.C., Afonso, C.M., Castro, P.M.L. (2013). Effect of the metals iron, copper and silver on fluorobenzene biodegradation by *Labrys portucalensis*. *Biodegradation*, 24, 245–255. <https://doi.org/10.1007/s10532-012-9581-6>.
- Moreira, I. S., Bessa, V. S., Murgolo, S., Piccirillo, C., Mascolo, G., et Castro, P. M. L. (2018). Biodegradation of Diclofenac by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 152, 104-113. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.040>.
- Moreira, I. S., Ribeiro, A. R., Afonso, C. M., Tiritan, M. E., et Castro, P. M. L. (2014). Enantioselective biodegradation of fluoxetine by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11. *Chemosphere*, 111, 103-111. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.022>.
- Muñoz-Leoz, B., Ruiz-Romera, E., Antigüedad, I., et Garbisu, C. (2011). Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(10), 2176-2183. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.07.001>.

N

- Neghab, M., Momenbella-Fard, M., Naziaghdam, R., Salahshour, N., Kazemi, M., et Alipour, H. (2014). The effects of exposure to pesticides on the fecundity status of farm workers resident in a rural region of Fars province, southern Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(4), 324-328. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C586>.

- Nitsch, B., et Kutzner, H. J. (1969). Egg-yolk agar as a diagnostic medium for streptomycetes. *Experientia*, 25(2), 220-221. <https://doi.org/10.1007/BF01899136>.

O

- Obregón Alvarez, D., Mendes, K. F., Tosi, M., Fonseca de Souza, L., Campos Cedano, J. C., de Souza Falcão, N. P., Dunfield, K., Tsai, S. M., et Tornisielo, V. L. (2021). Sorption-desorption and biodegradation of sulfometuron-methyl and its effects on the

- bacterial communities in Amazonian soils amended with aged biochar. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 207, 111-222. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111222>.
- Ochi, K. (1995). Phylogenetic analysis of mycolic acid-containing wallchemotype IV actinomycetes and allied taxa by partial sequencing of ribosomal protein AT-L30. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(4), 653-660. <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-45-4-653>.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (2006). Test guideline No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. OECD Publishing, 227, 1–21.
- Olabode, G. S., Olorundare, O. F., et Somerset, V. S. (2020). Physicochemical properties of wastewater effluent from two selected wastewater treatment plants (Cape Town) for water quality improvement. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17(12), 4745-4758. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02788-9>.
- Omura, S., Takahashi, Y., Iwai, Y., et Tanaka, H. (1982). *Kitasatosporia*, a new genus of the order Actinomycetales. *The Journal of Antibiotics*, 35(8), 1013-1019. <http://dx.doi.org/10.7164/antibiotics.35.1013>.
- OMS (Organisation mondiale de la santé). (2017). Pulvérisation résiduelle à domicile : manuel sur les opérations de pulvérisation résiduelle à domicile (PDI) pour contrôler et éliminer la transmission du paludisme (deuxième édition). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/259838>.
- Ortiz-Hernández, M.L., Sánchez-Salinas, E., Olvera-Velona, A. et Folch-Mallo, J.L. (2013). Pesticides in the environment: Impacts and its biodegradation as a strategy for residues treatment. Pesticides - Formulations, Effects, Fate. *IntechOpen*, 551-574. <https://doi.org/10.5772/13534>
- Ortíz, I., Velasco, A., Le Borgne, S., et Revah, S. (2013). Biodegradation of DDT by stimulation of indigenous microbial populations in soil with cosubstrates. *Biodegradation*, 24(2), 215-225. <https://doi.org/10.1007/s10532-012-9578-1>.
- Oruc, H.H. (2010). Fungicides and their effects on animals. Fungicides. *IntechOpen*, 349-362. <https://doi.org/10.5772/12959>

Ould El Hadj, M.D., Bouziane, N., Minami, A., et Ould El Hadj-Khelil, A. (2011). Problèmes de la lutte chimique au Sahara Algérien: Cas des acaricides. *Algerian Journal of Arid Environment*, 1(1):77–83.

Ounoki, S., Achour, S. (2014). Évaluation de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux usées brutes et épurées de la ville d’Ouargla. Possibilité de leur valorisation en irrigation. *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (20).

P

Pal, S., Sarkar, U., et Dasgupta, D. (2010). Dynamic simulation of secondary treatment processes using trickling filters in a sewage treatment works in Howrah, west Bengal, India. *Desalination*, 253(1-3), 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.11.019>.

Paltahe, A., Cornelius, T., Wahabou, A. (2018). Study on physico-chemical parameters of wastewater effluents from cotton development plant of Maroua-Cameroon. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 7(3), 230-238. <https://doi.org/10.21776/ub.jpacr.2018.007.03.366>.

Pan, X., Lin, D., Zheng, Y., Zhang, Q., Yin, Y., Cai, L., Fang, H., et Yu, Y. (2016). Biodegradation of DDT by *Stenotrophomonas* sp. DDT-1: Characterization and genome functional analysis. *Scientific Reports*, 6(1), 21332. <https://doi.org/10.1038/srep21332>.

Pandey, G., Dorrian, S. J., Russell, R. J., et Oakeshott, J. G. (2009). Biotransformation of the neonicotinoid insecticides imidacloprid and thiamethoxam by *Pseudomonas* sp. 1G. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 380(3), 710-714. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.01.156>.

Pang, S., Lin, Z., Zhang, W., Mishra, S., Bhatt, P., et Chen, S. (2020). Insights into the microbial degradation and biochemical mechanisms of neonicotinoids. *Frontiers in Microbiology*, 11, 868. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00868>.

Parker, K. M., et Sander, M. (2017). Environmental fate of insecticidal plant-incorporated protectants from genetically modified crops: Knowledge gaps and research opportunities. *Environmental Science & Technology*, 51(21), 12049-12057. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03456>.

- Parte, S. G., et Kharat, A. S. (2019). Aerobic degradation of clothianidin to 2-chloro-methyl thiazole and methyl 3-(thiazole-yl) methyl guanidine produced by *Pseudomonas stutzeri* smk. *Journal of Environmental and Public Health*, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2019/4807913>.
- Patel, B. P., et Kumar, A. (2016). Biodegradation of 2,4-dichlorophenol by *Bacillus endophyticus* strain : Optimization of experimental parameters using response surface methodology and kinetic study. *Desalination and Water Treatment*, 57(34), 15932-15940. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1076351>.
- Patil, P. B., Raut-Jadhav, S., et Pandit, A. B. (2021). Effect of intensifying additives on the degradation of thiamethoxam using ultrasound cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105-310. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105310>.
- Patil, P.N., Bote, S.D., et Gogate, P.R. (2014). Degradation of imidacloprid using combined advanced oxidation processes based on hydrodynamic cavitation. *Ultrason Sonochem* 21, 1770–1777. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.02.024>.
- Pflieger, M. (2009). Etude de la dégradation photochimique des pesticides adsorbés à la surface de particules atmosphériques. Thèse de doctorat : Biosciences de l'environnement. Université de Provence-Marseille, France. Page : 293.
- Pileggi, M., Pileggi, S.A.V., Olchanheski, L.R., da Silva, P.A.G., Munoz Gonzalez, A.M., Koskinen, W.C., Barber, B., et Sadowsky, M.J. (2012). Isolation of mesotrione-degrading bacteria from aquatic environments in Brazil. *Chemosphere*, 86, 1127–1132. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.041>.
- Polti, M. A., Aparicio, J. D., Benimeli, C. S., et Amoroso, M. J. (2014). Role of *Actinobacteria* in bioremediation. *Microbial Biodegradation and Bioremediation*, 269–286. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00011-X>.
- Pointing, S. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(1), 20-33. <https://doi.org/10.1007/s002530100745>.
- Pose-Juan, E., Sánchez-Martín, M. J., Andrades, M. S., Rodríguez-Cruz, M. S., et Herrero-Hernández, E. (2015). Pesticide residues in vineyard soils from Spain : Spatial and

- temporal distributions. *Science of The Total Environment*, 514, 351-358.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.076>.
- Prescott, H., Wiley, J.M. Klein., Sherwood, L. M., et Woolverton, C. J. (2010). *Microbiologie*. 3^{ème} édition. De: Boeck, Bruxelles.
- Pridham, T. G., et Gottlieb, D. (1948). The utilization of carbon compounds by some *Actinomycetales* as an aid for species determination. *Journal of Bacteriology*, 56(1), 107-114. <https://doi.org/10.1128/jb.56.1.107-114.1948>.
- Pridham, T. G., Hesseltine, C. W., et Benedict, R. G. (1958). A guide for the classification of Streptomycetes according to selected groups. Placement of strains in morphological sections. *Applied Microbiology*, 6(1), 52-79. <https://doi.org/10.1128%2Fam.6.1.52-79.1958>.
- Priyadharsini, P., et Dhanasekaran, D. (2015). Diversity of soil allelopathic *Actinobacteria* in Tiruchirappalli district, Tamilnadu, India. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14(1), 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2013.07.001>.
- Pourbabaee, A. A., Soleymani, S., Farahbakhsh, M., et Torabi, E. (2018). Biodegradation of diazinon by the *Stenotrophomonas maltophilia* PS : Pesticide dissipation kinetics and breakdown characterization using FTIR. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 15(5), 1073-1084. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1452-6>.
- Purnomo, A. S. (2017). Microbe-assisted degradation of aldrin and dieldrin. *Microbe-Induced Degradation of Pesticides*, 1-22. Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-45156-5_1.
- Puyol, D., Batstone, D. J., Hülsen, T., Astals, S., Peces, M., et Krömer, J. O. (2017). Resource recovery from wastewater by biological technologies : Opportunities, challenges, and prospects. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02106>.
- ## Q
- Qian, S., Zhu, H., Xiong, B., Zheng, G., Zhang, J., et Xu, W. (2017). Adsorption and desorption characteristics of endosulfan in two typical agricultural soils in Southwest

China. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(12), 11493-11503.
<https://doi.org/10.1007/s11356-017-8800-4>.

Qin, F., Gao, Y.X., Guo, B.Y., Xu, P., Li, J.Z., et Wang, H. (2014). Environmental behavior of benalaxyl and furalaxyl enantiomers in agricultural soils. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49(10), 738-746.

Quan, X., Shi, H., Zhang, Y., Wang, J., et Qian, Y. (2004). Biodegradation of 2,4-dichlorophenol and phenol in an airlift inner-loop bioreactor immobilized with *Achromobacter* sp. *Separation and Purification Technology*, 34(1-3), 97-103.
[https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(03\)00181-3](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(03)00181-3).

R

Rachedi, K., Zermane, F., Tir, R., Ayache, F., Duran, R., Lauga, B., Karama, S., Simon, M., et Boulahrouf, A. (2018). Effect of sulfonylurea tribenuron methyl herbicide on soil *Actinobacteria* growth and characterization of resistant strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(1), 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.05.004>.

Raffa, C. M., et Chiampo, F. (2021). Bioremediation of agricultural soils polluted with pesticides : A review. *Bioengineering*, 8(7), 92.
<https://doi.org/10.3390/bioengineering8070092>.

Rajashekar, Y., Tonsing, N., Shantibala, T., et Manjunath, J. R. (2016). 2, 3-Dimethylmaleic anhydride (3, 4-Dimethyl-2, 5-furandione) : A plant derived insecticidal molecule from *Colocasia esculenta* var. *esculenta*. *Scientific Reports*, 6(1), 20546.
<https://doi.org/10.1038/srep20546>.

Rajasulochana, P., et Preethy, V. (2016). Comparison on efficiency of various techniques in treatment of waste and sewage water – A comprehensive review. *Resource-Efficient Technologies*, 2(4), 175-184. <https://doi.org/10.1016/j.refit.2016.09.004>.

Rajmohan, K. S., Chandrasekaran, R., et Varjani, S. (2020). A review on occurrence of pesticides in environment and current technologies for their remediation and management. *Indian Journal of Microbiology*, 60(2), 125-138.
<https://doi.org/10.1007/s12088-019-00841-x>.

