

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Abderrahmane Mira de Bejaia**

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie  
Département de Microbiologie  
Spécialité biotechnologie microbienne



**Réf :.....**

**Mémoire de fin de cycle**

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

**Thème**

**Caractérisation des souches d'actinobactéries résistantes aux pesticides**

**Réalisés par :**

Bouharis Massinissa

Dalibey kosaila

Soutenue le : 26 juin 2023

**Devant le Jury composé de :**

M<sup>er</sup> BELHADI Djellali

MCA

Examineur

Mme ARKOUB Warda

MCA

Promotrice

Mme SALMI Adouda

MCA

Présidente

M<sup>elle</sup> HADDAD Sara

Doctorante

Invitée

2022/2023

## REMERCIEMENTS

Nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, la patience et le courage nécessaires pour la concrétisation de ce travail.

Ce travail n'aurait certainement pas pu voir le jour sans l'assistance de plusieurs personnes, nous citerons à leur tête notre promotrice **Dr ARKOUB-DJOUDI Warda** pour avoir accepté de nous encadrer, ainsi que pour ses orientations et ses précieux conseils.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance aux membres du jury, la présidente **Dr SALMI A** et l'examineur **Dr BELHADI D**, et les remercier pour le temps qu'ils ont consacré pour l'évaluation de notre travail.

Nous tenons également à remercier **Dr DJINNI I** pour ses orientations et conseils sans oublier la doctorante **Melle Sara Haddad** pour son aide précieuse et son assistance au niveau du laboratoire de Microbiologie Appliqué et **Melle Kenza B** pour son aide.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

## *DEDICACES*

*A mes chers parents pour leur patience, leur amour, leurs encouragements, leurs prières tout au long de mes études.*

*A mes frères et mes très chères sœurs, qui ont partagé avec moi des moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail, source de joie et de bonheur.*

*A tous mes amies qui m'ont toujours encouragé et pour les bons moments passés ensemble, et à qui je souhaite plus de succès.*

*A mon meilleur ami kosaila pour sa conduite exemplaire et sa participation à l'élaboration de notre mémoire.*

*Bouharis Massinissa*

## ***DEDICACES***

*C'est avec beaucoup d'amour que je dédie ce travail à mes chers parents que dieu les garde pour moi, pour leurs sacrifices, encouragements et leurs prières durant toutes mes études, en souhaitant que dieu leur accorde santé et longueur vie.*

*A ma chère grand-mère que dieu la protège et lui réserve une longue vie.*

*A ma chère sœur, et à tous les membres de ma famille.*

*A mon meilleur ami Massinissa pour sa conduite exemplaire et sa participation à l'élaboration de notre mémoire.*

**DALIBEY Kosaila**

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Liste des abréviations

## Introduction.....1

### SOMMAIRE

#### Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I.1	Généralités sur les actinobactéries .....	2
I.2	Ecologie.....	2
I.3	Taxonomie.....	3
I.4	Importance des actinobactéries .....	4
II	Généralités sur les pesticides .....	5
II.1	Définition.....	5
II.2	Composition des pesticides .....	6
II.3	Formulation des pesticides .....	6
II.4	Classification et mode d'action des pesticides.....	6
II.5	Domaine d'utilisation des pesticides.....	8
II.6	Pollution par les pesticides .....	8
II.7	La résistance des actinobactéries aux pesticides.....	9

#### Chapitre II : Matériel et Méthodes

I.	Matériel.....	11
I.1	Matériel analytique.....	11
I.2	Matériel biologique .....	11
I.2.1	Micro-organismes étudiés.....	11
II	Méthodes.....	12
II.1	Etude des caractères morphologiques des souches.....	12
II.1.1	Etude macromorphologique .....	12
II.1.2	Etude micro morphologique.....	12
II.2	Etude de la résistance des isolats aux pesticides .....	12
II.3	Etude des caractères physiologiques des souches .....	13
II.4	Résistance des actinobactéries aux métaux lourds .....	16

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

I. Caractères morphologiques des souches isolées.....	17
I.1 Caractères macromorphologiques.....	17
I.2 Caractères micro morphologiques .....	19
II. Etude de la tolerance des souches d'actinobacteries à différentes conentrations des pesticides .....	21
III. Activités enzymatiques.....	22
IV. Mise en evidence de la resistance aux metaux lourds.....	28
<b>Conclusion.....</b>	<b>29</b>

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

### **Résumé**

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Applications biotechnologiques des actinobactéries.....	05
<b>Figure 2:</b> Classification des pesticides chimiques.....	07
<b>Figure 3:</b> le site d'isolement des souches MK1 et MK2.....	11
<b>Figure 4 :</b> Caractéristiques morphologiques et culturales sur les milieux ISP de l'isolat MK1 après 14 jours.....	17
<b>Figure 5 :</b> Caractéristiques morphologiques et culturales sur les milieux ISP de l'isolat MK1 après 14 jours.....	18
<b>Figure 6:</b> Observation microscopique du mycélium aérien et du mycelium de substrat et la forme des spores de la souche MK1 ; au grossissement (Gx4), (Gx10).....	20
<b>Figure 7:</b> Observation microscopique du mycélium aérien et du mycelium de substrat et la forme des spores de la souche MK2 ; au grossissement (Gx4), (Gx10).....	20
<b>Figure 8:</b> Les souches MK1 et MK2 résistantes aux différents pesticides acetampride et gallant super.....	21
<b>Figure 9:</b> Hydrolyse d'amidon par les deux souches MK1 et MK2.....	21
<b>Figure 10:</b> Hydrolyse de la caséine du lait par la souches MK2 et absence de hydrolyse de caséine par la souche MK1.....	22
<b>Figure 11:</b> Hydrolyse des lipides par les deux souches MK1 et MK2.....	22
<b>Figure12 :</b> Hydrolyse des estérases par les deux souches MK1 et MK2.....	23
<b>Figure 13:</b> Hydrolyse de la cellulose par les deux souches MK1 et MK2.....	23
<b>Figure 14:</b> Résultat négatif de hydrolyse de la tyrosine par les deux souches MK1 et MK2.....	24
<b>Figure 15:</b> Résultat positive de hydrolyse de lécithinase pour la souche MK1 et absence de hydrolyse de lécithinase pour la souche MK2.....	24
<b>Figure 16:</b> Hydrolyse de l'urease par les deux souches MK1 et MK2.....	25
<b>Figure 17:</b> Résultat positive de hydrolyse de nitrate pour la souche MK1 et absence de hydrolyse de nitrate pour la souche MK2.....	25

<b>Figure 18:</b> Hydrolyse de lignine peroxydase par la souche MK2 et non hydrolysée par la souche MK1.....	26
<b>Figure 19:</b> absence de hydrolyse de laccase par les souche MK2 et MK1.....	26
<b>Figure 20:</b> la résistante des deux souches MK1 et MK2 aux différents métaux lourds.....	28



## Liste des tableaux

<b>Tableau N°01:</b> Répartition de quelques genres d'actinomycètes par type d'habitat .....	03
<b>Tableau N°2:</b> Caractéristique général des principaux genres d'actinobactéries dégradant les pesticides.....	10
<b>Tableau N°3:</b> Caractères cultureux de l'isolat MK1 après 14 jours d'incubation.....	18
<b>Tableau N°4 :</b> Caractères cultureux de l'isolat MK2 après 14 jours d'incubation.....	19
<b>Tableau N°5 :</b> Caractérisation biochimiques des isolats étudiés.....	27
<b>Tableau N°6:</b> La résistance des deux souches MK1 et MK2 aux différents métaux lourds .....	28

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**MA** : mycélium aérien

**MS** : mycélium du substrat

**DAP** : 2,6 diaminopimélique.

**DDD** : Dichlorodiphényldichloroéthane.

**DDE** : Dichloro-diphenyl-Exachloroéthane

**DDT** : Dichloro-diphényl-trichloroéthane

**HETP**: Hexaethyl tetraphosphate

**GC%** : Coefficient de Chargaff

**GN** : Gélose Nutritive

**ISP** : International Streptomyces Project

**MH** : Mueller Hinton

**pH** : Potentiel Hydrogène

**SCA** : Starch Casein Agar

**NaCl** : Le chlorure de sodium

**LB** : Luria Bertani

**EC** : concentré émulsifiable

**SP** : soluble poudre

**OMS** : World Health Organization

## **Introduction**

La pollution causée par les activités agricoles et l'usage des produits phytosanitaires représente un cas typique de pollution multiple et généralisés de tous les compartiments de l'environnement. Elle constitue un sujet de préoccupation majeur et un problème d'actualité (**Craven, 2005**).

Le développement des systèmes de traitement de ces déchets phytosanitaires, représente un intérêt croissant. L'enjeu est majeur, il s'agit d'éviter la pollution de l'environnement par les pesticides d'une part et de protéger la santé publique d'une autre part. Parmi les moyens de dépollution, celles qui utilisent les techniques physico-chimiques sont considérées très coûteuses et nécessitent des moyens généralement lourds. On assiste ces dernières années à l'émergence des techniques biologiques qui sont beaucoup moins onéreuses et très efficaces. Ces procédés font appel aux microorganismes capables de biodégrader ces polluants très variés (**Loqman, 2009**).

Les actinomycètes peuvent représenter un moyen de lutte efficace, grâce à leurs aptitudes physiologiques et métaboliques très avantageuses. Spécialement grâce aux multiples enzymes extracellulaires produites par ces bactéries et à la capacité de production de spores par la plupart de ces bactéries, qui favorise leur propagation et persistance dans les sols (**Ensign, 1978**). Malgré ces atouts, ce groupe bactérien fait pas l'objet d'études de biodégradation des pesticides, comparativement aux autres microorganismes (**Sasikala et al., 2012**).

L'objectif de ce travail est la caractérisation de deux souches d'actinobactéries résistantes aux pesticides nommées MK1 (résistante aux acétamiprides) et MK2 (résistante au Gallant super) isolées à partir d'un site agricole de la wilaya de Jijel.

Ce mémoire comporte principalement trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à la revue bibliographique décrivant des généralités sur les actinobactéries et les pesticides.

Le deuxième chapitre décrit la partie expérimentale réalisée, dans le troisième chapitre, sont retracés et discutés les observations et les résultats obtenus à l'issue de cette étude. Enfin une conclusion générale résume les principaux résultats obtenus.

## I.1 Généralités sur les actinobactéries

Les actinobactéries représentent un groupe de champignon et de bactérie, ayant un coefficient de Chargaff compris généralement entre 60% et 70 %. (**Sanglier et Larpenet, 1989**), ce sont des bactéries à gram positif caractérisées par une teneur en guanine et cytosine dans leur ADN entre 55% et 75% (**Goodfellow et Cross, 1984 , Sanglier et Trujillo, 1997**).

La plupart des actinobactéries sont hétérotrophes mais certaines espèces sont aussi chimio-autotrophes. La plupart des organismes de ce groupe sont aérobies et certains peuvent être anaérobies ou anaérobies facultatifs (**Goodfellow et Williams, 1983**).

Il existe différentes morphologies dans la structure hyphale des actinobactéries , Nous distinguons trois cas (**Djaballah, 2010**). La plupart sont aérobies formant des mycéliums connus sous le nom mycélium de substrat et aérien, ils se reproduisent par fission binaire ou par production de spores ou de conidies. La sporulation des actinobactéries se fait à travers la fragmentation et la segmentation ou bien la formation de conidies.

Les caractères culturels contribuent parfois à différencier les groupes d'actinomycètes entre eux qui sont : La production ou non d'un mycélium aérien (MA), et la présence d'un mycélium du substrat (MS), et la détermination de la couleur du MA et du MS (**Saker, 2015**).

La croissance bactérienne correspond à une augmentation du nombre de bactéries et est influencée par diverses conditions physico-chimiques de l'environnement tels que la température qui varie entre 25°C et 30°C (**Rangaswami et al., 2004** ), et le pH entre 5 et 9 (**Belyagoubi, 2014**).

## I.2 Écologie

Les actinobactéries sont des micro-organismes ubiquitaires qui sont largement répandus dans la nature et existent principalement dans les différents écosystèmes terrestres et aquatiques (tableau 1). Ils ont des aptitudes à coloniser de nombreux milieux, on les trouve dans les eaux douces ou salées, en compost, dans l'atmosphère et dans les substrats les plus divers. Dans le sol, ils sont présents en surface jusqu'à les profondeurs. Le nombre de ces micro-organismes atteint généralement les 10<sup>6</sup> germes par gramme de sol séché. Les actinobactéries présente la population tellurique majoritaire ou elles jouent un rôle important dans la dégradation et le transfert de la matière organique et à la formation de l'humus (**Goodfellow et Williams, 1983**).