- Rana, S., Jindal, V., Mandal, K., Kaur, G., et Gupta, V. K. (2015). Thiamethoxam degradation by *Pseudomonas* and *Bacillus* strains isolated from agricultural soils. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(5), 300. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4532-4>.
- Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Grewal, A. S., Srivastav, A. L., et Kaushal, J. (2021). An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of Cleaner Production*, 283, 124-657. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>.
- Ranjani, A., Dhanasekaran, D., et Gopinath, P. M. (2016). An introduction to *Actinobacteria*. *Actinobacteria—Basics and Biotechnological Applications*. InTechOpen. <https://doi.org/10.5772/62329>.
- Rath, N.C., Rasaputra, K.S., Liyanage, R., Huff, G.R., et Huff, W.E. (2011). Dithiocarbamate toxicity e an appraisal. *Pesticides in the Modern World-Effects of Pesticides Exposure*, 323-340. <https://doi.org/10.17179/excli2018-1710>.
- Rathnayake, L. K., et Northrup, S. H. (2016). Structure and mode of action of organophosphate pesticides : A computational study. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1088, 9-23. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2016.04.024>.
- Rathoure, A.K., et Dhatwalia, V.K. (2016). Toxicity and waste management using bioremediation. IGI Global, Hershey, 421.
- Rauch-Williams, T., Hoppe-Jones, C., et Drewes, J. E. (2010). The role of organic matter in the removal of emerging trace organic chemicals during managed aquifer recharge. *Water Research*, 44(2), 449-460. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.08.027>.
- Raval, K. M., Vaswani, P. S., et Majumder, D. D. R. (2012). *Biotransformation of a single amino-acid L-tyrosine into a bioactive molecule L-DOPA*. *International Journal of Scientific and Research Publication*, 2 (5), 2250-3153. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0768-z>.
- Reggam, A., Bouchelaghem, H., et Houhamdi, M. (2015). Qualité physico-chimique des eaux de l'Oued Seybouse (Nord-Est de l'Algérie): Caractérisation et analyse en composantes principales (Physico-chemical quality of the waters of the Oued Seybouse (North- eastern Algeria): Characterization and principal component analysis). 9.

- Rehan, M., Swanson, E., et Tisa, L. S. (2016). *Frankia* as a biodegrading agent., *Actinobacteria—Basics and Biotechnological Applications*. InTech. <https://doi.org/10.5772/61825>.
- Riar, N. K. (2014). Bifenthrin. *Encyclopedia of Toxicology*, 449-451. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.01169-6>.
- Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., Coll. (2009) L'analyse De L'eau. 9^{ème} Edition DUNOD technique. Paris. p. 1008-1043.
- Rodríguez, A., Castrejón-Godínez, M. L., Salazar-Bustamante, E., Gama-Martínez, Y., Sánchez-Salinas, E., Mussali-Galante, P., Tovar-Sánchez, E., et Ortiz-Hernández, Ma. L. (2020). Omics approaches to pesticide biodegradation. *Current Microbiology*, 77(4), 545-563. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01916-5>.
- Rojas, L. (2012). International pesticide market and regulatory. *Worldwide Crop Chemicals*, http://wcropchemicals.com/pesticide_regulatory_profile/#_ftn7.
- Rose, C. E., Coupe, R. H., Capel, P. D., et Webb, R. M. T. (2018). Holistic assessment of occurrence and fate of metolachlor within environmental compartments of agricultural watersheds. *Science of The Total Environment*, 612, 708-719. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.154>.
- S**
- Sabourmoghaddam, N., Zakaria, M. P., et Omar, D. (2015). Evidence for the microbial degradation of imidacloprid in soils of Cameron Highlands. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14(2), 182-188. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.03.002>.
- Sagarkar, S., Bhardwaj, P., Storck, V., Devers-Lamrani, M., Martin-Laurent, F., et Kapley, A. (2016). S-triazine degrading bacterial isolate *Arthrobacter* sp. AK-YN10, a candidate for bioaugmentation of atrazine contaminated soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(2), 903-913. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6975-5>.
- Saidi, I., Mouhouche, F., et Abri, H. (2017). Determination of pesticide residues on tomatoes from greenhouses in Boudouaou and Douaouda, Algeria. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 9(2), 207-212. <https://doi.org/10.3920/QAS2015.0716>.

- Salunkhe, V. P., Sawant, I. S., Banerjee, K., Wadkar, P. N., et Sawant, S. D. (2015). Enhanced dissipation of triazole and multiclass pesticide residues on grapes after foliar application of grapevine-associated *Bacillus* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(50), 10736-10746. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03429>.
- Salvatore, A. L., Bradman, A., Castorina, R., Camacho, J., López, J., Barr, D. B., Snyder, J., Jewell, N. P., et Eskenazi, B. (2008). Occupational behaviors and farmworkers' pesticide exposure : Findings from a study in monterey county, California. *American Journal of Industrial Medicine*, 51(10), 782-794. <https://doi.org/10.1002/ajim.20622>.
- Samanic, C. M., De Roos, A. J., Stewart, P. A., Rajaraman, P., Waters, M. A., et Inskip, P. D. (2008). Occupational exposure to pesticides and risk of adult brain tumors. *American Journal of Epidemiology*, 167(8), 976-985. <https://doi.org/10.1093/aje/kwm401>.
- Samer, M. (2015). Biological and chemical wastewater treatment processes. *Wastewater Treatment Engineering. InTech*. <https://doi.org/10.5772/61250>.
- Sánchez-Bayo, F., Goka, K., et Hayasaka, D. (2016). Contamination of the aquatic environment with neonicotinoids and its implication for ecosystems. *Frontiers in Environmental Science*, 4, 71. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00071>.
- Sanger, F., Nicklen, S., et Coulson, A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*, 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>.
- Sarwar, M. (2015). Information on activities regarding biochemical pesticides: An ecological friendly plant protection against insects. *International Journal of Engineering and Advanced Research Technology*, 1(2), 27-31.
- Sathiakumar, N., MacLennan, P.A., Mandel, J., et Delzell, E. (2011). A review of epidemiologic studies of triazine herbicides and cancer. *Critical Reviews in Toxicology*, 27(6), 599-612. <https://doi.org/10.3109/10408444.2011.554793>.
- Satish, G. P., Ashokrao, D. M., et Arun, S. K. (2017). Microbial degradation of pesticide : A review. *African Journal of Microbiology Research*, 11(24), 992-1012. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8402>.

- Satoh, H., Oshima, K., Suda, W., Ranasinghe, P., Li, N., Gunawardana, E. G. W., Hattori, M., et Mino, T. (2013). Bacterial population dynamics in a laboratory activated sludge reactor monitored by pyrosequencing of 16S rRNA. *Microbes and Environments*, 28(1), 65-70. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME12115>.
- Schafer, R.B., Liess, M., Altenburger, R., Filser, J., Hollert, H., Rob-Nickoll, M., Schaffer, A., et Scheringer, M. (2019). Future pesticide risk assessment: narrowing the gap between intention and reality. *Environmental Sciences Europe*, 32(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0203-3>.
- Scholz, N. L., Fleishman, E., Brown, L., Werner, I., Johnson, M. L., Brooks, M. L., Mitchelmore, C. L., et Schlenk, D. (2012). A perspective on modern pesticides, pelagic fish declines, and unknown ecological resilience in highly managed ecosystems. *BioScience*, 62(4), 428-434. <https://doi.org/10.1525/bio.2012.62.4.13>.
- Schrijver, A. D., et Mot, R. D. (1999). Degradation of pesticides by actinomycetes. *Critical Reviews in Microbiology*, 25(2), 85-119. <https://doi.org/10.1080/10408419991299194>.
- Schulze, J. (1986). Chemical methods in bacterial systematics. *The Society for Applied Bacteriology Technical Series No. 20*. 410. *Food / Nahrung*, 30(10), 994-994. <https://doi.org/10.1002/food.19860301007>.
- Segaran, G., Sundar, R. D. V., Settu, S., Shankar, S., et Sathiavelu, M. (2017). A review on endophytic actinomycetes and their applications. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 9(10), 152-158.
- Sehar, S., et Naz, I. (2016). Role of the biofilms in wastewater treatment. *Microbial Biofilms—Importance and Applications*. *InTech*, 121-144. <https://doi.org/10.5772/63499>.
- Shafiq, I., Shafique, S., Akhter, P., Abbas, G., Qurashi, A., et Hussain, M. (2021). Efficient catalyst development for deep aerobic photocatalytic oxidative desulfurization: Recent advances, confines, and outlooks. *Catalysis Reviews*, 1-46. <https://doi.org/10.1080/01614940.2020.1864859>.
- Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidhu, G. P. S., Handa, N., Kohli, S. K., Yadav, P., Bali, A. S., Parihar, R. D., Dar, O. I., Singh, K., Jasrotia, S., Bakshi, P.,

- Ramakrishnan, M., Kumar, S., Bhardwaj, R., et Thukral, A. K. (2019). Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1446. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1>.
- Sharma, K., Kaushik, G., Thotakura, N., Raza, K., Sharma, N., et Nimesh, S. (2019). Fate of ibuprofen under optimized batch biodegradation experiments using *Micrococcus yunnanensis* isolated from pharmaceutical sludge. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(12), 8315-8328. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02400-9>.
- Shelton, D. R., Khader, S., Karns, J. S., et Pogell, B. M. (1996). Metabolism of twelve herbicides by *Streptomyces*. *Biodegradation*, 7(2), 129-136. <https://doi.org/10.1007/BF00114625>.
- Sher, S., Hussain, S. Z., et Rehman, A. (2020). Phenotypic and genomic analysis of multiple heavy metal-resistant *Micrococcus luteus* strain AS2 isolated from industrial waste water and its potential use in arsenic bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(5), 2243-2254. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10351-2>.
- Shi, H., Pei, L., Gu, S., Zhu, S., Wang, Y., Zhang, Y., et Li, B. (2012). Glutathione S-transferase (GST) genes in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, and comparative analysis with five additional insects. *Genomics*, 100(5), 327-335. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2012.07.010>.
- Shinawar, W. A., Li, R., Zhou, W., Sun, J., Guo, P., Ma, J., et Li, S. (2010). Isolation and characterization of an abamectin-degrading *Burkholderia cepacia*-like GB-01 strain. *Biodegradation*, 21(3), 441-452. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9314-7>.
- Shirling, E. B., et Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16(3), 313-340. <https://doi.org/10.1099/00207713-16-3-313>.
- Shuokr Qarani, A., et Sazan, M. A. (2016). Performance of biological filtration process for wastewater treatment : A review. *ZANCO Journal of Pure and Applied Sciences*, 28 (2); 554-563, 11.

- Sicardi, S. (2020). Treatment of wastewater from textile dyeing by ozonization. Doctorat thesis : di Ricerca in Ingegneria Chimica- Universidade do Porto- Porto-Portugal. <https://doi.org/10.6092/polito/porto/2591378>.
- Sierra, G. (1957). A simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie van Leeuwenhoek*, 23(1), 15-22. <https://doi.org/10.1007/BF02545855>.
- Silini, S., Ali-Khodja, H., Boudemagh, A., Terrouche, A., et Bouziane, M. (2016). Isolation and preliminary identification of actinomycetes isolated from a wastewater treatment plant and capable of growing on methyl ethyl ketone as a sole source of carbon and energy. *Desalination and Water Treatment*, 57(26), 12108-12117. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1046943>.
- Singh, B. (2013). Degradation of Clodinafop Propargyl by *Pseudomonas* sp. Strain B2. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 91(6), 730-733. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1124-2>.
- Singh, D.K. (2012). Pesticides and Environment. *Pesticide chemistry and toxicology*, 1, 114-122.
- Šojić, D., Despotović, V., Orčić, D., Szabó, E., Arany, E., Armaković, S., Illés, E., Gajda-Schrantz, K., Dombi, A., Alapi, T., Sajben-Nagy, E., Palágyi, A., Vágvölgyi, Cs., Manczinger, L., Bjelica, L., et Abramović, B. (2012). Degradation of thiamethoxam and metoprolol by UV, O₃ and UV/O₃ hybrid processes : Kinetics, degradation intermediates and toxicity. *Journal of Hydrology*, 472-473, 314-327. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2012.09.038>.
- Soler, A., García-Hernández, J., Zornoza, A., et Alonso, J. L. (2018). Diversity of culturable nocardioform actinomycetes from wastewater treatment plants in Spain and their role in the biodegradability of aromatic compounds. *Environmental Technology*, 39(2), 172-181. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1296897>.
- Soliman, A. Sh., Helmy, R. M. A., Nasr, I. N., Abbas, M. S., Mahmoud, H. A., et Jiang, W. (2017). Behavior of thiophanate methyl and propiconazole in grape and mango fruits

- under the Egyptian field conditions. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 98(5), 720-725. <https://doi.org/10.1007/s00128-017-2066-x>.
- Sousa, J. A. de J., et Olivares, F. L. (2016). Plant growth promotion by streptomycetes : Ecophysiology, mechanisms and applications. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 3(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0073-5>.
- Sparks, T. C., et Nauen, R. (2015). IRAC : Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 122-128. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.014>.
- Sperling, M. V. (2007). Wastewater characteristics, treatment and disposal. *IWA Publishing*.
- Stach, J. E. M., Maldonado, L. A., Ward, A. C., Bull, A. T., et Goodfellow, M. (2004). *Williamsia maris* sp. Nov., a novel actinomycete isolated from the Sea of Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(1), 191-194. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02767-0>.
- Struger, J., Grabuski, J., Cagampan, S., Sverko, E., et Marvin, C. (2016). Occurrence and distribution of carbamate pesticides and metalaxyl in southern Ontario surface waters 2007–2010. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 96(4), 423-431. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1719-x>.
- Struger, J., Grabuski, J., Cagampan, S., Sverko, E., McGoldrick, D., et Marvin, C. H. (2017). Factors influencing the occurrence and distribution of neonicotinoid insecticides in surface waters of southern Ontario, Canada. *Chemosphere*, 169, 516-523. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.036>.
- Sun, S.L., Yang, W.L., Guo, J.J., Zhou, Y.N., Rui, X., Chen, C., Ge, F., et Dai, Y.J. (2017). Biodegradation of the neonicotinoid insecticide acetamiprid in surface water by the bacterium *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969 and its enzymatic mechanism. *RSC Advances*, 7(41), 25387-25397. <https://doi.org/10.1039/C7RA01501A>.
- Sun, W., Chen, Y., Liu, L., Tang, J., Chen, J., et Liu, P. (2010). Conidia immobilization of T-DNA inserted *Trichoderma atroviride* mutant AMT-28 with dichlorvos degradation

ability and exploration of biodegradation mechanism. *Bioresource Technology*, 101(23), 9197-9203. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.059>.