**Tableau 1:** Répartition de quelques genres d'actinomycètes par type d'habitat ( **Goodfellow et Williams, 1983**).

Genre	Habitats
Actinomadura	Sol
Actinoplane	Sol, Eau, Litière
Frankia	Nodules des racines
Microbiospora	Sol
Micromonospora	Sol, Eau
Rhodococcus	Sol, Eau, Fumier, Litière, Matière en décomposition
Saccharomonospora	Sol, Eau, Litière
Streptomyces	Sol et Eau
Streptosporangium	Matière en décomposition et en fermentation

### I.3 Taxonomie

Selon Bergey's manual of Systems Bacteriology, les actinomycètes appartiennent aux Actinobacteriaceae et sont divisés en 4 Familles : Streptomycetaceae, Actinomycetaceae, Actinomycetes et Mycobacteriaceae (**Anandan et al., 2016**). Le Phylum Actinobacteria est divisé en 6 Classes : Actinobacteria, Acidimicrobiia, Coriobacteriia, Nitrospirae, Rubrobacteria et Thermoleophilia (**Lawson, 2018**). La Classe Actinobacteria est subdivisée en 16 Ordres : Actinomycetales, Actinopolysporales, Bifidobacteriales, Catenulisporales, Corynebacteriales, Frankiales, Glycomycetales, Jiangellales, Kineosporiales, Micrococcales, Micromonosporales, Propionibacteriales, Pseudonocardiales, Streptomycetales, Streptosporangiales et Incertae sedis. Dans le sol, les genres d'Actinobacteria les plus fréquemment rencontrés sont les Streptomyces (près de 70%), Nocardia et Micromonospora ; même si Actinoplanes et Streptosporangium sont également rencontrés (**Anandan et al., 2016**).

## I.4 Importance des actinobactéries

Les actinomycètes sont importants en raison de leur capacité à produire de grandes quantités de métabolites primaires ainsi que d'autres métabolites secondaires biologiquement actifs, cela les rend avantageux pour une variété de champs d'utilisation (**Boudjelal, 2012**).

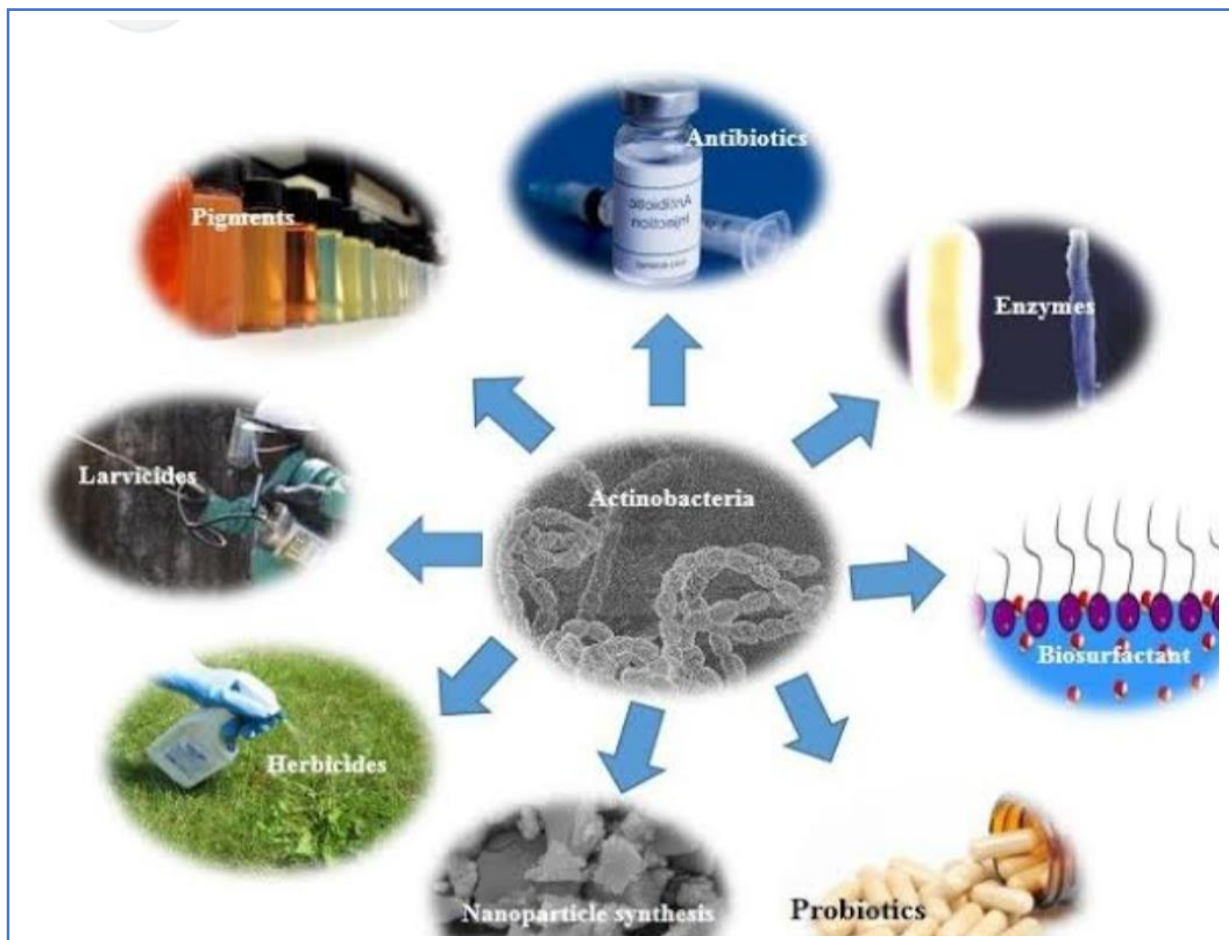
A l'échelle industrielle, il existe un réel besoin d'enzymes d'origine microbienne pour améliorer certains procédés de fabrication, ainsi certains actinomycètes peuvent être utilisés pour produire une variété d'enzymes telles que les protéases, les amylases, les xylanases, les cellulases, les lipases et les DNases produit des enzymes hydrolytiques. Les domaines d'application de ces enzymes sont très divers comme : l'industrie textile (décoloration des jeans), industrie papetière (procédé de blanchiment de la pâte), détachage (attaque au phénol) (**Boudjelal, 2012**).

Les actinomycètes produisent d'autres métabolites secondaires importants tels que les agents antitumoraux (**Busaboua, 2005**).

Dans l'industrie alimentaire pour leurs divers avantages, les enzymes produites par ces bactéries sont couramment utilisées dans la production d'aliments fermentés et comme compléments alimentaires dans l'alimentation animale (**Boudjelal, 2012**). Des exemples de bifidobactéries apparaissent comme probiotiques dans diverses formes commerciales de yaourt aux bifidobactéries (**Busaboua, 2005**).

Les actinomycètes produisent la plupart des antibiotiques naturels. Bien que de nombreux antibiotiques soient effectivement toxiques pour l'homme, les animaux et certaines plantes, plus de 50 antibiotiques différents ont été découverts chez *Streptomyces*, dont la streptomycine (**Sibanda et al., 2010**).

Dans le domaine agricole, les actinomycètes jouent un rôle important dans le recyclage de la matière organique car ils peuvent décomposer des substances très complexes tels que les polymères, les polysaccharides, la lignocellulose, la chitine... (**Lechevalier, 1981**).



**Figure 1** : Applications biotechnologiques des actinobactéries (Anandan, 2016)

## II. Généralités sur les pesticides

### II.1 Définition

Toute substance ou mélanges de substances utilisés pour éloigner, détruire ou diminuer tout êtres vivants nuisibles pour l'agriculture, est communément nommée les pesticides, et peuvent être destinés contre les populations d'insectes ou des rongeurs, de mauvaises herbes ou de microorganismes, ou toutes autres formes de vies considérées nuisibles pour l'agriculture. Selon leur composition on peut trouver des pesticides organochlorés ou organophosphorés, les premiers sont plus stables chimiquement, et peuvent persister plusieurs années dans l'environnement, par contre les deuxièmes sont moins stables et se dégradent assez rapidement par des processus naturels (Asmaâ, 2017).

Les pesticides peuvent être regroupés selon les usages auxquels ils sont destinés : cultures végétales, entretiens d'espaces verts, plantes ornementales, voiries ; traitement de bois

et élevage...etc. Selon leur structure moléculaire et leurs propriétés ; ils appartiennent à différentes familles chimiques (**Isabelle et al.,2013**).

## II.2 Composition des pesticides

Un pesticide est un mélange de substances actives et des matières additives. Le processus de formulation des pesticides implique de sélectionner et de combiner avec soin des ingrédients actifs avec d'autres produits à la fois efficaces et sûres à utiliser. Fournier et *al.* (2002) affirment que la formulation des pesticides est un processus complexe et hautement réglementé qui nécessite des tests approfondis pour garantir à la fois l'efficacité et la sécurité.

Le produit commercial est donc un mélange de plusieurs composants , il contient la substance active associée à divers formulant (**Fournier et al., 2002**) :

- Les diluants (solvants, charges).
- Les additifs (matière colorante ou odorante).
- Les adjuvants (produits destinés à améliorer la performance de la substance active).

## II.3 Formulation des pesticides

Les pesticides sont disponibles sous différentes formulations. Ils peuvent se présenter sous forme solide, liquide. Les formulations solides comprennent la poussière, les pastilles, les granulés solubles, les poudres solubles, les appâts, les comprimés, les pâtes granulaires et les poudres absorbantes (**Devaut, 2007**).

Les formulations liquides comprennent les suspensions (concentrés de suspension), les solutions, les microcapsules et les aérosols. Elles sont utilisées dans la phase post-germination, à un stade généralement déterminé par le nombre de feuilles de la plante. La pulvérisation aérienne, toujours pratiquée en forêt, utilise des pesticides liquides ou microencapsulés (**Devaut, 2007**).

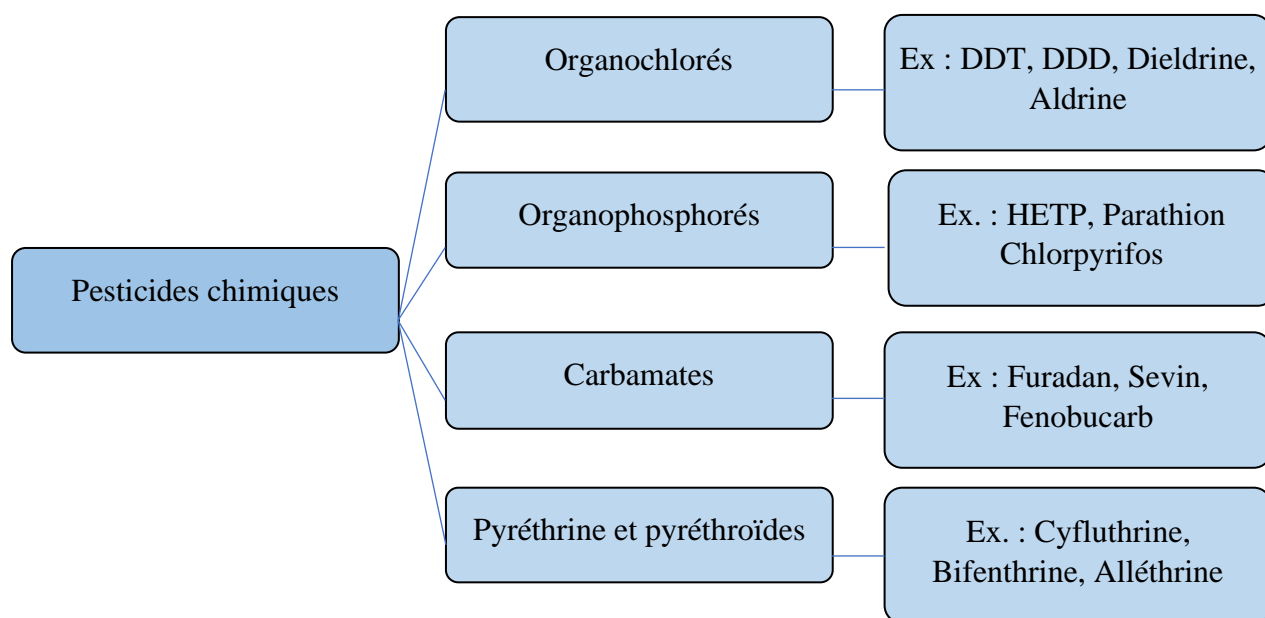
## II.4 Classification et mode d'action des pesticides

On trouve plusieurs classifications des pesticides : classification chimique, classification biologique et classification selon le mode d'action. Le premier système de classification repose sur le type de parasites. Il divise les pesticides en trois grandes familles chimiques : insecticide, herbicide, fongicide (**Calvet et al., 2005**).



- **Les insecticides** : Sont employés pour préserver les plantes contre la nuisance des insectes, ils interviennent par différents modes d'action (**Louchahi, 2015**). Ils agissent par contact, inhalation ou ingestion de molécules par les insectes ou en éliminant ou en empêchant la reproduction des insectes de diverses manières.
- **Les herbicides** : Sont destinés à éliminer les mauvaises herbes en concurrence avec les plantes à protéger en freinant leur croissance. Les herbicides possèdent divers modes d'actions sur les plantes : Les perturbateurs de la photosynthèse, les inhibiteurs du synthèse des lipides, les inhibiteurs du synthèse d'acides aminés, les inhibiteurs du synthèse de cellulose (**Louchahi, 2015**).
- **Les fongicides** : Ces molécules ciblent différents types de champignons pour protéger les plantes, les cultures et même les semences. Les fongicides peuvent agir par différents modes d'action sur les plantes, on trouve : les inhibiteurs de la division cellulaire, les perturbateurs du métabolisme, les inhibiteurs respiratoires, les perturbateurs de la biosynthèse des acides aminés ou des protéines (**Louchahi, 2015**).

Le deuxième système de classification il s'agit d'une classification technique basée sur la principale molécule utilisée (**El Mrabet, 2008**). Avec cette classification quatre groupes principaux peuvent être identifiés, ces principaux groupes sont présentés sur la figure 2 (**Alvarez et al., 2017**).



**Figure 2:** Classification des pesticides chimiques. DDT: Duchloro-Diphenyl-Trichloroethane; DDD: Dichloro-Diphenyl-Dichloroethane; HETP: Hexa-Ethyl-Tetra-Phosphate (**Alvarez et al., 2017**)

## **II.5 Domaines d'utilisation des pesticides**

Les pesticides sont utilisés non seulement dans l'agriculture, mais aussi dans de nombreuses activités non agricoles.

En agriculture, les pesticides sont utilisés pour rendre l'agriculture plus rentable. Ces produits chimiques ont également la capacité de limiter les pertes de récolte dues aux maladies fongiques, aux insectes et même à la détérioration pendant le stockage (**Calvet et al., 2005**).

Les pesticides sont également utilisés en santé publique. ils peuvent être utilisés pour combattre certaines épidémies humaines transmises par des vecteurs, comme le paludisme transmis par les moustiques anophèles, ou encore protéger contre la trypanosomiase et la maladie du sommeil (mouche-tis-tis). Les pesticides sont également utilisés comme moyen de protection des matériaux et des organismes, ils ont également d'autres utilisations dans les applications aquatiques pour lutter contre les types de poison nocifs et plantes aquatiques (**UITA, 2004**).

## **II.6 Pollution par les pesticides**

L'utilisation des pesticides engendre la pollution de l'environnement qui peut être néfaste pour l'homme et les êtres vivants (**Groupe de Travail OMS et PNUE, 1991**).

L'air peut facilement être contaminé lors des opérations de pulvérisation. La volatilisation est l'une des causes principales de fuites des pesticides hors de la zone cible (**Hayo M. G. Vandre Werf, 1997**), cela montre que des pesticides même relativement peu volatils, comme le Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) s'évaporent très rapidement, particulièrement sous les climats chauds.

Le sol peut être contaminer par les pesticides épandus pour détruire les insectes ou divers agents pathogènes. Des études ont montré que les pesticides pulvérisés sur les cultures utilisés comme herbicides manquent leur cible à une proportion de 50% et tombent sur le sol ; certains d'entre eux peuvent y persister pendant plusieurs années (**Groupe de Travail OMS et PNUE.,1995**). L'eau peut être contaminée par différentes manières :

- Par les pesticides pulvérisés ou épandus sur le sol.
- Par les herbicides utilisés pour la destruction des mauvaises herbes aquatiques (dans les zones tropicales).

- Par déversement accidentel des pesticides.
- Par le rejet dans des cours d'eau, des mares ou des lacs de l'eau ayant servi à laver du matériel de pulvérisation.

## **II.7 La résistance des actinobactéries aux pesticides**

Les pesticides sont utilisés partout dans le monde, dans une mesure qui dépend de divers facteurs, la résistance aux pesticides est l'un des principaux problèmes qu'a fait surgir l'utilisation intensive et prolongée de ces produits (OMS, 1986). Afin de remédier au problème de la pollution par les pesticides, la bioremédiation a suscité une attention particulière pour la dégradation des différents polluants de l'environnement; et sa technologie utilise des plantes et des micro-organismes (bactéries, champignons) pour dégrader les produits chimiques toxiques en composants moins toxiques ou non toxiques (Dar, KaushiK, et villareal chin, 2019). Parmi ces micro-organismes, les actinobactéries qui présentent une forte distribution dans les écosystèmes, ils ont un potentiel biotechnologique dans l'environnement qui 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 des écosystèmes pollués par les pesticides (Tableau 2) (Balgurunathan, 2018).

**Tableau 2** : Exemples de quelques genres d'actinobactéries dégradant les pesticides (Alvarez et al., 2017).

Souches d'actinobactéries	Pesticides	Référence
<i>Arthrobacter</i> sp. Strain AK-YN10	S-triazine (atrazine)	Sagarkar et al. (2016)
<i>Arthrobacter fluorescens</i> (DSM 3680) et <i>Arthrobacter giacomelloi</i> (DSM 3681)	Organochlorines ( $\alpha$ , $\beta$ , $\Sigma$ -hexachlorocyclohexane)	De Paolis et al. (2013)
<i>Arthrobacter</i> sp.	Organochlorine ( $\alpha$ , $\beta$ -endosulfan)	Kumar et al. (2008)
<i>Arthrobacter</i> sp. BS1, BS2 et SED1	Urea (diuron)	Dever-lamarani al. (2014)
<i>Rhodococcus</i> sp. BCH2	S-triazine (atrazine)	Kolekar et al. (2013)
<i>Rhodococcus</i> sp. MB-P1	S-triazine (atrazine)	Fazlurrahman et al. (2009)
<i>Rhodococcus</i> sp. MTCC 6716	Organochlorine (technical endosulfan)	Verma et al. (2006, 2011)
<i>Streptomyces aureus</i> HP-S-01	Pyrethroid (deltamethrin)	Chen et al. (2011)
<i>Streptomyces</i> sp. M7	Organochlorine (lindane)	Benimeli et al. (2006) Benimeli et al. (2008)
<i>Streptomyces</i> sp. A2, A5, et A11	Organochlorine (lindane)	Fuentes et al. (2011)
<i>Streptomyces</i> sp. AC1-6 et ISP4	Organophosphoru (diazinon)	Briceno et al. (2013)
<i>Janibacter</i> sp. AS23	Pentachlorophenol	Khessairi et al., (2014)
<i>Frankia alni</i> ACN14a et <i>Frankia</i> sp. Eullc	S-triazine (atrazine)	Rehan et al., (2014)
<i>Gordonia</i> sp. JAAS1	Organophosphorus (chlorpyrifos)	Abraham et al., (2013)

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire de recherche de Microbiologie Appliquée (LMA) de l'Université A. Mira de Béjaia, durant la période allant de 20/03/2023 au 31/05/2023.

## I. Matériel

### I.1 Matériel analytique

Le matériel utilisé dans cette étude est résumé en annexe I.

### I.2 Matériel biologique

#### I.2.1 Micro-organismes étudiés

Les souches d'actinobactéries notées MK1 résistante à l'**acétamipride** et MK2 résistante au **Gallant Super** caractérisées dans cette étude appartiennent à la collection du Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) de l'Université A. Mira de Béjaia.

Les deux souches ont été isolées à partir de deux échantillons prélevés d'un site agricole situé à Kaous de la wilaya de Jijel. La souche MK1 est isolée à partir d'un oued et la souche MK2 au niveau d'un puit d'arrosage (Figure 3).



**Figure 3** : Site d'échantillonnage

## II. Méthodes

### II.1 Étude des caractères morphologiques des souches

#### II.1.1 Étude macro-morphologique

Cette étude consiste à déterminer la couleur du mycélium aérien (MA) et du substrat (MS) ainsi que les pigments solubles produits sur différents milieux de culture préconisés par « International Streptomyces Project » ISP (**Shirling et Gottlieb, 1966**) (ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, ISP5, ISP7). La lecture est faite après 3, 7, 14 et 21 jours d'incubation à 28°C. La composition de ces milieux est donnée en annexe II.

#### II.1.2 Étude micro-morphologique

L'étude micro-morphologique est essentielle pour la reconnaissance des genres, les isolats poussant sur les différents milieux cités précédemment ont été observés à l'aide d'un microscope optique aux grossissements (x4) et (x10). Ces observations sont effectuées directement sur les boîtes Pétri et cela après 14 jours d'incubation à 28°C. Cette étude consiste à voir la sporulation caractéristique des souches ainsi que la forme et la tailles des spores et la fragmentation du mycélium aérien (**Williams et al., 1989**).

### III. Étude de la résistance des souches aux pesticides

Le teste de résistance aux pesticides des deux isolats étudiés est mis en évidence sur le milieu minimum en suivant la croissance de la souche MK1 à différentes concentrations de l'acétamipride (100mg/L-70g/L), et celle de la souche MK2 en présence de gallant super (5 ml/L-30ml/L) (annexe III). L'acétamipride (sous forme solide) est ajoutés au milieu minimum après stérilisation par autoclave et le gallant super (sous forme liquide) est ajouté au milieu après filtration sur membrane de type millipore (de 0,22 µm de porosité). Les boites ainsi préparées sontensemencées par des stries, puis incubées à 28 °C pendant 10 jours.

## IV. Etude des caractères physiologiques des souches

### ➤ Hydrolyse de l'amidon

L'ensemencement est réalisé sur milieu Gauss (annexe II) contenant 2% d'amidon soluble à pH 7. Les boîtes sont incubées à 28°C pendant 7-10 jours. L'hydrolyse de l'amidon est réalisée en remplissant la boîte avec la solution de Lugol (0,1 ou 4 %) (**Fossi et al., 2005**).

L'absence de la coloration autour des colonies est le résultat de l'hydrolyse de l'amidon. Les zones contenant de l'amidon se colorent en brun par la solution d'iode pendant 1min jusqu'à ce que tout le milieu devienne coloré en bleu. La formation d'une zone jaune claire autour des colonies en milieu bleu indique l'hydrolyse de l'amidon et confirme la production d' $\alpha$ -amylase (**By-products et al., 2012**).

### ➤ Hydrolyse de la caséine protéase (des protéines)

100 g de poudre de lait écrémé (Difco) en suspension dans 1000 ml d'eau distillée et 20 g d'agar en suspension dans 1000 ml d'eau distillée ont été autoclavés séparément et refroidis à 45°C. La suspension de lait et d'agar a ensuite été mélangée et versée sur la boîte. Chaque culture a été striée une fois sur une boîte et incubée à 28°C (voir l'annexe II), après 7 et 14 jours, les cultures sont inspectées pour l'élimination de la caséine sous et autour des cultures (**Gordon et al., 2015**).

L'ensemencement de la souche à tester s'est fait par spot (ou stries) et l'incubation a été effectuée à  $28 \pm 2$  °C pendant 7-10 jours, l'apparition d'une auréole claire autour des colonies indique la dégradation de la caséine (**Viswanathan et al., 2015**).

### ➤ Recherche de l'activité lipasique

La méthode de Sierra (1957) est utilisée avec quelques modifications pour détecter l'activité lipolytique. Les études d'hydrolyse du Tween 80 sont démontrées en ajoutant du Tween hydrosoluble dans l'eau au bouillon Sierra. L'ensemencement est fait par strie et les boîtes de Pétri sont incubées à 28 °C pendant 7 jours (**Lim et al., 2014**).

L'activité lipolytique est mise en évidence par l'apparition d'halo d'opacification autour de la culture qui se traduit par une production d'acides gras, par hydrolyse du Tween 80, qui

ont réagi avec le chlorure de calcium pour donner des sels calciques insolubles. La composition de milieu nutritif de sierra (voir l'annexe II) (**Lim et al., 2014**).

L'activité estérasique est effectuée sur gélose au Tween 20 décrit par **Sierra 1957** (voir l'annexe II), le Tween 20 est ajouté pour révéler l'activité estérasique. Le pH a été ajusté à 7,4 après 5 à 14 jours d'incubation à 28°C. La présence d'une activité sera indiquée par l'apparition des cristaux autour des colonies.

#### ➤ **Dégradation de la cellulose**

La recherche de l'activité cellulolique a été réalisée sur un milieu carboxy méthyl cellulose (CMC). Après 7 jours d'incubation à 28°C une solution de rouge de Congo à 1 % préalablement préparée a été dispersée sur toute la surface du milieu. Après cinq minutes de contact, l'excès a été éliminé et les boîtes sont rincées avec de la NaCl. L'apparition d'un halo jaunâtre indique la production d'enzyme (cellulase), La composition de deux solution (voir l'annexe II) (**Saini et al., 2016**).

#### ➤ **Production de la tyrosinase**

Ce test est réalisé sur la gélose à la tyrosine (voir l'annexeII). Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri puisensemencé par des spots de la souche à tester.

L'apparition de colonies pigmentées brunes qui graduellement change de couleur en noir (formation de mélanine) est une indication d'organismes positifs à la tyrosinase.

La vérification s'est faite après deux jours et s'est poursuivie jusqu'aux 21 jours d'incubation (**Raval et al., 2012**).