Sun, Y., Chen, Z., Wu, G., Wu, Q., Zhang, F., Niu, Z., et Hu, H. Y. (2016). Characteristics of water quality of municipal wastewater treatment plants in China: Implications for resources utilization and management. *Journal of Cleaner Production*, 131, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.05.068>.

T

Tabet, M. (2015). Etude physico-chimique et microbiologique des eaux usées et évaluation du traitement d'épuration. Thèse de Doctorat : Santé, Eau et Environnement-Université 8 Mai 1945-Guelma, Algérie. Page: 161.

Thapa, S., Lv, M., et Xu, H. (2017). Acetylcholinesterase: a primary target for drugs and insecticides. *Medicinal Chemistry*, 17(17), 1665-1676. <https://doi.org/10.2174/1389557517666170120153930>.

The Business Research Company. (2020). Pesticides market - by type (herbicides, fungicides and insecticides), by region, opportunities and strategies – global forecast to 2023. TBRC Business Research Pvt Ltd., London, UK.

Tamura, K., Stecher, G., et Peterson, G. (2013). MEGA 6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729. <https://doi.org/2725-2729>. 10.1093/molbev/mst197.

Tamura, T., Hayakawa, M., et Hatano, K. (1999). *Sporichthya brevicatena* sp. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(4), 1779-1784. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-4-1779>.

Tan, H., Deng, Z., et Cao, L. (2009). Isolation and characterization of actinomycetes from healthy goat faeces. *Letters in Applied Microbiology*, 49(2), 248-253. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02649.x>.

Tarazona, J. V., Court-Marques, D., Tiramani, M., Reich, H., Pfeil, R., Istace, F., et Crivellente, F. (2017). Glyphosate toxicity and carcinogenicity: A review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC.

- Archives of Toxicology*, 91(8), 2723-2743. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-1962-5>.
- Tcaciuc, A. P., Borrelli, R., Zaninetta, L. M., et Gschwend, P. M. (2018). Passive sampling of DDT, DDE and DDD in sediments: Accounting for degradation processes with reaction–diffusion modeling. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 20(1), 220–231. <https://doi.org/10.1039/C7EM00501F>.
- Teh, C. Y., Budiman, P. M., Shak, K. P. Y., et Wu, T. Y. (2016). Recent advancement of coagulation–flocculation and its application in wastewater treatment. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 55(16), 4363-4389. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b04703>.
- Teng, Y., Manavalan, T. T., Hu, C., Medjakovic, S., Jungbauer, A., et Klinge, C. M. (2013). Endocrine disruptors fludioxonil and fenhexamid stimulate mir-21 expression in breast cancer cells. *Toxicological Sciences*, 131(1), 71-83. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs290>.
- Thind, T. S., et Hollomon, D. W. (2018). Thiocarbamate fungicides: Reliable tools in resistance management and future outlook: Thiocarbamate fungicides. *Pest Management Science*, 74 (7), 1547-1551. <https://doi.org/10.1002/ps.4844>.
- Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., et Phung, D. T. (2021). Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 1112. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>.

U

- Ullah, S., Li, Z., Zuberi, A., Arifeen, M. Z. U., et Baig, M. M. F. A. (2019). Biomarkers of pyrethroid toxicity in fish. *Environmental Chemistry Letters*, 17(2), 945-973. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-00852-y>.
- Unsworth, J. (2010). History of pesticide use. IUPAC-International Union of Pure and Applied Chemistry.

USEPA (Environmental Protection Agency). (2007). Pesticides: Health and safety. National assessment of the worker protection workshop.

USEPA (Environmental Protection Agency). (2010). Department of toxic substances control California. Proven technologies and remedies guidance remediation of chlorinated volatile organic compounds in soil; California Environmental Protection: Sacramento, CA, USA.

V

Vale, A., et Lotti, M. (2015). Organophosphorus and carbamate insecticide poisoning. In *Handbook of Clinical Neurology* 131, 149-168. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62627-1.00010-X>.

Vanysacker, L., Denis, C., Roels, J., Verhaeghe, K., et Vankelecom, I. F. J. (2014). Development and evaluation of a TaqMan duplex real-time PCR quantification method for reliable enumeration of *Candidatus Microthrix*. *Journal of Microbiological Methods*, 97, 6-14. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.11.016>.

Varjani, S., Kumar, G., et Rene, E. R. (2019). Developments in biochar application for pesticide remediation : Current knowledge and future research directions. *Journal of Environmental Management*, 232, 505-513. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.11.043>.

Velmurugan, G., Ramprasath, T., Swaminathan, K., Mithieux, G., Rajendhran, J., Dhivakar, M., Parthasarathy, A., Babu, D.D., Thumburaj, L.J., Freddy, A.J., Dinakaran, V., Puhari, S.S., Rekha, B., Christy, Y.J., Anusha, S., Divya, G., Suganya, K., Meganathan, B., Kalyanaraman, N., Vasudevan, V., Kamaraj, R., Karthik, M., Jeyakumar, B., Abhishek, A., Paul, E., Pushpanathan, M., Rajmohan, R.K., Velayutham, K., Lyon, A.R., et Ramasamy, S. (2017). Gut microbial degradation of organophosphate insecticides-induces glucose intolerance via gluconeogenesis. *Genome Biology*. 18 (1), 8. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1134-6>.

Verma, A., Ali, D., Farooq, M., Pant, A. B., Ray, R. S., et Hans, R. K. (2011). Expression and inducibility of endosulfan metabolizing gene in *Rhodococcus* strain isolated from earthworm gut microflora for its application in bioremediation. *Bioresource Technology*, 102(3), 2979-2984. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.005>.

Verma, J. P., Jaiswal, D. K., et Sagar, R. (2014). Pesticide relevance and their microbial degradation : A-state-of-art. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 13(4), 429-466. <https://doi.org/10.1007/s11157-014-9341-7>.

Verma, K., Agrawal, N., Farooq, M., Misra, R. B., et Hans, R. K. (2006). Endosulfan degradation by a *Rhodococcus* strain isolated from earthworm gut. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(3), 377-381. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.05.014>.

W

Wanchai, C., Theingi, M., Surakitti, S., et Onrat, W. (2012). Effect of thiamethoxam and imidacloprid treatment on germination and seedling vigor of dry-heated seed of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *African Journal of Agricultural Research*, 7(48), 6408-6412. <https://doi.org/10.5897/AJAR12.1515>.

Wang, C., Wu, Q., Wu, C., et Wang, Z. (2011). Application of dispersion–solidification liquid–liquid microextraction for the determination of triazole fungicides in environmental water samples by high-performance liquid chromatography. *Journal of Hazardous Materials*, 185(1), 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.08.124>.

Wang, G., Chen, X., Yue, W., Zhang, H., Li, F., et Xiong, M. (2013a). Microbial degradation of acetamiprid by *Ochrobactrum* sp. D-12 isolated from contaminated soil. *PLoS ONE*, 8(12), 82603. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082603>.

Wang, G., Yue, W., Liu, Y., Li, F., Xiong, M., et Zhang, H. (2013b). Biodegradation of the neonicotinoid insecticide Acetamiprid by bacterium *Pigmentiphaga* sp. Strain AAP-1 isolated from soil. *Bioresource Technology*, 138, 359-368. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.193>.

Wang, X., Hou, X., Liang, S., Lu, Z., Hou, Z., Zhao, X., Sun, F., et Zhang, H. (2018). Biodegradation of fungicide Tebuconazole by *Serratia marcescens* strain B1 and its application in bioremediation of contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 127, 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.12.001>.

Wang, X., Yu, N., Yang, J., Jin, L., Guo, H., Shi, W., Zhang, X., Yang, L., Yu, H., et Wei, S. (2020). Suspect and non-target screening of pesticides and pharmaceuticals

- transformation products in wastewater using QTOF-MS. *Environment International*, 137, 105-599. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105599>.
- Wang, Y.S., Zheng, X. C., Hu, Q. W., et Zheng, Y. G. (2015). Degradation of abamectin by newly isolated *Stenotrophomonas maltophilia* ZJB-14120 and characterization of its abamectin-tolerance mechanism. *Research in Microbiology*, 166(5), 408-418. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.04.002>.
- Wagner, M., Loy, A., Nogueira, R., Purkhold, U., et Lee, N. (2002). Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81(1), 665-680. <https://doi.org/10.1023/a:1020586312170>.
- Wangyun, A. P., et Gerald, A. (2019). Understanding pesticide degrading-microbe community using molecular approaches. *Pollution. Research*, 38, 118-22.
- Waksman, S.A. (1943). Production and activity of *Streptothricin*. *Journal of Bacteriology*, 46(3), 299-310. <https://doi.org/10.1128/jb.46.3.299-310.1943>.
- Wellington, E. M. H., Stackebrandt, E., Sanders, D., Wolstrup, J., et Jorgensen, N. O. G. (1992). Taxonomic status of *Kitasatosporia*, and proposed unification with *Streptomyces* on the basis of phenotypic and 16S rRNA Analysis and Emendation of *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339AL. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42(1), 156-160. <https://doi.org/10.1099/00207713-42-1-156>.
- Whitman, W. B., Rainey, F., Kämpfer, P., Trujillo, M., Chun, J., DeVos, P., Hedlund, B., et Dedysh, S. (2015). *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (1^{re} ed.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118960608>.
- Wijaya, I. M. W., et Soedjono, E. S. (2018). Physicochemical characteristic of municipal wastewater in tropical area : case study of Surabaya city, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 135 (1), 012018. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/135/1/012018>.
- Williams, S.T., et Cross, T. (1971). Chapter XI Actinomycetes. *Methods in Microbiology*, 4, 295-334. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(09\)70016-9](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(09)70016-9).
- Williams, S. T., Goodfellow, M., Wellington, E. M. H., Vickers, J. C., Alderson, G., Sneath, P. H. A., Sackin, M. J., et Mortimer, A. M. (1983). A probability matrix for

- identification of some Streptomyces. *Microbiology*, 129(6), 1815-1830.
<https://doi.org/10.1099/00221287-129-6-1815>.
- Wink, J., Mohammadipanah, F., et Hamed, H. (2017). Practical aspects of working with *Actinobacteria*. *Biology and Biotechnology of Actinobacteria*, 329-376.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-60339-1_11.
- Wirsching, J., Pagel, H., Ditterich, F., Uksa, M., Werneburg, M., Zwiener, C., Berner, D., Kandeler, E., et Poll, C. (2020). Biodegradation of pesticides at the limit : kinetics and microbial substrate use at low concentrations. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2107.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02107>.
- Wong, J. K. H., Tan, H. K., Lau, S. Y., Yap, P.-S., et Danquah, M. K. (2019). Potential and challenges of enzyme incorporated nanotechnology in dye wastewater treatment : A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(4), 103261.
<https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103261>.
- Wood, T. J., et Goulson, D. (2017). The environmental risks of neonicotinoid pesticides : A review of the evidence post 2013. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(21), 17285-17325. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9240-x>.
- Wu, D., Yun, Y., Jiang, L., et Wu, C. (2018). Influence of dissolved organic matter on sorption and desorption of MCPA in ferralsol. *Science of The Total Environment*, 616-617, 1449-1456. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.169>.
- Wu, L., Chládková, B., Lechtenfeld, O. J., Lian, S., Schindelka, J., Herrmann, H., et Richnow, H. H. (2018). Characterizing chemical transformation of organophosphorus compounds by ¹³C and ²H stable isotope analysis. *Science of The Total Environment*, 615, 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.233>.
- X**
- Xu, S. (2014). Process improvements in biological nutrient removal systems for better wastewater treatment process improvements in biological nutrient removal systems for better wastewater treatment. Ph.D. Thesis, University of Missouri-Columbia.