#### ➤ **Production de lécithinase**

Pour évaluer l'activité de la lécithinase, le milieu a été préparé par l'ajout de l'émulsion de jaune d'œuf à 5% (v/v) au LB (Luria Bertani). Chaque souche a été inoculée et incubée à 28°C. la production de lécithinase est indiquée par des zones claires opaques autour des colonies.

Après 5 à 14 jours d'incubation, les colonies libérant de la lécithinase sont reconnues par la formation de zones de précipitation d'acides gras insolubles dans l'eau à partir de la lécithine hydrolysée qui les entoure (**Guttmann & Ellar, 2000**).



➤ **L'activité uréasique**

Cette activité est réalisée sur le milieu liquide **FERGUSON** (milieu urée indole), (annexe II) dans des tubes. Trois tubes pour chaque souche richement ensemencée par une souche sporulée à tester puis incubés à 28°C pendant 24h, la lecture est poursuivie jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour jusqu'au virage de la couleur au rouge violée (**Filimon et al., 2015**).

L'activité uréasique est traduite (**Brink, 2016**) par le virage de l'indicateur coloré en comparaison avec un témoin négatif (milieu non ensemencé) et incubé dans les mêmes conditions.

➤ **Activité nitrate réductase**

L'ensemencement se fait dans le bouillon nitrate (annexe II).

Des tubes contenant 5ml de bouillon nitrate ont servis pour l'ensemencement des souches, après 5 à 7 jours d'incubation à 28°C, 2 gouttes de réactif de griess (NRI et NRII) sont ajoutées successivement dans chaque tube. L'apparition d'un virage rouge témoigne la réduction des nitrates en nitrite (**Baki et al., 2000**).

Pour le résultat négatif, quelques milligrammes de poudre de zinc ont été additionnés aux tubes afin de confirmer le test négatif. Ce dernier met en évidence la présence de nitrates dans le milieu ce qui indique l'absence de l'enzyme (**Buxton, 2016**).

- Si le milieu reste sans couleur après l'ajout de zinc le test est positif.
- Si le milieu devient rose (ou halo-rouge) après l'ajout du zinc, le résultat est négatif.

➤ **Activité Lignine Peroxydase (LiP)**

Le milieu Luria Bertani (LB) contenant du l'azure B (annexe II) a été utilisé pour le dépistage des souches d'actinobactéries capables de produire des enzymes lignolytiques

L'activité Lignine Peroxydase a été testée sur un milieu gélose qui permet l'apparition d'un halo clair autour des colonies indiquant ainsi la dégradation de lignine peroxydase.

### ➤ **Activité Laccasique**

Les laccases sont des enzymes multicoppers bleues qui oxydent un large éventail de substrats phénoliques et non phénoliques, via une réduction de quatre électrons d'oxygène moléculaire dans l'eau (Arora et al., 2000).

L'activité laccase a été testée sur milieu gélose contenant l'ABTS ou guaicol comme substrat 0,01% (w/v).

## **V. Résistance des souches aux métaux lourds**

La résistance des souche étudiées au métaux lourds est mise en évidence en utilisant le milieu ISP1 (le meilleur milieu de croissance des souches MK1 et MK2). Différents métaux lourds sont testés : le cadmium ( $\text{Cd}_3\text{N}_2\text{O}_6$ ) ; le chrome ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) ; le cuivre ( $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ ) ; le fer ( $\text{FeN}_3\text{O}_9, 7\text{H}_2\text{O}$ ) ; le zinc ( $\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ ), le plomb ( $\text{PbN}_2\text{O}_6$ ) et l'argent ( $\text{AgSO}_4$ ) à raison de 100mg par 170ml, suivi par un ensemencement par stries et incubation à 28°C pendant 14 jours.

## I. Caractères morphologiques des souches isolées

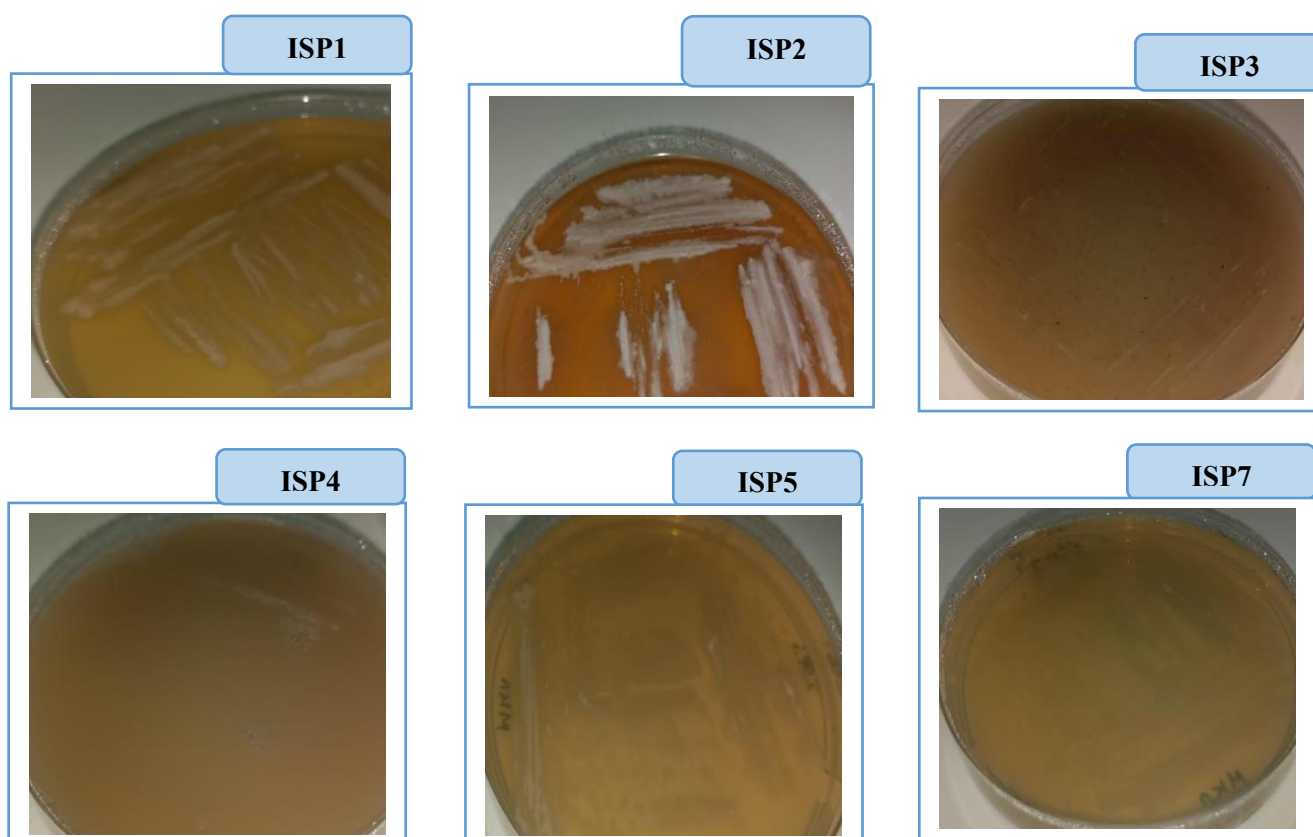
Pour identifier les souches étudiées, des observations morphologiques ont été réalisées comprenant la forme, la couleur, l'aspect du mycélium aérien (MA) et du substrat (MS) et la production de pigments (Ranjani *et al.*, 2016).

### I.1 Caractères macromorphologiques

Les propriétés culturales des deux isolats MK1 (la souche résistante à l'Acétamipride) et MK2 (la souche résistante au Gallant super) cultivées sur différents milieux ISP (International Streptomyces Project) sont reportées après 14 jours d'incubation à 28°C.

#### ➤ La souche MK1

Les colonies d'isolat MK1 cultivées sur divers milieux sont de forme circulaire. Les résultats sont présentés sur la figure 4 et rassemblés dans le tableau 3. La souche présente une bonne croissance sur les milieux ISP1, ISP2, ISP3 et une très faible croissance sur ISP7, sur ISP4 et ISP5 la croissance est nulle.



**Figure 4** : Caractéristiques morphologiques et culturales sur les milieux ISP de l'isolat MK1 après 14 jours d'incubation

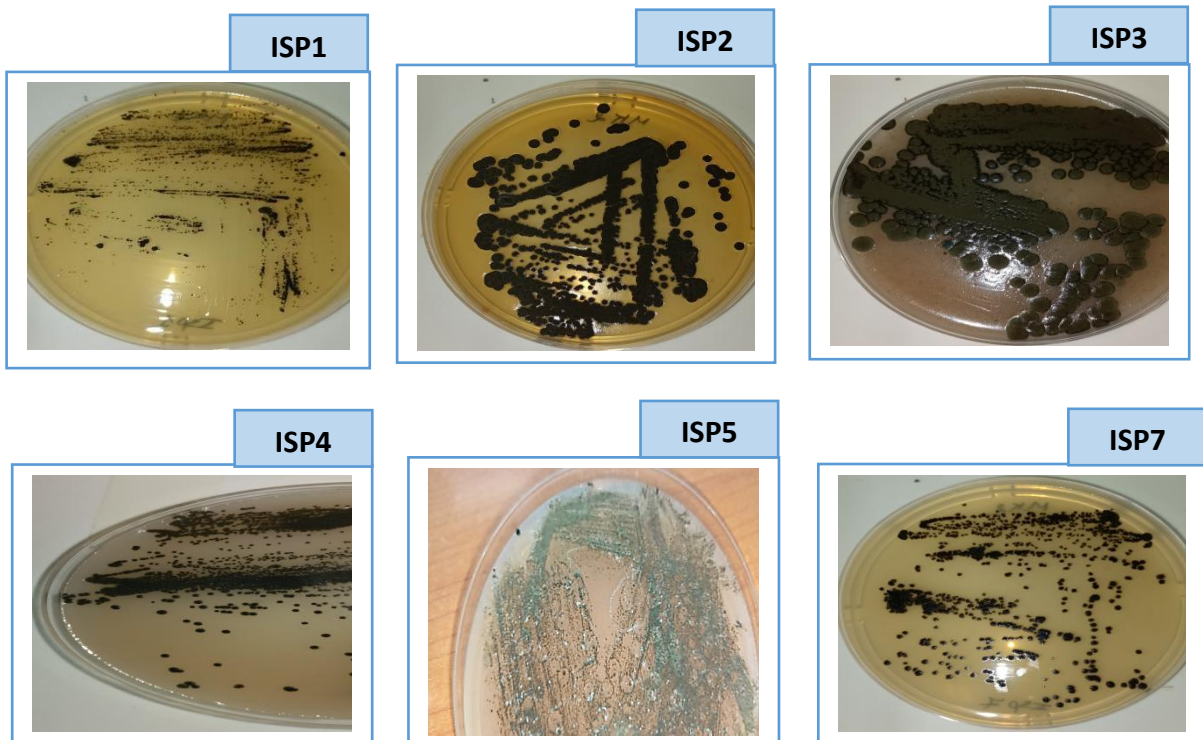
**Tableau 3** : Caractères cultureux d'isolat MK1 après 14 jours d'incubation.

Souches	Milieux de culture	Caractères cultureux			Croissance Après 14 jours
		Couleur et aspect Du mycelium aérien	Mycélium Du substrat	Pigments solubles	
MK1	ISP 1	Blanc cassé ; colonies de duvet	Jaune clair	Absence	+++
	ISP 2	Beige ; colonies de duvet	Orange	Absence	+++
	ISP 3	Noir ; légèrement bombé	Marron foncé	Absence	++
	ISP 4	/	/	/	-
	ISP 5	/	/	/	-
	ISP 7	/	Beige	Absence	±

**Note** : Croissance ou sporulation : +++ : bonne ; ++ : moyenne ; + : faible.

**La souche MK2**

Les colonies d'isolat MK2 sont des formes circulaires et légèrement bombés (figure 5), la souche présente une bonne croissance sur les milieux ISP2 et ISP3, sur les milieux ISP4 et ISP5, la croissance de la souche est moyenne, par contre un développement relativement faible est constaté sur les milieux ISP1 et ISP 7 (tableau 4).



**Figure 5** : Caractéristiques morphologiques et culturelles sur les milieux ISP de l'isolat MK2 après 14 jours

**Tableau 4** : Caractères cultureux d'isolat MK2 après 14 jours d'incubation.

Souches	Milieux de Culture	Caractères cultureux			Croissance Après 14 jours
		Couleur et aspect du mycélium aérien	Mycélium du substrat	Pigments Solubles	
MK2	ISP 1	Noir ; colonies de petite taille et rugueux	Noir	Absence	+
	ISP 2	Noir ; rugueux et bien incruste dans la gélose ; colonies rondes	Noir	Absence	+++
	ISP 3	Noir ; bombé avec un aspect duvet	Noir	Absence	+++
	ISP 4	Noir ; rugueux, colonies à contours réguliers ; bombé	Gris	Absence	++
	ISP 5	Gris foncés Petites colonies rugueuses	Noir	Absence	++
	ISP 7	Noir ; colonies à contour dentelé et rugueuses, bombé	Noir	Absence	+

**Note** : Croissance ou sporulation : +++ : bonne ; ++ : moyenne ; + : faible.

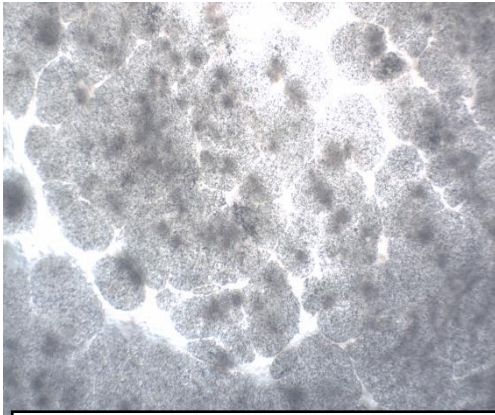
## I. 2 Caractères micromorphologiques

Les observations microscopiques réalisées sur les cultures de 14 jours de MK1 et MK2 sur milieu ISP1, ont permis de mettre en évidence la forme des filaments, de la chaîne sporale et des spores de chaque souche. L'observation microscopique des deux souches est illustrée dans les figures 6 et 7.

### ➤ La souche MK1

Le mycélium aérien de la souche MK1 se présente sous forme de filaments longs et fins avec présence d'une chaîne sporale et absence de sporange.

MK1 (GX4)



MK1 (GX10)

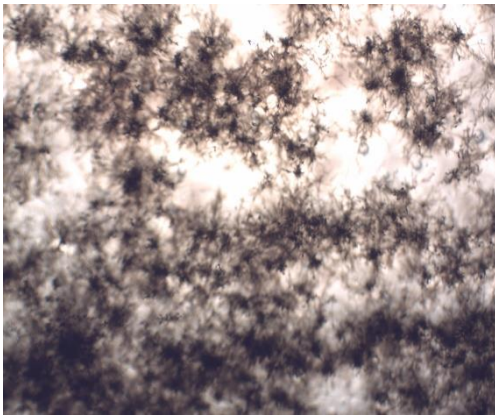


**Figure 6 :** Observation microscopique du mycélium aérien de la souche MK1 aux grossissements (Gx4) et Gx10)

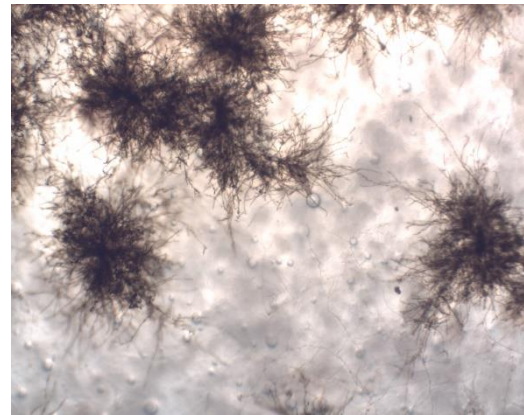
➤ **La souche MK2**

Les chaînes de spores se forment de longs filaments avec des extrémités en hélice.

MK2 (GX4)



MK2 (GX10)

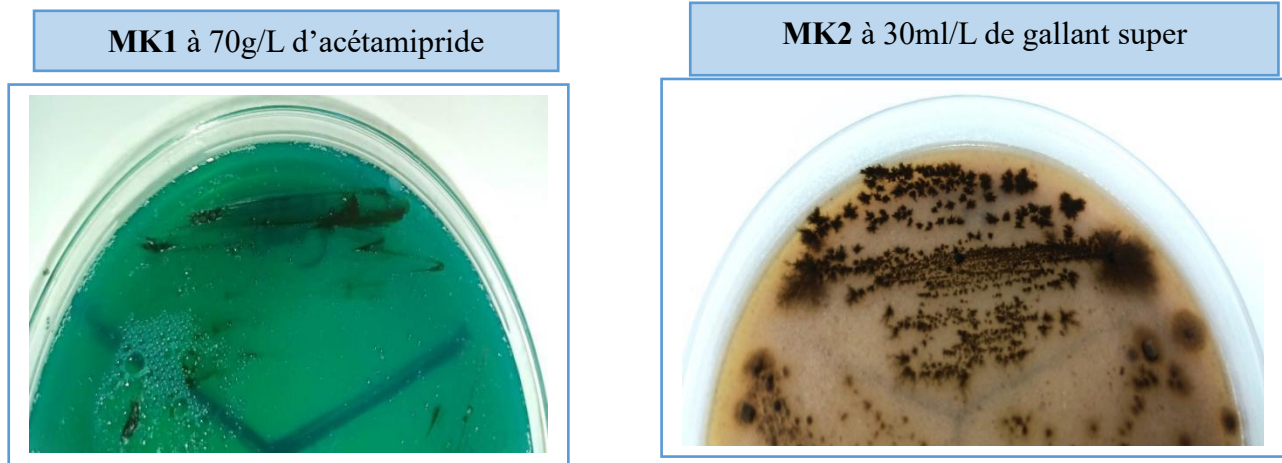


**Figure 7 :** Observation microscopique du mycélium aérien de la souche MK2 aux grossissements (Gx4) et (Gx10)

## II. Étude de la résistance des souches aux pesticides

La capacité de croissance des deux isolats d'actinobactéries étudiés a été mise en évidence sur le milieu minimum, additionné de différentes concentrations de l'acétamipride pour la souche MK1 et de gallant super pour la souche MK2.

La figure 8 montre que les deux souches résistent à des concentrations très importantes des deux pesticides, tel que, la souche MK1 résiste jusqu'à 70 g/L d'acétamipride, et la MK2 résiste de 30 ml/L de gallant super. Ce résultat indique que ces deux souches sont très performantes.

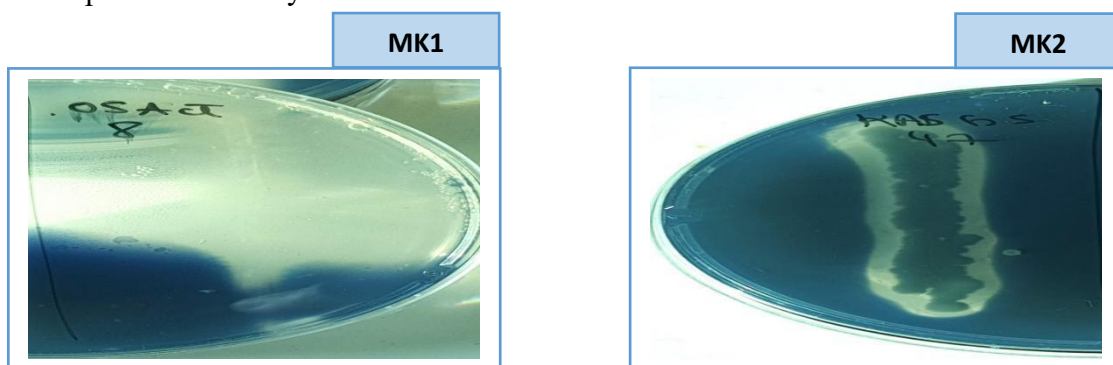


**Figure 8 :** Test de résistance des souches MK1 et MK2 aux deux pesticides étudiés

### III. Activités enzymatiques

#### ➤ Résultats de l'hydrolyse de l'amidon

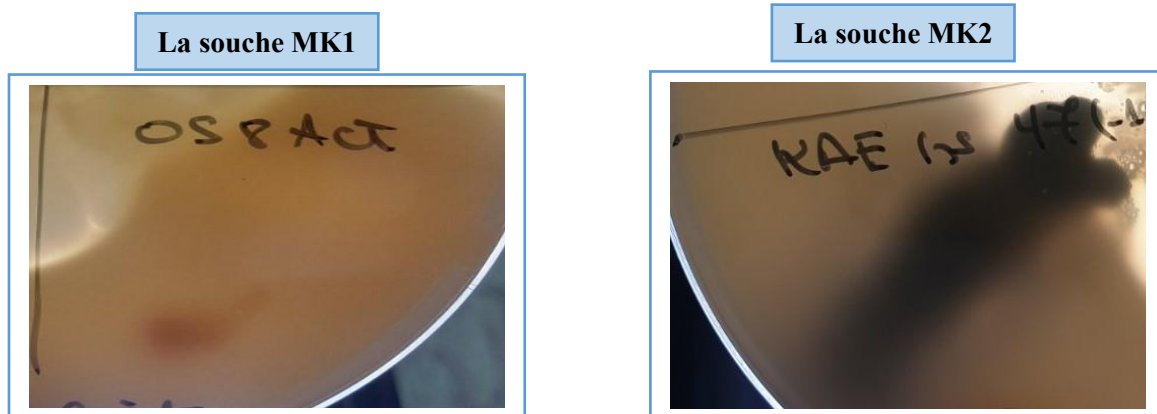
A partir des résultats du tableau 5 et la figure 9, il a été constaté que les deux souches présentent une activité amylolytique. Ce résultat est visualisé par l'apparition d'un halo clair autour des colonies indiquant ainsi la dégradation de l'amidon ce qui implique que les isolats étudiés produisent l'amylase.



**Figure 9 :** Hydrolyse d'amidon par les deux souches MK1 et MK2

➤ **Résultats de l'hydrolyse des protéines (caséines)**

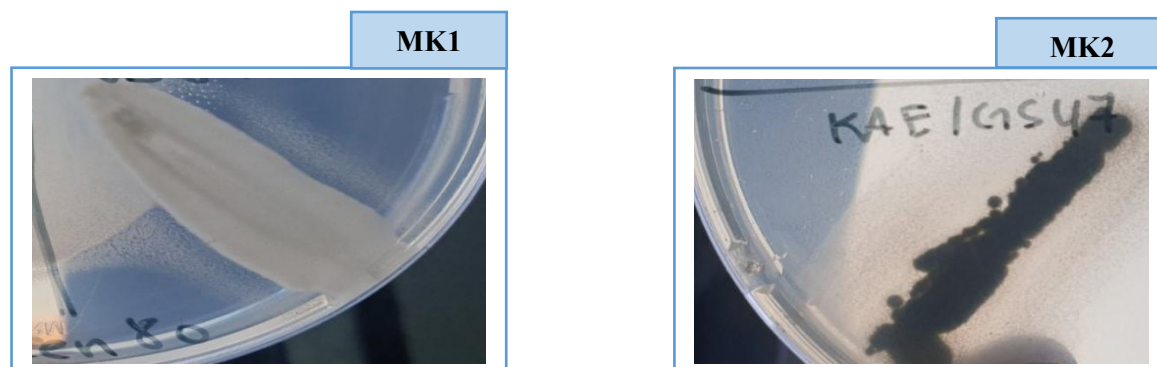
Le résultat de ce test apparaît après une culture de 10 jours sur un milieu à base de lait écrémé. L'apparition d'une zone claire autour des colonies de la souche MK2 indique la dégradation de la caséine par cette dernière. L'absence de l'hydrolyse de la caséine est par contre observée pour la souche MK1 (figure 10).



**Figure 10** : L'apparition d'une zone claire autour des colonies de la souche indique la dégradation de la caséine. L'absence de l'hydrolyse de la caséine observée pour les souches MK1 et MK2.

➤ **Recherche de l'activité lipasique**

Pour l'activité lipasique, qui se traduit par l'apparition d'une zone opaque autour des colonies comme le montre la figure 11, est une indication que les deux souches sont capables de dégrader les lipides.

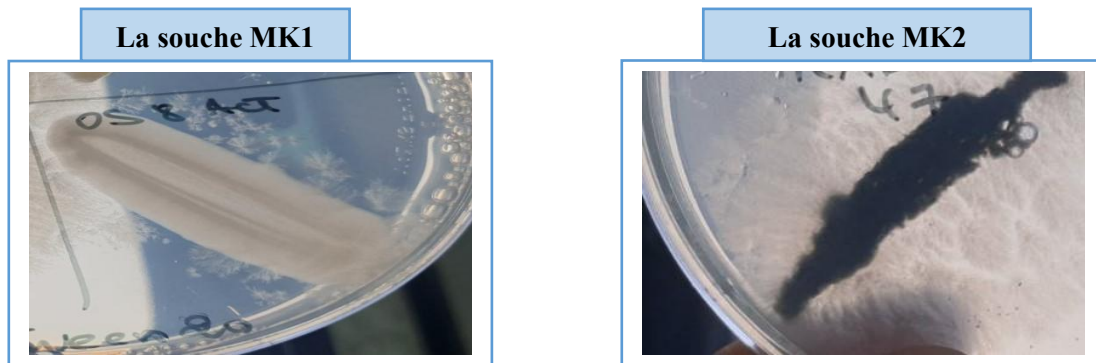


**Figure 11** : Hydrolyse des lipides par les deux souches MK1 et MK2



➤ **L'activité estérasique**

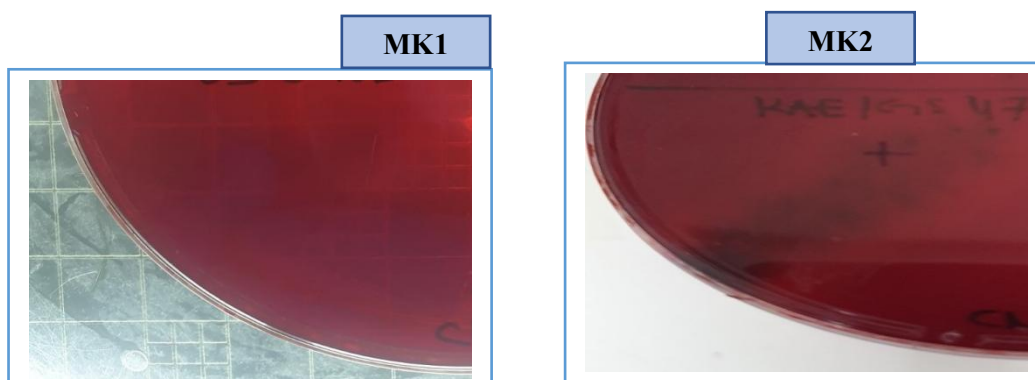
La dégradation de Tween 20 est traduite par l'apparition d'un halo opaque autour des colonies des deux souches, ce qui indique la présence des estérases (figure 12).