Xu, S., Yao, J., Ainiwaer, M., Hong, Y., et Zhang, Y. (2018). Analysis of bacterial community structure of activated sludge from wastewater treatment plants in winter. *BioMed Research International*, 2018, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2018/8278970>.

Xu, Z., Hu, X., Wu, M., Tang, T., Zhang, C., He, H., Yu, J., Lou, F., Wu, Y., Wang, Y., Chen, L., Zhao, H., Wang, Q., et Cai, L. (2017). Fate of fenhexamid in water-sediment systems : Degradation under aerobic/anaerobic conditions and bioaccumulation by zebrafish (*Danio rerio*). *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(4), 134. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3319-3>.

Y

Yair, S., Ofer, B., Arik, E., Shai, S., Yossi, R., Tzvika, D., et Amir, K. (2008). Organophosphate degrading microorganisms and enzymes as biocatalysts in environmental and personal decontamination applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(4), 265-275. <https://doi.org/10.1080/07388550802455742>.

Yang, H., Wang, X., Zheng, J., Wang, G., Hong, Q., Li, S., Li, R., et Jiang, J. (2013). Biodegradation of acetamiprid by *Pigmentiphaga* sp. D-2 and the degradation pathway. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.03.038>.

Yao, S., Liu, Y., Zhang, M.Q., Zhang, X., Li, H., Zhao, T., Xin, CH., Xu, L., Zhang, B.L., et Cheng, C. (2014). *Thermoactinomyces daqus* sp. nov., a thermophilic bacterium isolated from high-temperature Daqu. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(1), 206-210. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.055509-0>.

Ye, X., Dong, F., et Lei, X. (2018). Microbial resources and ecology - microbial degradation of pesticides. *Natural Resources Conservation and Research*, 1(1). <https://doi.org/10.24294/nrcr.v1i1.242>.

Yin, L. B., Zhao, L. Z., Liu, Y., Zhang, D. Y., Zhang, S. B., et Xiao, K. (2013). Isolation and characterization of cypermethrin degrading bacteria screened from contaminated soil. *Biodegradation of Hazardous and Special Products. InTech*. <https://doi.org/10.5772/56339>.

Yu, S.J. (2011). The toxicology and biochemistry of insecticides, second ed. *CRC Press, Boca Raton, Florida* <https://doi.org/10.1201/9781420059762>.

- Yuan, G.L., Qin, J.X., Li, J., Lang, X.X., et Wang, G.H. (2014). Persistent organic pollutants in soil near the Changwengluozha glacier of the Central Tibetan Plateau, China : Their sorption to clays and implication. *Science of The Total Environment*, 472, 309-315. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.061>.
- Yue, L., Ge, C., Feng, D., Yu, H., Deng, H., et Fu, B. (2017). Adsorption–desorption behavior of atrazine on agricultural soils in China. *Journal of Environmental Sciences*, 57, 180-189. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.11.002>.
- Yusoff, S. N. M., Kamari, A., et Aljafree, N. F. A. (2016). A review of materials used as carrier agents in pesticide formulations. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13(12), 2977-2994. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1096-y>.

Z

- Žabar, R., Komel, T., Fabjan, J., Kralj, M. B., et Trebše, P. (2012). Photocatalytic degradation with immobilised TiO₂ of three selected neonicotinoid insecticides : Imidacloprid, thiamethoxam and clothianidin. *Chemosphere*, 89(3), 293-301. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.039>.
- Zhan, H., Wan, Q., Wang, Y., Cheng, J., Yu, X., et Ge, J. (2021). An endophytic bacterial strain, *Enterobacter cloacae* TMX-6, enhances the degradation of thiamethoxam in rice plants. *Chemosphere*, 269, 128751. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128751>.
- Zhang, X., Zha, J., Li, W., Yang, L., et Wang, Z. (2008). Effects of 2,4-dichlorophenol on the expression of vitellogenin and estrogen receptor genes and physiology impairments in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*). *Environmental Toxicology*, 23(6), 694-701. <https://doi.org/10.1002/tox.20375>.
- Zhang, Z., Zheng, P., Li, W., Wang, R., et Ghulam, A. (2015). Effect of organic toxicants on the activity of denitrifying granular sludge. *Environmental Technology*, 36(6), 699-705. <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.959065>.
- Zhao, Y.J., Dai, Y.J., Yu, C.G., Luo, J., Xu, W. P., Ni, J. P., et Yuan, S. (2009). Hydroxylation of thiacloprid by bacterium *Stenotrophomonas maltophilia*

- CGMCC1.1788. *Biodegradation*, 20(6), 761-768. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9264-0>.
- Zheng, M., Wang, Y., Wang, C., Wei, W., Ma, S., Sun, X., et He, J. (2018). Silver nanoparticles-based colorimetric array for the detection of Thiophanate-methyl. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 198, 315-321. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.03.038>.
- Zhi, X.Y., Li, W.J., et Stackebrandt, E. (2009). An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class *Actinobacteria*, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(3), 589-608. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65780-0>.
- Zhu, S., Niu, L., Aamir, M., Zhou, Y., Xu, C., et Liu, W. (2017). Spatial and seasonal variations in air-soil exchange, enantiomeric signatures and associated health risks of hexachlorocyclohexanes (HCHs) in a megacity Hangzhou in the Yangtze River Delta region, China. *Science of The Total Environment*, 599-600, 264-272. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.181>.
- Zhou, G., Wang, Y., Ma, Y., Zhai, S., Zhou, L., Dai, Y., et Yuan, S. (2014). The metabolism of neonicotinoid insecticide thiamethoxam by soil enrichment cultures, and the bacterial diversity and plant growth-promoting properties of the cultured isolates. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49(6), 381-390. <https://doi.org/10.1080/03601234.2014.894761>.
- Zhou, G., Wang, Y., Zhai, S., Ge, F., Liu, Z., Dai, Y., Yuan, S., et Hou, J. (2013). Biodegradation of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam by the nitrogen-fixing and plant-growth-promoting rhizobacterium *Ensifer adhaerens* strain TMX-23. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(9), 4065-4074. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4638-3>.
- Zobeidi, A. (2017). Épuration des eaux usées urbaines par lagunage aéré en zone aride – cas de la région d’el-Oued. Paramètres influents et choix des conditions optimales. Thèse

de Doctorat: Génie de procédés Option -Université Kasdi Merbah- Ouargla, Algérie.

Page: 202.

ANNEXES

Annexe n° 1 : Milieux de culture et solutions**Milieux d'isolement****AF**

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Glucose	2 g
NaCl	2,5 g
CaCO ₃	1 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,00

Czapeck-dox modifié

Saccharose	10 g
NaNO ₃	3 g
KH ₂ PO ₄	1 g
KCl	0,5 g
MgSO ₄ .H ₂ O	0,5 g
FeSO ₄ .H ₂ O	0,01 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,3-7,5

Milieu ISP4

Amidon soluble	10 g
K ₂ HPO ₄	1g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 g
NaCl	1 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 g
CaCO ₃	2 g
Solution d'oligo-élément*	1 ml
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,0 -7,4

Milieu Olson

Sodium caséinate	2 g
L-asparagine	0,1 g
Sodium propionate	4 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
FeSO ₄	0,01 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 8,2

Milieux d'identification des caractères cultureux des isolats**Milieu ISP2**

Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
D-Glucose	4 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7,3

Milieu ISP3

Solution d'avoine	1000 ml
Solution saline*	1 ml

pH : 7,2

Milieu ISP 5

Glycérol	10 g
L-Asparagine	1 g
Solution d'oligo-éléments*	1 ml
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,2

Milieu ISP7

Glycérol	15 g
L-asparagine	1 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
NaCl	0,5
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,2-7,4

Milieus pour les tests enzymatiques**Milieu amidon-agar**

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Sodium chlorure	5 g
Amidon de riz	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,00

Milieu gélosé à la cellulose

Cellulose	10 g
NaNO ₃	1,2 g
Kh ₂ PO ₄	3 g
K ₂ HPO ₄	6 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,2 g
CaCl ₂	0,05 g
MnSO ₄	0,01 g
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,001 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,00

Milieu gélosé au lait écrémé**Solution A :**

Poudre de lait écrémé	10 g
Eau distillée	90 ml

Solution B :

Agar	3 g
Eau distillée	97 ml

pH : 6,5-7,2

La gélose à la tyrosine

Peptone	5 g
Extrait de viande	3 g
L-tyrosine	5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,00

La gélose au jaune d'œuf (à 10%)

Peptone	10 g
Extrait de levure	5 g
NaCl	10 g
Jaune d'œuf	100 ml
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,00

Milieu Sierra

Peptones	10 g
Tween 80	10 ml
NaCl	5 g
CaCl ₂ -H ₂ O	0,1 g
Agar	18 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,4

Milieu gélatine

Peptone	10 g
Extrait de viande	4 g
Sodium de chlorure	2,5 g
Gélatine	120 g

pH : 6,8 – 7,00

Milieu Pectine-agar

Pectine	5 g
Extrait de levure	5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,00

Milieu basal (source d'azote)

Glucose	1 g
MgSO ₄	0,05 g
NaCl	0,05 g
FeSO ₄	0,001 g
K ₂ HPO ₄	0,1 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,00

Milieu ISP9 (source de carbone)

(NH ₄) ₂ SO ₄	2,64 g
KH ₂ PO ₄	2,38 g
K ₂ HPO ₄ . 3H ₂ O	5,65 g
MgSO ₄ . 2H ₂ O	1 g
Solution d'oligo-élément**	1 ml
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 6,8-7,00

Milieux pour les tests de biodégradation des pesticides**Milieu minimum 1 (MM1)**

(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2 g
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	1,5 g
KH ₂ PO ₄	1,5 g
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0,01 g
FeSO ₄	0,001 g
Agar	18 g
Eau distillé	1000 ml

pH : 7,2

Milieu minimum 2 (MM2)

Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	2,7 g
KH ₂ PO ₄	1,4 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g
Solution d'oligo-élément***	10 ml
Eau distillé	1000 ml

pH : 7,00

Milieu minimum 3 (MM3)

Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	4 g
KH ₂ PO ₄	2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	2 g
Solution d'oligo-élément****	1 ml
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,00

Milieu minimum 4 (MM4)

NaNO ₃	3 g
MgCl ₂	0,5 g
KCl	0,5 g
FeCl ₃	0,01 g
CaCl ₂	0,04 g

MnCl ₂	0,001 g
Eau distillée	1000 ml

pH : 7,00

Solutions**Solution d'oligo-éléments***

FeSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,1 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g
Eau distillée	100 ml

Solution d'oligo-éléments**

CuSO ₄ .5H ₂ O	0,64 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,11 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,79 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,15 g
Eau distillée	100 ml

Solution d'oligo-élément ***

Na ₂ EDTA.2H ₂ O	12 g
NaOH	2 g
MnSO ₄ .4H ₂ O	0,4 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,4 g
H ₂ SO ₄	0,5 ml
Na ₂ SO ₄	10 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,1 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	2 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,1 g
CaCl ₂	1 g
Eau distillée	1000 ml

Solution d'oligo-éléments****

ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g
MnCl ₂ .7H ₂ O	0,03 g
H ₃ BO ₃	0,3 g

CoCl ₂ .6H ₂ O	0,2 g
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,01 g
NiCl ₂ .6H ₂ O	0,02 g
Eau distillée	1000 ml

Solution de violet de Gentiane

Violet de Gentiane	1 g
Ethanol	10 ml
Phénol	2 g
Eau distillée	100 ml

Solution de lugol

Iodure de potassium	2 g
Iode métalloïde	1 g
Eau distillée	100 ml

Solution de fuchsine

Fuchsine basique	10 g
Phénol	50 g
Ethanol	100 ml
Eau distillé	1000 ml

Solution d'acétate de cuivre

Acétate de cuivre	10 g
Eau distillée	100 ml

Solution aqueuse de Rouge Congo

Rouge Congo	1 g
Eau distillée	100 ml

Solution d'avoine

Grains d'avoine pilés	20 g
Eau distillée	1000 ml

Faite bouillir 20 g d'avoine dans 1000 ml d'eau distillée pendant 20 minutes. Filtrer à l'aide d'une gaze et compléter le volume du filtrat à 1000 ml.