**Figure 12** : La dégradation de Tween 20 est traduite par l'apparition d'un halo opaque autour des colonies, ce qui traduit la présence des estérases.

➤ **Résultats de dégradation de la cellulose**

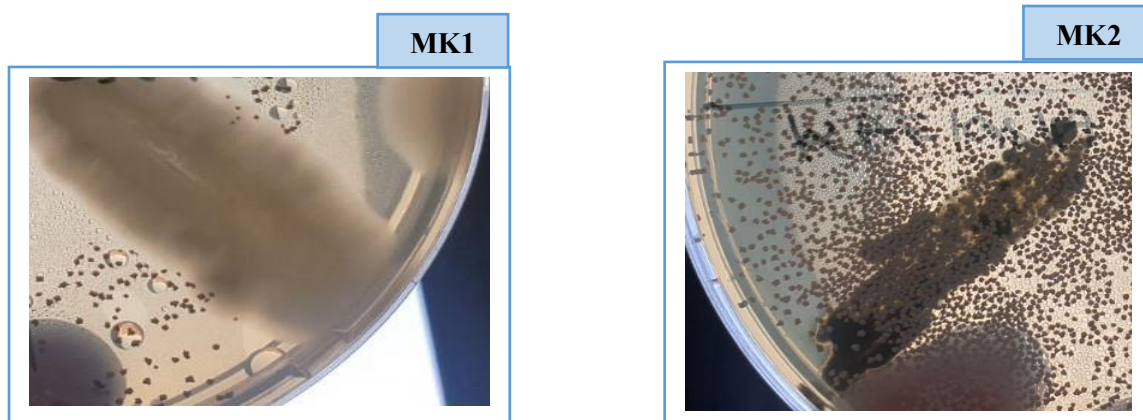
Le résultat du test de dégradation de la cellulose a montré que les deux isolats présentent une activité cellulosique sur le milieu CMC contenant la cellulose comme seule source de carbone et ceci est observé par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (figure 13) indiquant ainsi la production de cellulase par ces souches. Cette enzyme est généralement produite par les actinomycètes (Sanglier, 1993).



**Figure 13** : Hydrolyse de la cellulose par les deux souches MK1 et MK2

➤ **Production de la tyrosinase**

L'apparition de colonies pigmentées brunes qui graduellement changent de couleur en noir (formation de mélanine) est une indication d'organismes positifs à la tyrosinase. Dans notre cas le test de l'hydrolyse de la tyrosine est négatif (figure 14).

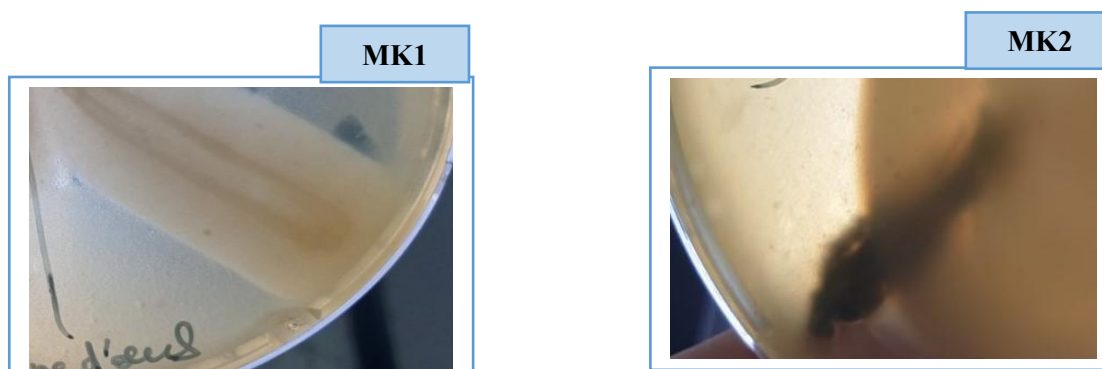


**Figure 14** : Résultat négatif d'hydrolyse de la tyrosine par les deux souches MK1 et MK2

➤ **Production de lécithinase**

La phosphatidylcholine ou simplement la lécithine est une substance largement répandue dans les tissus animaux, le jaune d'œuf et certaines plantes supérieures, consistant en phospholipides liés à la choline.

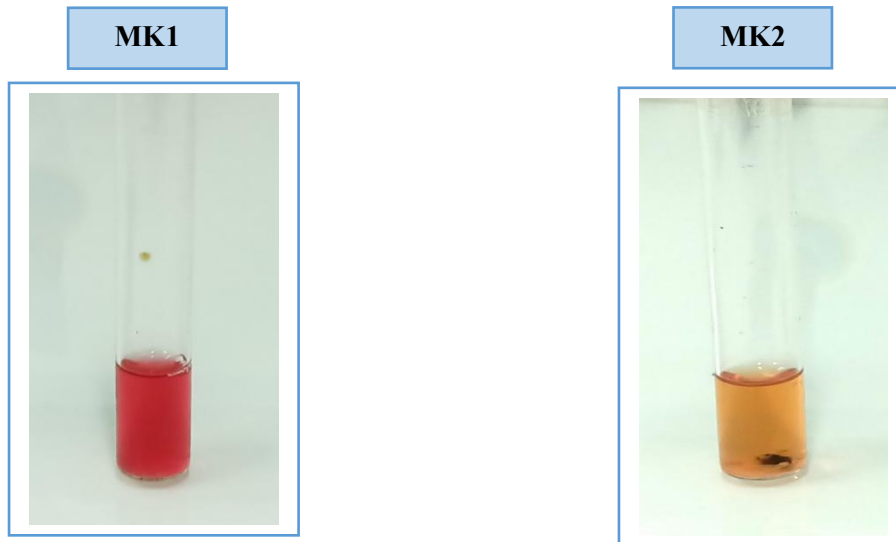
L'apparition d'une zone blanche opaque qui s'étend dans le milieu entourant les colonies de la souche MK1 est une indication de l'hydrolyse de la lécithine, contrairement à la souche MK2 où le test se révèle négatif.



**Figure 15** : Résultat positif d'hydrolyse de lécithine pour la souche MK1 et absence d'hydrolyse de lécithine pour la souche MK2

➤ **L'activité uréasique**

Le résultat positif est indiqué par la présence d'une couleur rose dans le bouillon. D'après la figure 16, les deux isolats étudiés produisent de l'uréase.



**Figure 16** : Hydrolyse de l'uréase par les deux souches MK1 et MK2

➤ **Activité nitrate réductase**

S'il y a apparition d'une coloration rouge, cela implique la présence de nitrites provenant de la réduction des nitrates : la nitrate réductase est positive au stade nitrites ce qui est le cas de la souche MK1.

Dans le cas d'absence de coloration rouge qui signifie l'absence de nitrites, la recherche de la disparition des nitrates est réalisée par addition de zinc. En effet, le zinc réduit les nitrates en nitrites.



**Figure 17** : Résultat positif d'hydrolyse de nitrate pour la souche MK1 et absence d'hydrolyse de nitrate pour la souche MK2

➤ **Dégradation de lignine peroxydase (Lip)**

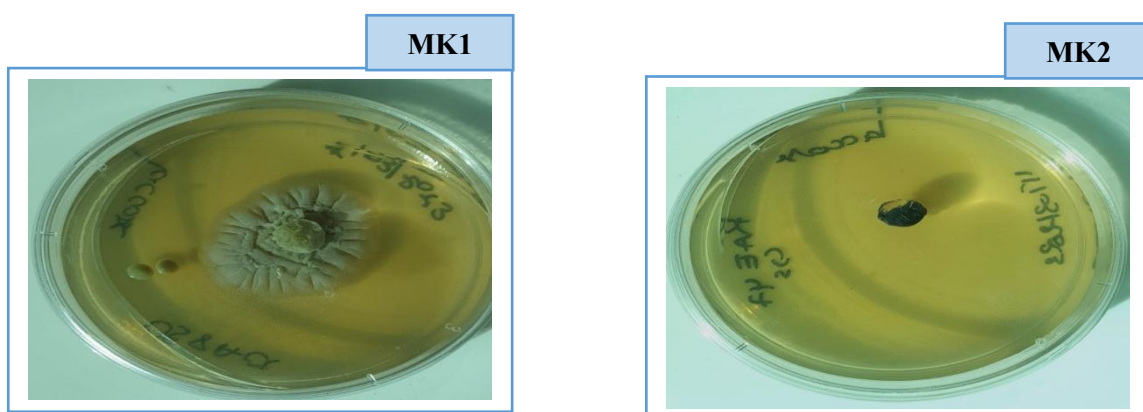
A partir du tableau 5 et la figure 18, il a été constaté que les deux souches présentent une activité. Ce résultat est visualisé par l'apparition d'un halo clair autour des colonies indiquant ainsi la dégradation de lignine peroxydase.



**Figure 18 :** Hydrolyse de lignine peroxydase par la souche MK2 et non hydrolysée par la souche MK1

➤ **Activité Laccasique**

Ce test a pour but de démontrer la capacité à produire de la laccase par les souches MK1 et MK2, les résultats obtenus montrent que l'activité laccasique observée chez les deux souches est négative.



**Figure 19 :** Absence d'hydrolyse de laccase par les souches MK2 et MK1

**Tableau 5** : Résultats de caractérisation biochimiques des isolats étudiés

Tests Biochimiques	Variables	Croissance	
		MK1	MK2
	Amidon	+++	++
	Protéases	-	+
	Lipases	++	++
	Estérases	++	+++
	Lécithines	+	-
	CMC	+	+
	Tyrosinase	-	-
	Uricase	+++	+
	Laccase	-	-
	Lignine Peroxydase	-	+
	Nitrate réductase	+	-

**Note** : Croissance ou Sporulation : +++ : bonne ; ++ : moyenne ; + : faible ; - : nulle.

## VI. Mise en évidence de la résistance aux métaux lourds

Les deux souches étudiées ont étéensemencées sur le milieu ISP1 additionné de différents métaux lourds à raison de 100 mg par 170 ml dans le but de mettre en évidence leur résistance ou sensibilité à ces derniers. Les résultats obtenus sont présentés sur le tableau 6 et illustrés sur la figure 20.

Il est clairement remarqué que les deux souches ne présentent aucune croissance en présence de Fe, Zn et Cd. Une très bonne croissance de la souche MK1 est notée sur le milieu additionné du Pb, Cu, Ag et Cr traduisant une résistance de cette dernière à ces métaux, par contre la souche MK2 ne se développe pas en présence de ces métaux lourds sauf sur le milieu additionné de Pb ou la croissance faible.

**Tableau 6** : croissance des deux souches MK1 et MK2 en présence des différents métaux lourds

Métaux lourds	La croissance	
	MK1	MK2
<b>Fer (Fe)</b>	-	-
<b>Zinc (Zn)</b>	-	-
<b>Cadmium (Cd)</b>	-	-
<b>Plomb (Pb)</b>	+++	+
<b>Cuivre (Cu)</b>	+++	-
<b>Argent (Ag)</b>	+++	-
<b>Chrome (Cr)</b>	+++	-

**Note** : Croissance ou Sporulation : +++ : bonne ; + : faible ; - : nulle.


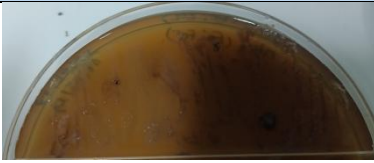






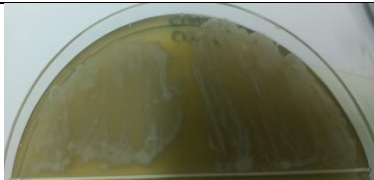
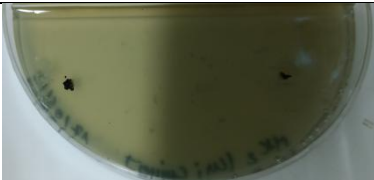

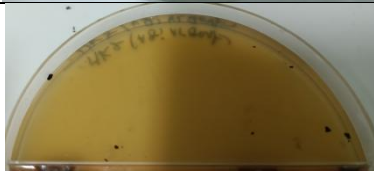
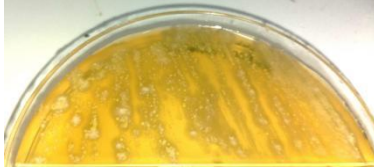

Métaux lourds	La croissance	
	MK1	MK2
Fer (Fe)		
Zinc (Zn)		
Cadmium (Cd)		
Plomb (Pb)		
Cuivre (Cu)		
Argent (Ag)		
Chrome (Cr)		

Figure 20 : Croissance des deux souches MK1 et MK2 en présence de différents métaux lourds

## Conclusion

Cette étude a pour objectif principale la caractérisation de deux souches d'actinobactéries résistantes aux pesticides nommées MK1 (résistante à l'acétamipride) et MK2 (résistante au gallant Super). Les deux souches appartiennent à la collection du laboratoire de microbiologie appliquée (LMA), elles ont été isolées à partir de deux échantillons prélevés d'un site agricole situé à Kaous de la wilaya de Jijel. La souche MK1 est isolée à partir d'un oued et la souche MK2 au niveau d'un puit d'arrosage.

Notre travail est focalisé sur les aspects phénotypiques (macromorphologiques et micromorphologiques) cultureux et physiologiques des deux souches sur différents milieux de culture.

Les résultats des tests phénotypiques (cultureux et micromorphologiques) montrent que les deux souches possèdent des traits de similitude aux *Streptomyces*, ainsi que l'aspect à croître sur les différents milieux testés et l'aspect du mycélium et des chaînes sporales, nous permet de supposer que ces souches (MK1 et MK2) appartiennent à ce genre d'actinobactéries.

Nous nous sommes aussi intéressés dans ce travail à l'étude de la résistance des deux souches d'actinobactéries à différentes concentrations des pesticides (l'acétamipride et le gallant super). Nous avons montré que les deux souches résistent à des concentrations très importantes des deux pesticides, tel que, la souche MK1 résiste jusqu'à 70 g/L et plus d'acétamipride, et la MK2 résiste à plus de 30 ml/L de gallant super. Ce résultat indique que ces deux souches sont très performantes.

D'autre part, les résultats de l'étude de la caractérisation physiologique ont montré que les deux souches ont la capacité de produire différents enzymes (amidon, cellulase, lipase, estérases, etc). Nous avons terminé notre caractérisation par la mise en évidence de la résistance uniquement la souche MK1 aux différents métaux lourds (Zn, Pb, Fr, Cr, Cd, Ag et Cu).

Il sera intéressant de compléter ce travail par :

- Etude de la résistance des souches aux pesticides en culture liquide.
- Tester la résistance des souches en présence d'autres pesticides.
- Caractérisation moléculaire de ces souches.
- Détermination et la caractérisation des mécanismes impliqués dans la résistance aux pesticides par l'utilisation des techniques de biologie moléculaire.
- Application des souches testées en bioremédiation des biotopes pollués par des pesticides.



## Références bibliographiques

### A

- **Abraham, J., Shanker, A., Silambarasan, S., (2013).** Role of *Gordonia* sp. JAAS1 in biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysing metabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. *Lett. Appl. Microbiol.* 57, 510e516.
- **Adegboye. M. F et Babalola. O. O. (2012).** Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. *African Journal of Agricultural Research.* Vol 7. N° 15. Pp : 2255 2261.
- **AndriambololonaT. (2010).** Études biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas du foret d'anaphore. Thèse de doctorat, UniversitéD'ANTANANAREVO. 5 –10p.
- **Anandan R., Dharumadurai D., Manogaran G.P. (2016).** An Introduction to Actinobacteria. In: Dhanasekaran D., Jiang Y. (eds) *Actinobacteria: Basics and Biotechnological Applications.* Intech, Rijeka, Pp. 3-37.
- **Asmaâ.A (2017).** Maitrise en microbiologie, Effet des pesticides sur la diversité bactérienne des champs agricoles et la capacité des bactéries à les dégrader.

### B

- **Baily.R. et wait.M; (1970).**Factor influencing the adsorption, desorption an movement of pesticides in soil. *Requisue Reviews* 32 ;29.92.
- **Baki, G. K. A., Siefritz, F., Man, H., Weiner, H., Kaldenhoff, R., Kaiser, W. M., Würzburg, U., Pflanzenphysiologie, M., & Würzburg, U. (2000).** Nitrate reductase in *Zea mays* L . under salinity. 515–521.
- **Benimeli, C.S., Castro, G.R., Chaile, A.P., Amoroso, M.J., (2006).** Lindane removal induction by *Streptomyces* sp. M7. *J. Basic Microbiol.* 46, 348e357
- **Benimeli, C.S., Fuentes, M.S., Abate, C.M., Amoroso, M.J.,( 2008).** Bioremediation of lindane contaminated soil by *Streptomyces* sp. M7 and its effects on *Zea mays* growth. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 61, 233e239

- **Belyagoubi L. (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. Thèse de Doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P : 14-17
- **Briceno, G., Fuentes, M.S., Rubilar, O., Jorquera, M., Tortella, G., et al., (2013).** Removal ~ of the insecticide diazinon from liquid media by free and immobilized *Streptomyces* sp
- **Brink, B. (2016).** Urease Test Protocol. November 2010, 1–7.
- **Boudjelal B. F., (2012).** Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinoalloteichus* sp. AH97. Thèse doctorat en microbiologie appliqué en Sciences Agronomiques, El-Harrach Alger. P : 12, 26, 31- 35
- **Boussaboua H., (2005).** Élément de microbiologie générale ,2ieme édition, Constantine ,179. Dépôt légal N 2991C. P: 173.
- **Buxton, R. (2016).** Nitrate and Nitrite Reduction Test Protocols. November 2011, 1–20.
- **By-products, S. U. A., Ribeiro, É., Nascimento, Z., Teles, S., & Campos, N. M. (2012).** Production of  $\alpha$  -Amylase from *Streptomyces* sp . SLBA-08. 55(October), 793–800.

## C

- **Calvet R., Barriuso E., Benoit B., Bedos C., Charnay K., et Coquet Y., (2005).** Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales, Paris : Editions France Agricoles, P : 637, 255, 25,272.
- **Chen, S., Lai, K., Li, Y., Hu, M., Zhang, Y., et al., (2011).** Biodegradation of deltamethrin and its hydrolysis product 3-phenoxybenzaldehyde by a newly isolated *Streptomyces*

## D

- **Devaut, (2007).** Approche, spatio-temporelle de la contamination par les herbicides de prélevée du biotope de la Garonne Moyenne, thèse, institue natonnalpolytechnique de Toulouse, P: 24-17

- **De Paolis, M.R., Lippi, D., Guerriero, E., Polcaro, C.M., Donati, E., (2013).** Biodegradation of a-, b-, and g-hexachlorocyclohexane by *Arthrobacter fluorescens* and *Arthrobacter giacomelloi*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 170, 514e524
- **Devers-Lamrani, M., Pesce, S., Rouard, N., 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, 208e215.
- **Djaballah C., (2010).** Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés se la sebkha de Ain M'Lila. Mémoire de Magister en Microbiologie. Université Mentouri-Constantine : 102p
- **Dos Santos E.R., Santos Teles Z.N., Campos N.M., de Souza D.A.J., da Rocha Bispo A.S and do Nascimento R.P. (2012).** Production of  $\alpha$ -Amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 Strain Using Agro-Industrial By-Products. *Braz Arch Biol Technol* 55 (5): 793-800. (0.1%)

## E

- **El Mrabet K., Charlet P., (2008).** Les pesticides. Laboratoire National de Métrologie et d'essai LNE, Janvier (2008). France

## F

- **Fazlurrahman, Batra, M., Pandey, J., Suri, C.R., Jain, R.K.,( 2009).** Isolation and characterization of an atrazine-degrading *Rhodococcus* sp. strain MB-P1 from contaminated soil. *Lett. Appl. Microbiol.* 49, 721e729
- **Fuentes, M.S., Saez, J.M., Benimeli, C.S., Amoroso, M.J., (2011).** Lindane biodegradation by defined consortia of indigenous *Streptomyces* strains. *Water Air Soil Pollut.* 222, 217e231.
- **Fournier J., Vedove A.D., et Morin C., (2002).** Formulation des produits Phytosanitaires. In pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture.
- **Filimon, M. N., Voia, S. O., Popescu, R., Dumitrescu, G., Ciochina, L. P., Mituletu, M., & Vlad, D. C. (2015).** The effect of some insecticides on soil microorganisms based on enzymatic and bacteriological analyses. *Romanian Biotechnological Letters*, 20(3), 10439–10447.

- **Fossi, B. T., Tavea, F., & Ndjouenkeu, R. (2005).** Production and partial characterization of a thermostable amylase from ascomycetes yeast strain isolated from starchy soils. 4(January), 14–18.

## G

- **Goodfellow M., et Williams S.T., (1983).** Ecology of Actinomycetes. Ann. Rev. Microbiol.37. P: 189,139-216
- **Gordon, Ruth E., et al.** "Nocardia coeliaca, Nocardia autotrophica, and the nocardin strain." International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 24.1 (1974): 54-63.
- **Guttman, D. M., & Ellar, D. J. (2000).** Phenotypic and genotypic comparisons of 23 strains from the Bacillus cereus complex for a selection of known and putative B . thuringiensis virulence factors. 188.

## H

- **Hoyo M.G. Vander werf; (1997).** Évaluer l’impact des pesticides sur l’environnement. Courier de l’environnement de l’NRA n° 31 août 1997.

## I

- **Isabelle Baldi, Sylvaine Cordier, Xavier Coumoul, Alexis Elbaz, Laurence Gamet-Payrastré, et al. Pesticides : Effets sur la santé. [Rapport de recherche] Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). (2013), Paris: Inserm: Editions EDP Sciences (ISSN: 1264-1782) / 1014 p. ffinserm-02102981**

## J

- **Jeffrey L. S., Halizah H., (2014).** Biological active compounds from actinomycetes isolated from soil of Langkawi Island, Malaysia. African Journal of Biotechnology 13(49): 4523-4528.

## K

- **Khessairi, A., Fhoula, I., Jaouani, J., Turki, Y., Cherif, A., et al., (2014).** Pentachlorophenol degradation by *Janibacter* sp., a new actinobacterium isolated from saline sediment of arid land. *Biomed. Res. Int.* 17, 1e9.
- **Kishore J. P., Manojkumar, Z. Chopdia and Raghunathan T.M., (2011).** Lipase biodiversity.
- **Kolekar, P.D., Phugare, S.S., Jadhav, J.P., (2013).** Biodegradation of atrazine by *Rhodococcus* sp. BCH2 to N-isopropylammelide with subsequent assessment of toxicity of biodegraded metabolites. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 2334e2345.
- **Kumar, M., Vidya Lakshmi, C., Khanna, S., (2008).** Biodegradation and bioremediation of endosulfan contaminated soil. *Bioresour. Technol.* 99
- **Kumar, V., Chandra, R., & Chandra, R. (2018).** Characterisation of manganese peroxidase and laccase producing bacteria capable for degradation of sucrose glutamic acid-Maillard reaction products at different nutritional and environmental conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(2), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2416-9>

## L

- **Lawson, P. A. (2018).** The phylum actinobacteria. In *The Bifidobacteria and Related Organisms*. Academic Press. 1-8
- **Lechevallier M. P., (1981).** Ecological associations involving Actinomycetes. In: *Actinomycètes*. Schaal and Pulverer (Eds.). *Zbl Bakt. suppl.*, 11, Gustav Fisher Verlag, Stuttgart-New-York. P : 4159-166.
- **Louchahi M. R., (2015).** Enquête sur les conditions d'utilisation des pesticides en agriculture dans la région centre de l'algérois et la perception des agriculteurs des risques associés à leur utilisation, *Ecole des Productions Végétales et des Ressources Génétiques ED-APVRG*, P:8-9.
- **Lim, J., Heng, S., & Hamzah, H. (2014).** Biological active compounds from actinomycetes isolated from soil of Langkawi Island , Malaysia. 13(49), 4523–4528. <https://doi.org/10.5897/AJB09.749>

## M

- **MANUE DE FORMATIONSUR LES PESTICIDES (UITA) ;(2004)** pages 14.
- **Messaoudi, O. (2013).** Contribution à la caractérisation des souches d'actinomycètes isolées de la Sebkhha de Kendsa (Bechar). Mémoire de magistère en microbiologie, université Abou Bakr Belkadi de Tlemcen.

## P

- **Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A., (2010).** Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition. P: 1088.