Annexe n° 2 : Identification moléculaire.**Protocol d'extraction de l'ADN**

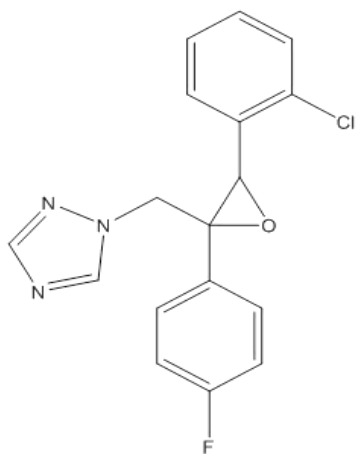
1. Ajouter une colonie dans le tube Powerbead fourni. Mélangez délicatement au vortex.
2. Ajouter 60 µl de la solution C1 et inverser plusieurs fois ou mélanger brièvement au vortex.
3. Fixer les tubes Powerbead horizontalement à l'aide d'un porte-tube adaptateur Vortex.
4. Mélanger au vortex à la vitesse maximale pendant 10 minutes.
5. Centrifuger les tubes à 10.000×g pendant 30 secondes.
6. Transférer le surnageant dans un tube collecteur propre de 2 ml.
7. Ajouter 250 µl de solution C2 et mélanger au vortex pendant 5 secondes. Incuber à 4°C pendant 5 minutes.
8. Centrifuger les tubes pendant 1 minute à 10.000×g.
9. En évitant le culot, transférer jusqu'à 600 µl de surnageant dans un tube collecteur de 2 ml au minimum.
10. Ajouter 200 µl de solution C3 et vortexer brièvement. Incuber à 4°C pendant 5 minutes.
11. Centrifuger les tubes pendant 1 minute à 10.000×g.
12. En évitant le culot, transférer jusqu'à 750 µl de surnageant dans un tube collecteur propre de 2 ml.
13. Agiter pour mélanger la solution C4 et ajouter 1200 µl au surnageant. Vortexer pendant 5 secondes.
14. Charger 675 µl sur une colonne de spin MB et centrifuger à 10.000g pendant 1 min. Jeter le flux.
15. Répéter l'étape 14 deux fois, jusqu'à ce que tout l'échantillon ait été traité.
16. Ajouter 500 µl de solution C5. Centrifuger pendant 30 secondes à 10.000×g.
17. Jeter le flux. Centrifuger à nouveau pendant 1 minute à 10.000×g.
18. Placer avec précaution la colonne MB dans un tube collecteur propre de 2 ml, sans éclabousser la colonne avec la solution C5.
19. Ajouter 100 µl de solution C6 au centre de la membrane filtrante blanche.
20. Centrifuger à température ambiante pendant 30 secondes à 10.000×g. Jeter la colonne de spin MB. L'ADN est maintenant prêt pour les applications en aval.

Protocol de purification des produits de PCR

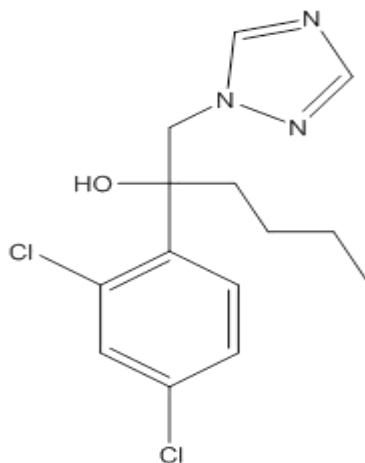
1. Transférer jusqu'à 100 µl de la solution de réaction de PCR dans un tube de micro-centrifugation de 1,5 ml. Ajouter 5 volumes de solution de gel de solubilisation et mélanger par vortex.
2. Placer la mini-colonne de spin de fragment d'ADN dans un tube de collecte de 2 ml, et transférer le mélange sur la colonne.
3. Centrifuger à 14.000g-16000g pendant 30 secondes.
4. Jeter le tube de collecte contenant le flux traversant, et replacez la colonne de spin dans le tube de collecte.
5. Ajouter 600 µl de tampon de lavage 2 et laisser reposer pendant 1 minute.
6. Centrifuger à 14.000g-16.000g pendant 30 secondes et jetez le flux.
7. Remettre la colonne dans le tube de collecte et centrifugez à 14.000g-16.000g pendant encore 3 minutes pour sécher la matrice de la colonne.
8. Transférer la colonne dans un nouveau tube de micro-centrifugation de 1,5 ml et pipeter 20 µl-50 µl de tampon d'élution directement au centre de la colonne sans toucher la membrane. Incuber à température ambiante pendant 2 minutes.
9. Centrifuger pendant 2 minutes à 14.000-16.000g pour éluer l'ADN purifié. Jeter la colonne d'élution et utiliser l'ADN immédiatement ou le conserver à -20°C.

Annexe n° 3: Structure chimique des pesticides

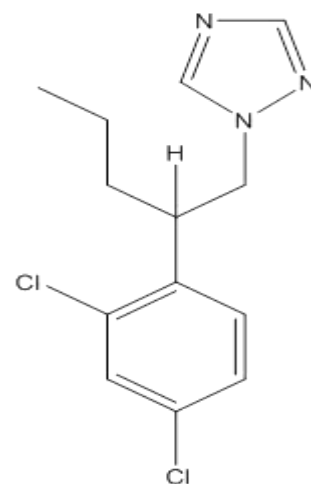
Fongicides



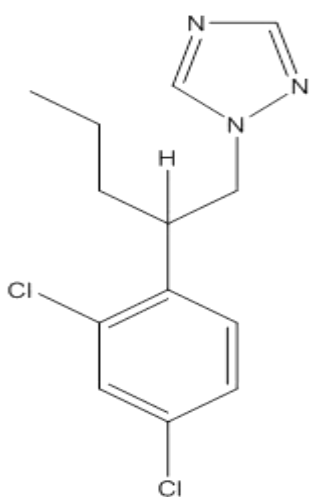
Epoxiconazole



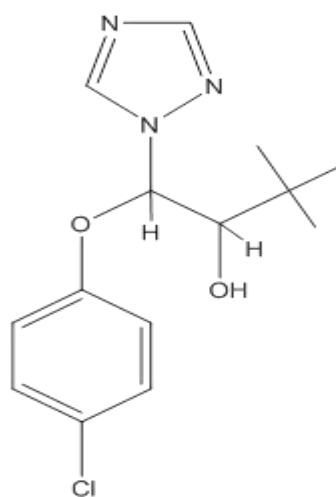
Hexaconazole



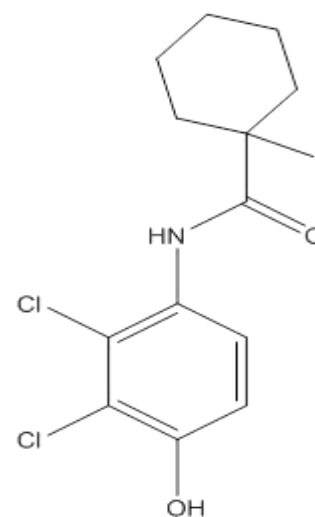
Penconazole



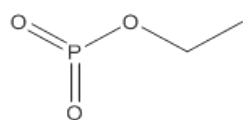
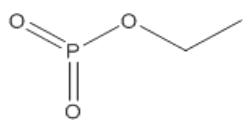
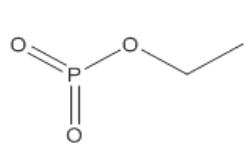
Tébuconazole



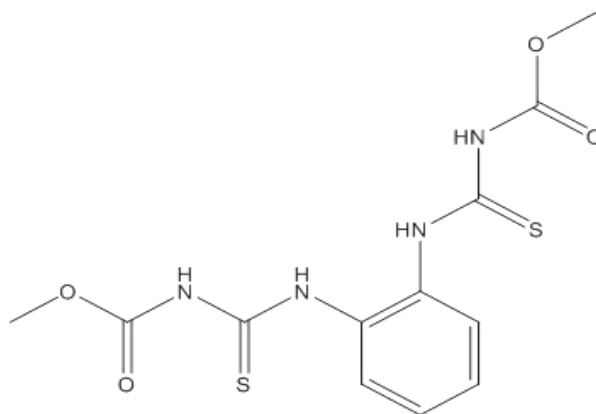
Triadimérol



Fenhexamide

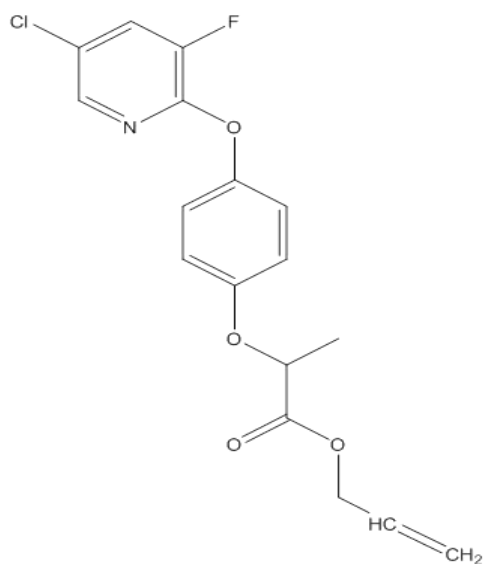
Al³⁺

Fosétyl-al

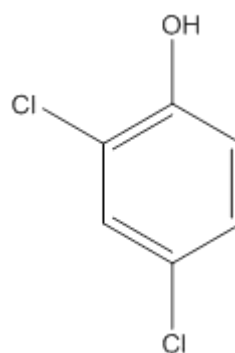


Thiophanate méthyl

Herbicides

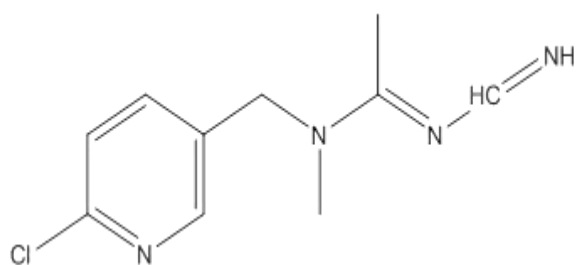


Clodinafop-propargyl

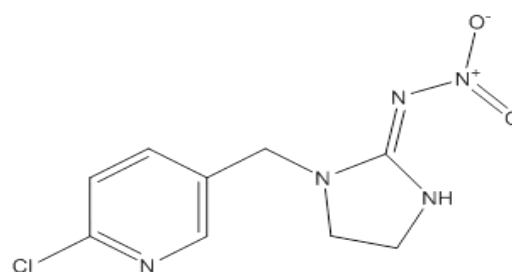


2,4-Dichlorophénol

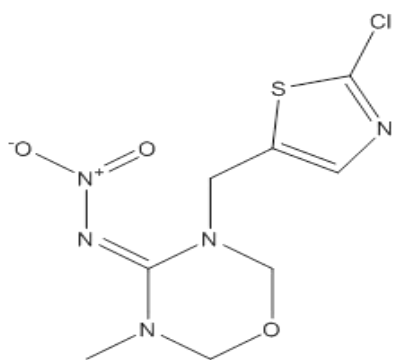
Insecticides



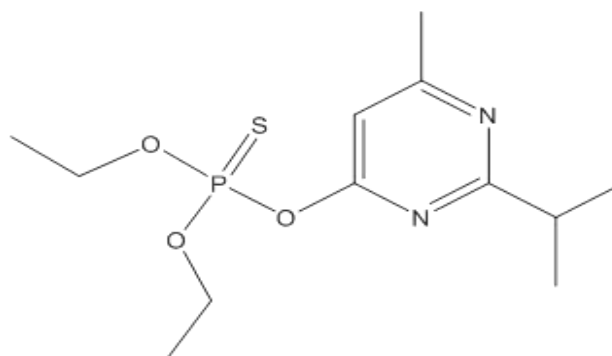
Acétamipride



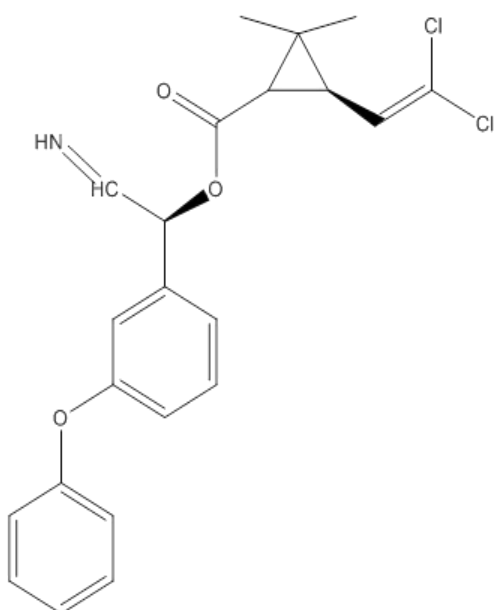
Imidaclopride



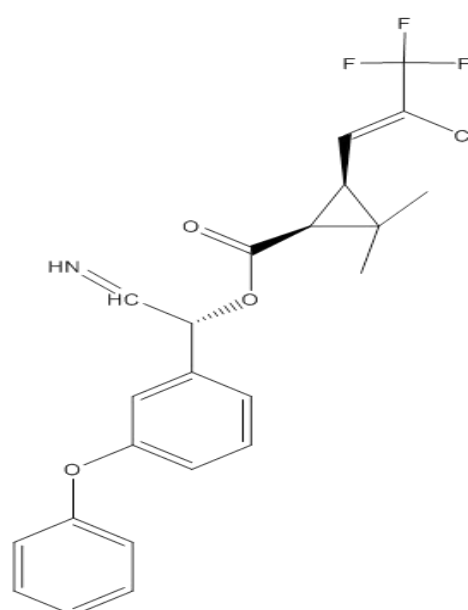
Thiaméthoxame



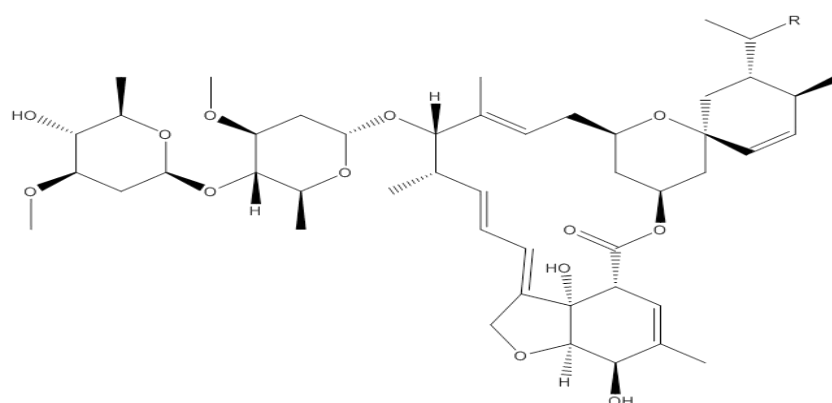
Diazinon



α-Cyperméthrine



Lambda-cyhalothrine



Abamectine

Figure 15: Structures chimiques des substances actives des pesticides utilisés dans l'étude.

Annexe n° 4 : Courbes d'étalonnage des pesticides

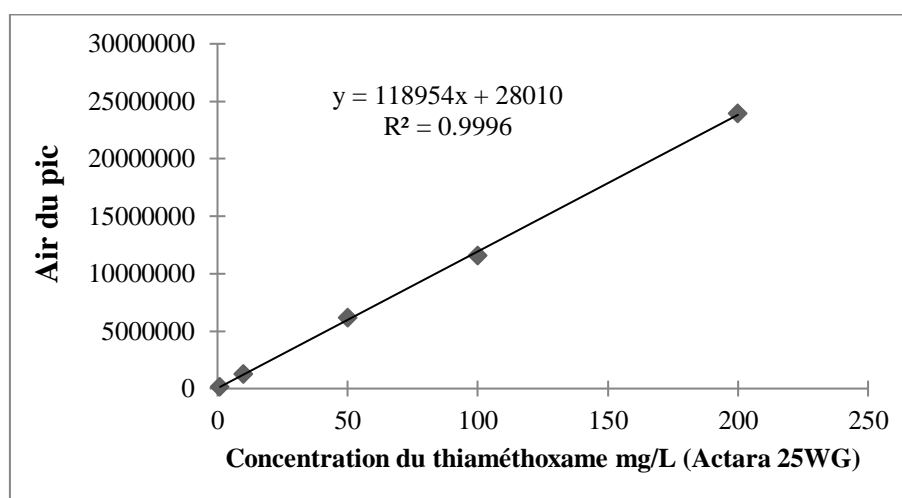
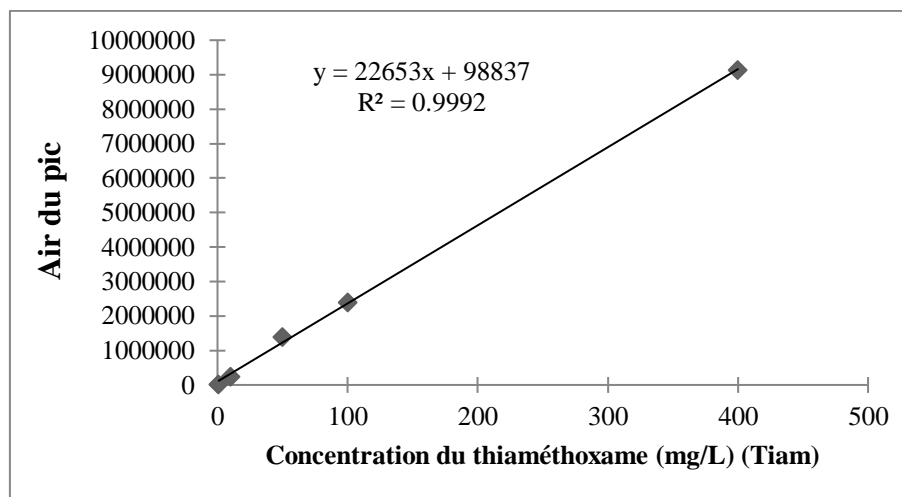
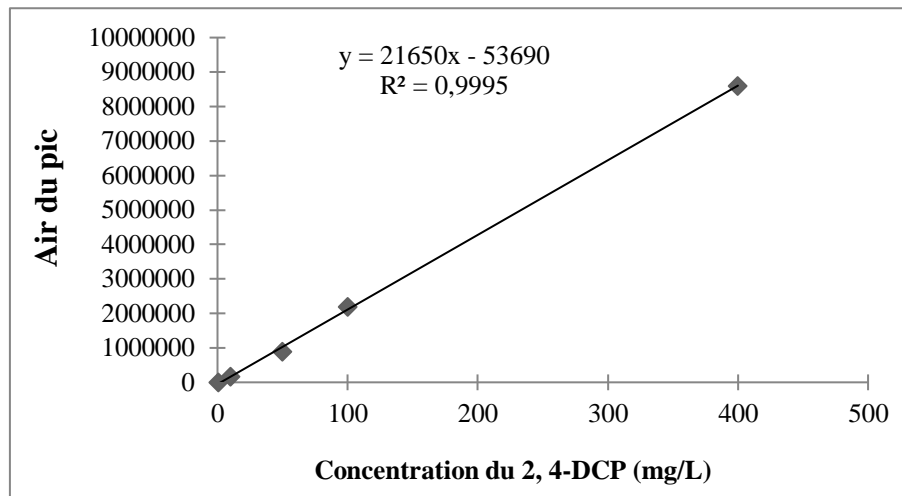
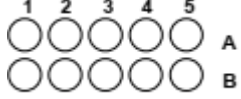
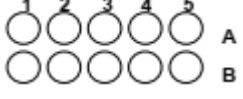
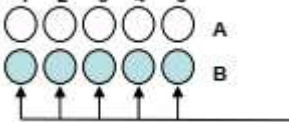
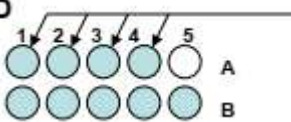
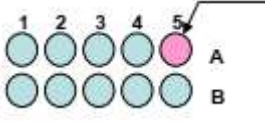
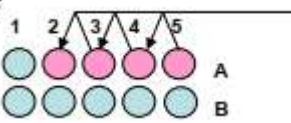


Figure 16 : Courbe d'étalonnage des pesticides 2,4-DCP et thiaméthoxame (Tiam et Actara 25 WG).

Annexe n° 5: Tests de toxicité.

Protocole d'inhibition de la bioluminescence de *Vibrio fischeri* - Microtox

1. Préparer la solution de reconstitution, puis mettre 1 ml de cette solution dans le puits de refroidissement (5°C).
2. Pipeter 1 ml de diluant (solution de NaCl à 2 %) de A1 à A4. Laisser A5 vide.
3. Pipeter 500 µL de diluant dans la rangée B, dans tous les puits sans exception.
4. Pipeter 250 µL de MOAS (solution de NaCl 22%) dans le puits A5 et ajouter 2.5 ml de l'échantillon.
5. Faire de dilutions en transférant 1 ml du puits A5 à A4, de A4 à A3, de A3 à A2.
6. Mélanger le flacon contenant le réactif (bactérie congelée) avec la solution de reconstitution. Transférer dans la cuvette et retourner au puits de refroidissement.
7. Pipeter 10 µL du réactif reconstitué dans chacune des cuvettes de la rangée B.
8. Attendez 15 minutes et placer la cuvette B1 dans le puits de lecture.
9. Lire les valeurs de lumière de toutes les cuvettes de la rangée B.
10. Transférer rapidement 500 µL du contenu de chaque cuvette en rangée A à la cuvette correspondante de la rangée B.
11. Lire la bioluminescence après 5 et 15 minutes.

<p>A</p>  <p>Puits de réactif</p>	<p>B</p>  <p>1000 µl de solution de reconstitution</p> <p>Puits de réactif</p>
<p>C</p>  <p>Puits de réactif</p> <p>500 µl de dilution</p>	<p>D</p>  <p>1000 µl de dilution</p> <p>Puits de réactif</p>
<p>E</p>  <p>2500 µl de l'échantillon, 250 µl</p> <p>Puits de réactif</p>	<p>F</p>  <p>Transférer 1000 µl:</p> <p>A5 à A4</p> <p>A4 à A3</p> <p>A3 à A2</p> <p>Puits de réactif</p>

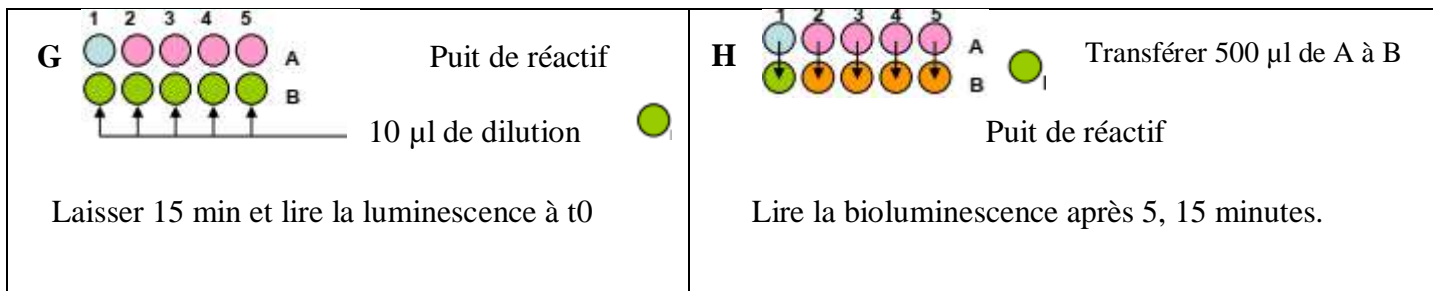


Figure 18: Schéma représentative du teste d'inhibition de la bioluminescence de la bactérie *Vibrio fischeri* par le thiaméthoxame ou ses produits de dégradation finale.

Protocol de Toxi-Chromo test

Préparation des microplaques

1. Distribuer 100 µl de diluant (G) dans les puits appropriés des microplaques.
2. Distribuer 200 µl de contrôle positif toxique (D) dans le puits A1 et effectuer une série de dilutions de 1 à 2 en descendant de la colonne 1 jusqu'à la ligne G.
3. Distribuer 200 µl d'échantillons à 100% de concentration dans les puits appropriés de la rangée A.
4. Distribuer 100 µl de diluant (G) ou d'échantillon dans la rangée H pour créer des puits de réactifs.
5. Distribuer 100 µl de mélange réactionnel (A) dans chaque puits de la rangée H. A ce stade, aucune bactérie ne doit être présente dans (A). La rangée H ne reçoit jamais de bactéries.

Préparation et ajout de bactéries

1. Réhydrater les bactéries avec (C) en versant tout le contenu de (C) dans (B). Attendre 15 minutes pour une réhydratation complète et transférer 1 ml de bactéries réhydratées dans (B) au mélange réactionnel (A).
2. Distribuer 100 µl de la suspension bactérienne de (A) dans tous les puits de la microplaque, à l'exception de la ligne H. Incuber la microplaque à 37°C pendant 90 minutes.

Ajout du chromogène et développement de la couleur

1. Retirer la plaque de l'incubateur et distribuer 100 µl du chromogène (F) dans tous les puits de la plaque.
2. Incuber à 37°C pendant 30 minutes ou jusqu'à ce qu'une couleur bleu suffisante se développe dans les puits du contrôle négatif.
3. Lire l'absorbance à 600 nm.

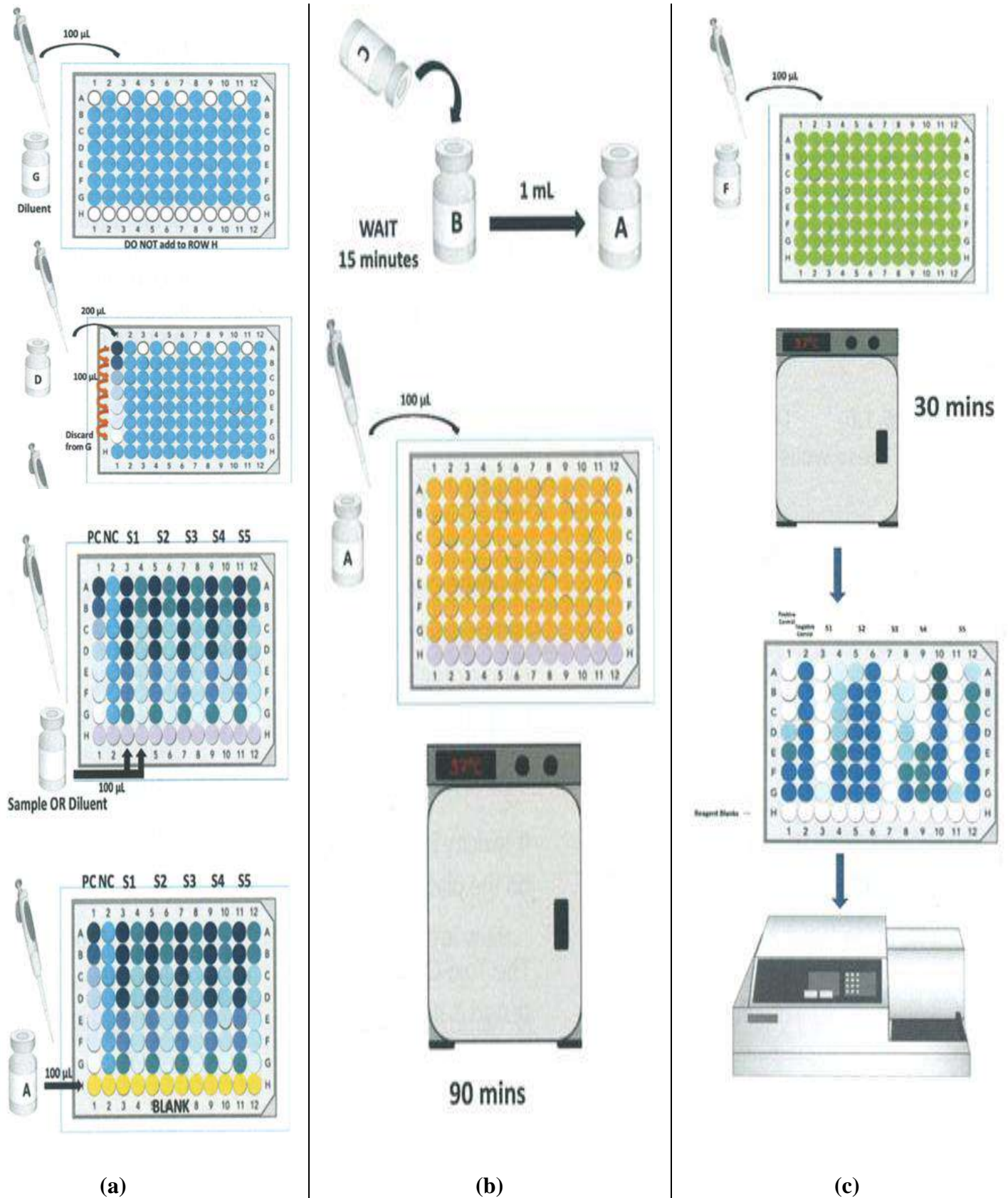


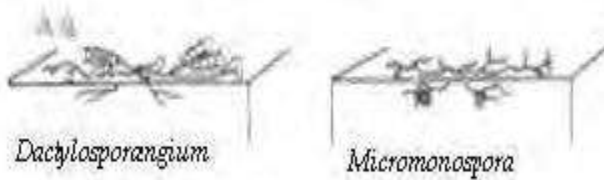
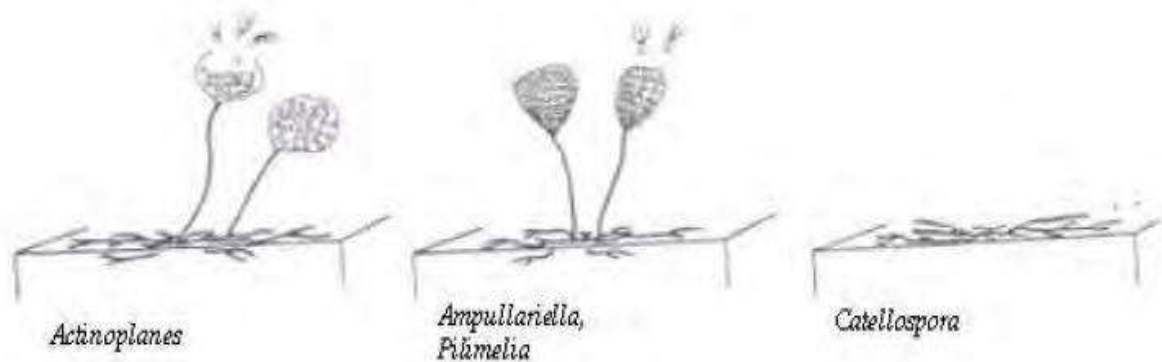
Figure 19: Procédure du Toxi-Chromo test. **(a)** : la préparation des microplaques, **(b)** : Préparation et ajout de bactéries, **(c)** : Ajout du chromogène et développement de la couleur.

Annexe n° 6 : Schémas représentatifs des mycéliums aériens et de substrat des principaux genres d'actinobactéries (Lechevalier, 1994).

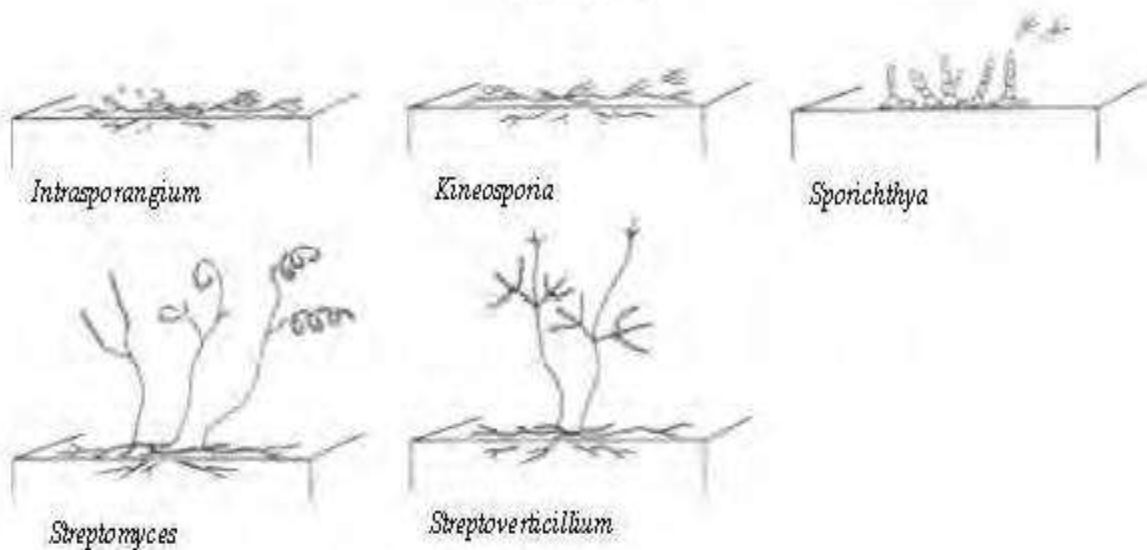
Groupe 23



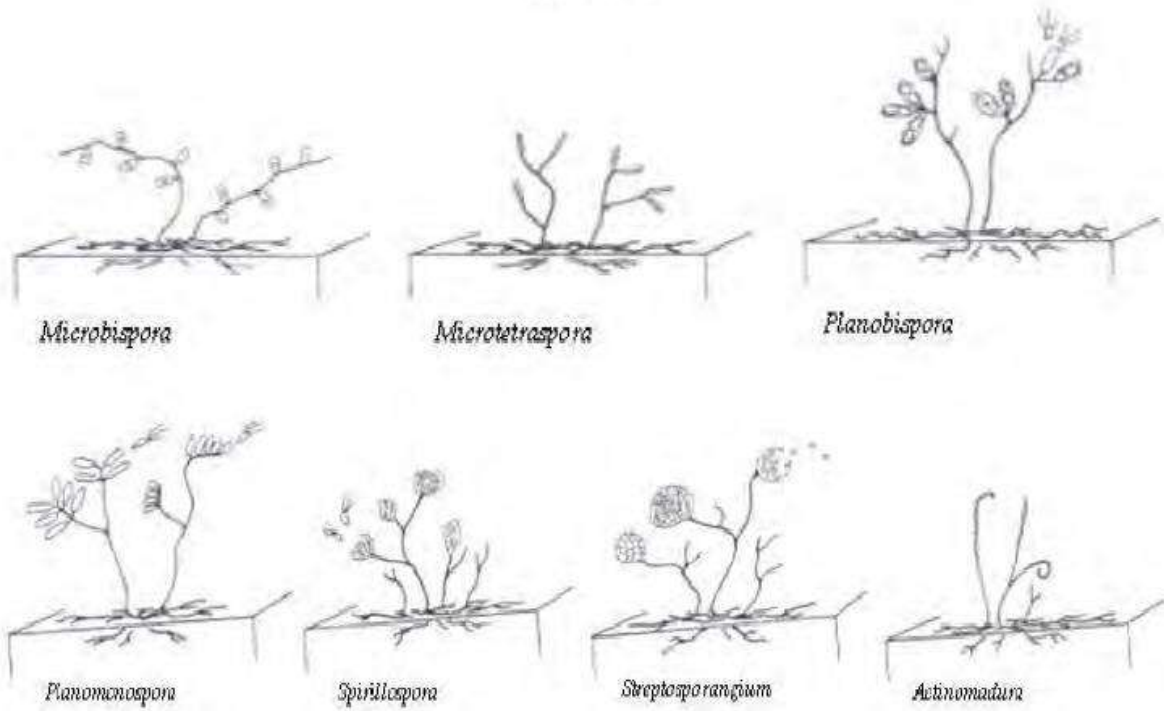
Groupe 24



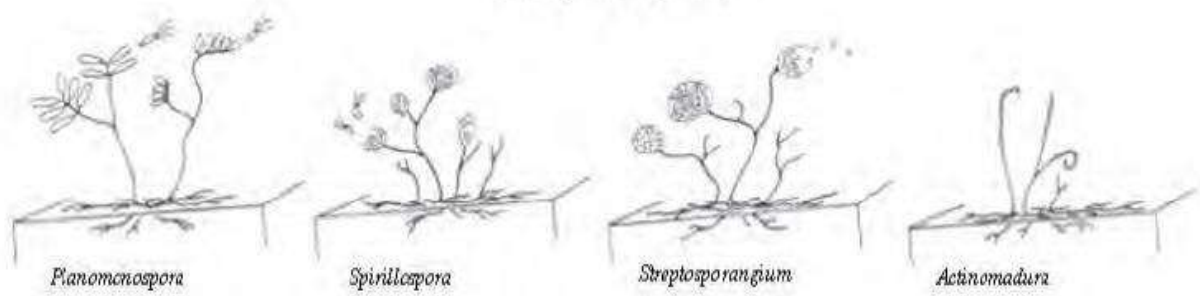
Groupe 25



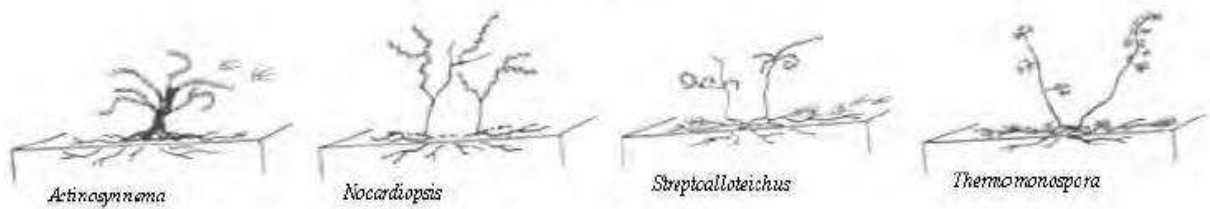
Groupe 26



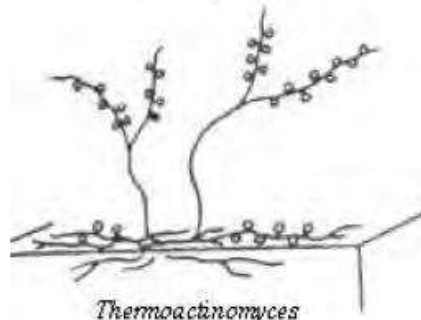
Groupe 26 (suite)



Groupe 27

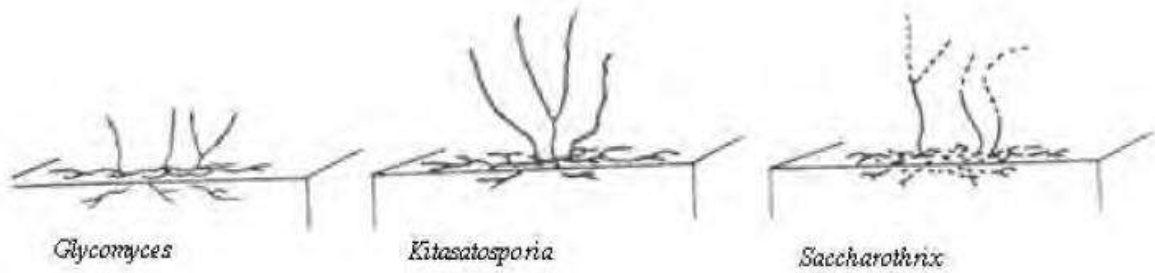


Groupe 28



Thermoactinomyces

Groupe 29



Glycomyces

Kitasatosporia

Saccharothrix

Annexe n° 7 : Criblage des actinobactéries sur milieu solide.**Tableau 18 :** Résultats de test de biodégradation des pesticides à différentes concentrations [C] (mg/L) par les souches d'actinobactéries isolées des trois STEPs.

Pesticide	[C]	AC	AE	AG	FG	ME	ML	MM	OA	OB	OF	OH	OT	OV	SG	YO
2,4-DCP	50	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alphaban 20 SC	50	-	-	+	-	-	-/+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	200	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diazinon	50	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Imiguard 20% SL	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rustilan	50	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tiam	50	-	-	-	-	-	-	-	-/+	+	-	+	-	+	+	-
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aliette	50	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Pelthio 70 WP	50	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Teldor	50	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
	200	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

L'assimilation ou non de ces pesticides par les actinobactéries a été évaluée comme étant nulle (-), faible (-/+), modérée (+) ou abondante (++) .

PUBLICATIONS ET
COMMUNICATIONS

Publications scientifiques

Oumeima Boufercha, Irina S. Moreira, Paula M.L. Castro, Allaoueddine Boudemagh. *Actinobacteria* isolated from wastewater treatment plants located in the east-north of Algeria able to degrade pesticides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(6), 105. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03282-9>

Articles en cours de publication

Oumeima Boufercha, A.R. Monforte, Allaoueddine Boudemagh, António C. Ferreira, Paula M.L. Castro, Irina S. Moreira. Thiamethoxam neonicotinoid insecticide biodegradation by *Labrys portucalensis* F11.

Communications internationales

Boufercha, O., Boudemagh, A., and Ali-Khodja, H. (2019). Comparative study of some physico-chemical parameters indicating the quality of treated water in three treatment plants. International Conference on Biotechnology and Bio-resources Valorization. Held on March 21-23, 2019 in Tabarka-Tunisia. Communication affichée.

Boufercha, O., Boudemagh, A., Moreira, I.S., and Castro, P.M.L. (2021). Biodegradation of 2, 4 DCP herbicide by *Streptomyces collinus* isolated from wastewater treatment plant in eastern Algeria. International Conference on Water and Energy (ICWE'21). Held on May 25-27, 2021 in Chlef-Algeria. Communication affichée.

Boufercha, O., and Boudemagh, A. (2021). Contribution to the study of the operating performance of the Ibn Ziad wastewater treatment plant (city of Constantine). First International Conference on Geo-sciences & Environment. Held on September 25-26, 2021 in Mascara-Algeria. Communication orale.

Boufercha, O., and Boudemagh, A. (2021). Study of the degradation of commercial fungicide Pelthio 70WP by *Streptomyces* sp. isolated from activated sludge. First International Webinar Microbes For Life. Held online on October 20 – 22, 2021. Algiers-Algeria. Communication affichée.

Boufercha, O., Moreira, I.S., Castro, P.M.L., and Boudemagh, A. (2021). Isolation and identification of actinomycetes degrading the fungicide allial from the active sludge of the wastewater treatment plant Ibn ziad (Constantine city). 1ST International Seminar on Technological Innovations in the Service of Sustainable Agriculture (SITTA). Held online on October 24-25, 2021 in Mila-Algérie. Communication orale.

Boufercha, O., Moreira, I.S., Castro, P.M.L., and Boudemagh, A. (2021). Study of the biodegradation of the insecticide alpha-cypermethrin by indigenous *Actinobacteria* isolated from activated sludge. 1ST International Webinar on Biological and Chemical Engineering. Held on November 10th- 11th, 2021 in Blida-Algeria. Communication affichée.

Boufercha, O., Moreira, I.S., Castro, P.M.L., and Boudemagh, A. (2021). Study of the biodegradation of the insecticide thiamethoxam by *Streptomyces* strains isolated from wastewater treatment plants in Algeria. 1ST International E-Day on Microbial Biotechnology held online on November 18th, 2021 in Boumerdes-Algeria. Communication orale.

Boufercha, O., Moreira, I.S., Castro, P.M.L., and Boudemagh, A. (2021). Study of the role of indigenous *Actinobacteria* from activated sludge in the degradation of the fungicide fenhexamid. The Seventh MGIBR International Seminar of Startups and Smart Agriculture “Train the next generation of farmers prosperous”. Held in 15-16 December 2021, in Tlemcen-Algeria. Communication affichée.

Boufercha, O., Moreira, I.S., Castro, P.M.L., and Boudemagh, A. (2021). Biodegradation of neonicotinoids insecticides by *Actinobacteria* isolated from activated sludge of a wastewater treatment plant located in eastern Algeria. 1ST International Seminar on Pollution, Health, Environment and Bio-monitoring (SIPSEB’21). Held on December 27-28, 2021 in Skikda-Algeria. Communication orale.

Boufercha, O., Moreira, I.S., Castro, P.M.L., and Boudemagh, A. (2022). Non-targeted impact of triazole fungicides on the *Actinobacteria* community of activated sludge. Le 1^{er} Webinaire International de Biodiversité Animale, Protection et Environnement ‘‘WIBAPE2022’’. Held on May 27-28, 2022 in Algiers-Algeria. Communication affichée.

Communications nationales

Boufercha, O., et Boudemagh, A. (2020). Etude de quelques aptitudes enzymatiques des actinobactéries isolées à partir des stations d'épuration des eaux usées. Journées scientifiques nationales sur les enzymes à applications biotechnologiques. Tenue le 21-22 Décembre 2020 à Constantine-Algérie. Communication affichée.

Boufercha, O., et Boudemagh, A. (2021). Caractérisation phénotypique des actinomycètes tolérants le 2,4-Dichlorophénol. Séminaire national sur les bioressources: Nutrition, santé et environnement. Webinaire tenue le 17-18 Mai 2021 au M'sila-Algérie. Communication affichée.

Boufercha, O., et Boudemagh, A. (2021). Evaluation de la performance de la station d'Oued El Athmania par l'étude de certains paramètres physico-chimiques des eaux usées brutes et épurées. Séminaire national sur la biodiversité végétale et animale, environnement et santé. Tenue le 20 Mai 2021 à Mila-Algérie. Communication affichée.

Boufercha, O., et Boudemagh, A. (2021). Caractérisation physio-chimiques des eaux usées brutes et épurées de la station d'épuration de Sidi Merouane. Séminaire national sur les ressources naturelles face aux contraintes d'utilisation et aux changements climatiques. Webinaire tenue le 24 Juin 2021 à Mila-Algérie. Communication orale.

Boufercha, O., et Boudemagh, A. (2021). Effet antagoniste du fongicide époxiconazole sur les actinobactéries des boues activées de la station d'Oued El Athmania 1er Atelier sur l'évaluation et la gestion des ressources environnementales. Tenue le 14 Juillet 2021 à Alger- Algérie. Communication orale.

Boufercha, O., et Boudemagh, A. (2021). Etude de la biodégradation de l'insecticide commercial diazinon par des actinobactéries isolés à partir des boues activées de la station d'Ibn Ziad. Journées nationales de l'agro-eco-biotechnologie. Tenue le 15 et 16 Octobre 2021 au Blida-Algérie. Communication affichée.

Boufercha, O., and Boudemagh, A. (2021). Antagonistic effect of abamectin and lambda-chyhalothrin on activated sludge *Actinobacteria*. Séminaire National sur les Pesticides :

Législation, environnement et santé (SNP 2021). Tenue le 24-25 Novembre, 2021 à Boumerdes-Algérie. Communication orale.

Boufercha, O., et Boudemagh, A. (2021). Etude de l'effet de l'herbicide Clodinafop-propagyl sur les *Streptomyces* de la boue activée de la station d'Ibn Ziad. Séminaire national sur la recherche agronomique au cœur de la sécurité alimentaire et au service de l'environnement. Tenue le 1-2 Décembre, 2021 à Bordj Bou Arreridj. Communication orale.

Boufercha, O., et Boudemagh, A. (2022). Comparative study of biotechnologically important enzyme synthesis in *Actinomadura* sp.ME, *Micrococcus* sp. MM, and *Streptomyces* sp.AC. Séminaire National sur : La Valorisation des Ressources Naturelles et de l'environnement (VRNE 2022). Tenue le 30 Mars, 2022 à Sétif. Communication affichée.

Boufercha, O., et Boudemagh, A. (2022). Biodiversity of culturable *Actinobacteria* in activated sludge of wastewater treatment plants in Algeria. Séminaire National sur : Biodiversité, Biotechnologie et Développement Durable (BB & DD 2022). Tenue le 16 Avril, 2022 à Ghardaïa. Communication affichée.

Thème :**Capacité des actinobactéries isolées à partir des stations d'épuration des eaux usées ainsi que *Labrys portucalensis* F11 à dégrader certains pesticides****Résumé**

Dans cette étude, une analyse physico-chimique a été menée afin d'évaluer la fonctionnalité et la qualité des eaux usées de la station d'épuration des eaux usées (STEP) d'Ibn Ziad, de Oued El Athmania et de Sidi Merouane. Les résultats physico-chimiques ont révélé que les effluents d'eaux usées à la sortie des trois STEPs présentent une charge organique moins élevée qu'à l'entrée. À partir des échantillons d'eaux usées brutes, épurées et celles des bassins d'aération de ces STEPs, 15 souches d'actinobactéries ont été isolées et purifiées. Sur la base des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques, combinées à l'analyse phylogénétique du gène de l'ARNr 16S ; 13 isolats ont été affiliés au genre *Streptomyces* sp., un au genre *Actinomadura* sp. et un autre isolat à *Micrococcus* sp. Le criblage préliminaire de ces souches sur des milieux minimum gélosés additionnée séparément de 17 pesticides différents a permis de sélectionner 13 souches capables de dégrader 9 pesticides différents comme seule source de carbone. Le criblage secondaire sur milieu minimum liquide, nous a permis d'évaluer la cinétique de dégradation des pesticides 2,4-dichlorophénol (2,4-DCP) et thiaméthoxame par les souches d'actinobactéries sélectionnées. *Streptomyces* sp. ML et OV ont été considérés comme les souches les plus performantes pour la dégradation de ces deux pesticides. Dans ce travail nous avons également étudié la biodégradation de thiaméthoxame par la souche bactérienne *Labrys portucalensis* F11. Les résultats montrent que cette souche peut dégrader 41%, 35% et 100% du thiaméthoxame (10,84 mg/L) comme seule source de carbone-azote, de carbone-soufre et de carbone, respectivement après 30 jours d'incubation. L'alimentation périodique avec de l'acétate de sodium a entraîné une dégradation plus rapide du thiaméthoxame. La détection et l'identification des intermédiaires de biodégradation ont été réalisées par UPLC-QTOF/SM/SM et la structure chimique de 12 métabolites a été proposée. La dégradation du thiaméthoxame par la souche F11 se fait principalement par des réactions de déchloration, de réduction des nitrates et de clivage du cycle oxadiazine. L'impact du thiaméthoxame et de ses intermédiaires de dégradation sur la germination du *Lactuca sativa*, la bioluminescence de *Vibrio fischeri* ainsi que sur le test Toxi-Chromo ont montré que *L. portucalensis* F11 dégrade efficacement le thiaméthoxame en métabolites non toxique. Le présent travail démontre que les actinobactéries et *L. portucalensis* F11 peuvent être utilisés efficacement pour la détoxification de ce genre de sites contaminés par ces pesticides.

Mots clés : Actinobactéries, biodégradation, *Labrys portucalensis* F11, paramètres physico-chimiques, pesticides, station d'épuration des eaux usées.

Members de jury:

Président :	Mr. KITOUNI Mahmoud	Professeur U. Frères Mentouri-Constantine1
Directeur de thèse:	Mr. BOUDEMAGH Allaoueddine	Professeur U. Frères Mentouri-Constantine1
Examineur :	Mr. ALI-KHODJA Hocine	Professeur U. Frères Mentouri-Constantine1
Examineur :	Mr. SILINI Allaoua	Professeur U. Ferhat Abbas-Sétif