## R

- **Rangaswami G., Bagyaraj D.J., Bagyaraj D.G. (2004).** Agricultural Microbiology. PHI: New Delhi. Pp. 440
- **Rehan, M., Kluge, M., Franzle, S., Kellner, H., Ullrich, R., et al., (2014).** Degradation of atrazine by *Frankia alni* ACN14 a: gene regulation, dealkylation, and dechlorination. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 6125e6135.
- **Roy S., Das I., Munjal M., Karthink I., Kumar G., Kumar S., Rao R.V.B. (2014).** Isolation and characterization of tyrosinase produced by marine anaerobacteria and its application in the removal of phenol from aqueous environment *Front. Biol.*9(4): 306-316
- **Roy S., Das I., Munjal M., Karthink I., Kumar G., Kumar S., Rao R.V.B. (2014).** Isolation and characterization of tyrosinase produced by marine anaerobacteria and its application in the removal of phenol from aqueous environment *Front. Biol.*9 (4): 306-316.
- **Raval, K., Vaswani, S., & Majumder, D. R. (2012).** Biotransformation of a single amino-acid L-tyrosine into a bioactive molecule L-DOPA. *May*.

## S

- **Sagarkar, S., Bhardwaj, P., Storck, V., Devers-Lamrani, M., Martin-Laurent, F., et al., (2016).** S-triazine degrading bacterial isolate *Arthrobacter* sp. AK-YN10, a candidate

for bioaugmentation of atrazine contaminated soil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 903e913.

- **Saini, P., Gangwar, M., Kalia, A., Singh, N., & Narang, D. (2016).** Isolation of endophytic actinomycetes from *Syzygium cumini* and their antimicrobial activity against human pathogens. 9411.
- **Saker R. (2015).** Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens Et potentialités antagonistes. Pour obtention de diplôme doctorat. Université Ferhat Abbas
- **Sanglier J.J. et Trijillo M. (1997).** Substances bioactives produites par les actinomycètes, Stratégie de sélection des souches. *Bull. Sac. Fr. Microbiol.* 12(3), 269-276.
- **Sibanda.T, Leonard. V. Mabinya. L. V, Mazomba. N, Akinpelu. D. A, Bernard.K, Olaniran.**

**A. O, and Okoh. A. I. (2010).** Antibiotic Producing Potentials of Three Freshwater Actinomycetes Isolated from the Eastern Cape Province of South Africa. *Int J Mol Sci.* Vol : N° 7. 2612–623p12.

- **Sierra G., (1957).** A Simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie Van Leeuwenhoek* 23:15-22.

## T

- **Tatsinkou Fossi B., Tavea F et Ndjouenkeu R. (2005).** Production and Partial Characterization of Thermostable Alpha Amylase from Ascomycete Yeast Strain Isolated from Starchy Soil. *Afr. J. Biotechnol.* 14–18. (4 %)

## V

- **Véronique.E; Didier. S. ; Isabelle. D (janvier 2018)** Interactions insectes – micro-organismes entomopathogènes comme source d’inspiration pour la découverte concomitante de bio-insecticides et d’antimicrobiens : <https://theses.hal.science/tel-02163933>
- **Viswanathan, K., Rebecca, L. J., Arumugam, P., & Anbarasu, K. (2015).** International Journal of Advanced Research in Biological Sciences Isolation and screening of protease producing marine Actinomycetes from. 2(8), 153–157.



## ANNEXE I

### Matériel utilisé :

- Anse de platine
- Autoclave « Avantage- Lab AL02-12 »
- Bain-Marie « GFL »
- Barreaux magnétiques
- Balance « ADAM AFA- 120LC »
- Bec bunsen
- Bêchers
- Boîtes de Petri de 99 mm
- Boîtes de Petri septées
- Entonnoir
- Eprouvette
- Embouts stériles
- Erlenmeyers
- Etuve bactériologique à 28 C° « BINDER »
- Flacons
- Micropipettes de 100 µL et 1000 µL.
- Microscope optique « euromex »
- Pipette Pasteur
- pH mètre « HANNA »
- Plaque agitatrice et chauffante « VELP Scientifica »
- Spatules

- Tube à essais
- Vortex « technoKartell TK3S »

## **ANNEXE II**

### **MILIEUX D'IDENTIFICATION**

#### **Étude morphologique**

Les milieux ISP ont été préconisés lors de « International Streptomyces Project » (**Shirling et Gottlieb, 1966**).

#### ❖ **Milieu ISP1**

Tryptone : 5 g ; Extrait de levure : 3 g ; Agar : 15 g ; Eau distillée : 1000 ml. pH = 7,2.

#### ❖ **Milieu ISP2**

Glucose : 4 g ; Extrait de levure : 4 g Extrait de malt : 10 g ; Eau distillée : 1000 ml ; Agar : 20 g ; pH 7,2.

#### ❖ **Milieu ISP3**

Farine d'avoine : 20 g ; Solution saline standard 1 ml ; Agar : 20 g ; eau distillée : 1000 ml.  
pH

7,2. Solution saline standard : FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O : 0,1 g ; MnCl<sub>2</sub>, 4H<sub>2</sub>O : 0,1 g ; ZnSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O : 0,1 g ; eau distillée : 100 ml.

#### ❖ **Milieu ISP4**

Amidon: 10 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1 g; MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O: 1 g; NaCl: 1 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 2 g; CaCO<sub>3</sub>: 2 g ; Solution saline standard (voir ISP3) : 1 ml ; agar : 20 g ; eau distillée : 1000 ml. pH 7,2.

#### ❖ **Milieu ISP5**

L'Asparagine : 1 g ; Glycérol : 10 ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 1 g ; Solution saline standard : 1ml ; Agar : 20 g ; eau distillée : 1000ml. pH 7

#### ❖ **Milieu ISP7**

Glycerol: 15g; L-tyrosine :0,5g; L-asparagine :1g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>:0,5; MgSO<sub>4</sub> ,7H<sub>2</sub>O: 0,5g

NaCl:0,5g ; FeSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O:0,01g ; Agar :18g ; eau distiller : 1000ml

❖ Milieu minimum

KNO<sub>3</sub>:13,76g ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:1,78g ; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:9,68g ; NaHPO<sub>4</sub>: 4,66g ; EDTA:10mg ; FeSO<sub>4</sub>: 5mg ; Mnel:1,22mg ; ZnSO<sub>4</sub>: 0,25mg ; CuSo<sub>4</sub>: 0,2mg ; Cacl: 1mg ; Na<sub>2</sub>MO<sub>4</sub>: 0,20mg ; Agar: 18g

## 2. Milieux des activités enzymatiques

❖ **Dégradation du tween 80 (Sierra, 1957)**

Tween 80 : 2 ml ; Peptone : 10 g ; NaCl : 5 g ; CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O : 0,1 g ; Eau distillée : 1000 ml ; Agar : 18 g. pH 7,4.

La dégradation du tween 80 se manifeste par une auréole opaque autour des colonies.

❖ **Dégradation de l'amidon (B.Fossi, 2005) .**

Amidon : 10 g ; KNO<sub>3</sub> : 1 g ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 0.5 g ; MgSO<sub>4</sub> : 0.5 g ; NaCl : 0.5 g ; FeSO<sub>4</sub> : 0.01 g ; Agar : 18 g ; Eau distillée 1000 ml. pH 7,4.

❖ **Dégradation de la caséine du lait (Gordon et al., 2015).**

Peptone : 10 g ; NaCl : 5 g ; Extrait de levure : 3 g ; Agar : 20 g ; Eau distillée : 1000 ml ; Lait écrémé : 100 g. pH 6.5 - 7.2.

❖ **Dégradation de la cellulose CMC (cellulose) (P.Saini, 2016):** 10 g ; KNO<sub>3</sub> : 2 g ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> : 4 g ; Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 4 g ; CaCl<sub>2</sub> : 0.001 g ; MgSO<sub>4</sub> : 0.2 g ; FeSO<sub>4</sub> : 0.004 g ; Agar : 15 g ; Eau distillée : 1000 ml. pH =7±0.2.

✓ La solution aqueuse de Rouge Congo à 0.1%

Rouge Congo 0.1 g

Eau distillée 100 ml

✓ La solution du NaCl (1M)

NaCl 58,5 g

Eau distillée 1000ml

❖ **Activité lipasique (L.Jeffrey, 2014)**

✓ Milieu nutritif de Sierra

Peptone 10g ; CaCl<sub>2</sub> 0.1g ; NaCl 5g ; Tween 20 (80) 10 ml ; Agar 15g ; Eau distillée qsp 1000ml

-Tween 80 pour détecter l'activité lipolytique.

-Tween 20 pour détecter l'activité estérasique.

❖ **Production de la tyrosinase (S.Roy, 2014)**

✓ Peptone 5g ; Extrait de viande 3g ; L-tyrosine 5g ; Eau distillée qsp 1000 ml ; Agar 20g ; pH = 7,2

❖ **Activité uréasique (Christensen, 1946)**

Un milieu contenant en g / 950ml d'eau distillée, peptone (1) ; glucose (1) ; NaCl (5) ; NaHPO<sub>4</sub> (1,2) ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,8) ; rouge de phénol (0,012). Le milieu est ajouté à PH =6,8. après autoclavage, 50ml d'une solution d'urée a 40% préalablement stérilisée par filtration (porosité 0,22 µm), est ajoutée au milieu.

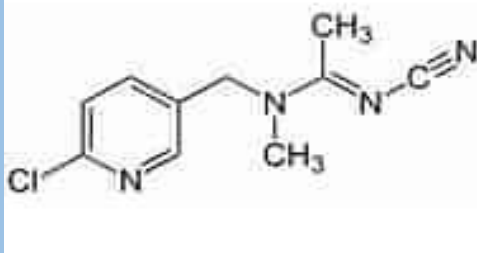
❖ **Activite nitrate reductase**

Extrait de viande 3g/l ; Peotone 5g/l (gelatin peptone) ; potassuim nitrate KNO<sub>3</sub> 1g (0,1%)

❖ **Activites laccasique**

Peptone :10g ; NaCl: 5g ; extrat de levure: 5g ; Agar: 18 g ; cuso<sub>4</sub> : 0,35mM

Guaicol ou ABTS 0,01%

<b>Identification de produit</b>	Aceplan 20SP ou 10SP
<b>Usage</b>	Insecticide
<b>Formulation</b>	SP
<b>Matière active</b>	Acétamipride
<b>Concentration</b>	
<b>Dose d'utilisation</b>	10g /hl / 12,5g/hl / 20g/hl / 30g/hl
<b>Etat physique</b>	Solide
<b>Groupement fonctionnels</b>	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>
<b>Formule chimique</b>	 <p>The image shows the chemical structure of Acetamipride. It consists of a 3-chloropyridin-2-ylmethyl group attached to a dimethylamino group, which is further substituted with a methyl group and a cyano group (C≡N).</p>

- **Acétamipride ( Aceplan 10 sp ou 20 sp ):** Il s'agit d'un insecticide -aphicid systemique assure la protection contre un grand nombre d'insectes nuisibles qui attaquent les arbres fruitiers, c'est un composé organochloré de la famille neonicotinoides.

- **Gallant super ( haloxyfop-R-methyl ester ):** Un herbicide concentré émulsifiable systémique sélectif de post levée pour la suppression des graminées annuelles et vivaces, les cultures à feuilles larges tel qu'indique ainsi qu'un mûrisseur de canne à sucre.

<b>Identification de produit</b>	Haloxy fop-R- Methyl ester
<b>Usage</b>	Herbicide
<b>Matière active</b>	Gallant super
<b>Concentration</b>	
<b>Dose d'utilisation</b>	0,5 ml / 1 ml / 2ml / 3ml / 4ml
<b>Etat physique</b>	Liquide
<b>Groupement fonctionnels</b>	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>4</sub>
<b>Formule chimique</b>	

## Résumé

Cette étude a pour objectif principal la caractérisation de deux souches d'actinobactéries, résistantes aux pesticides nommées MK1 (résistante à l'Acétamipride) et MK2 (résistante au Gallant Super). Les deux souches appartiennent à la collection du laboratoire de microbiologie appliquée (LMA), elles sont isolées à partir d'un site agricole de la wilaya de Jijel, la souche MK1 a été isolée à partir de l'oued et l'isolat MK2 à partir d'un échantillon prélevé d'un puit d'arrosage.

L'étude morphologique des deux isolats a permis de les rattacher au genre *Streptomyces*. Les résultats de l'étude de la tolérance des souches d'actinobactéries à différentes concentrations des pesticides ont montré que les deux souches (MK1, MK2) ont une croissance positive sur le milieu ISP1 additionné de gallant super ainsi que sur le milieu ISP1 additionné de l'acétamipride. La caractérisation physiologique a montré que les deux souches ont la capacité de dégrader les différents composés chimiques et à produire différents enzymes (Amidon, cellulase, lipase, Estérases .... etc). Cette étude a permis aussi de mettre en évidence la résistance des deux souches aux différents métaux lourds (Zinc, Plomb, fer, cuivre, Chrome, Cadmium et Argent).

**Mots clés:** Pesticides , Actinobactérie, résistance, caractérisation physiologique, résistante aux métaux lourds.

### Abstract

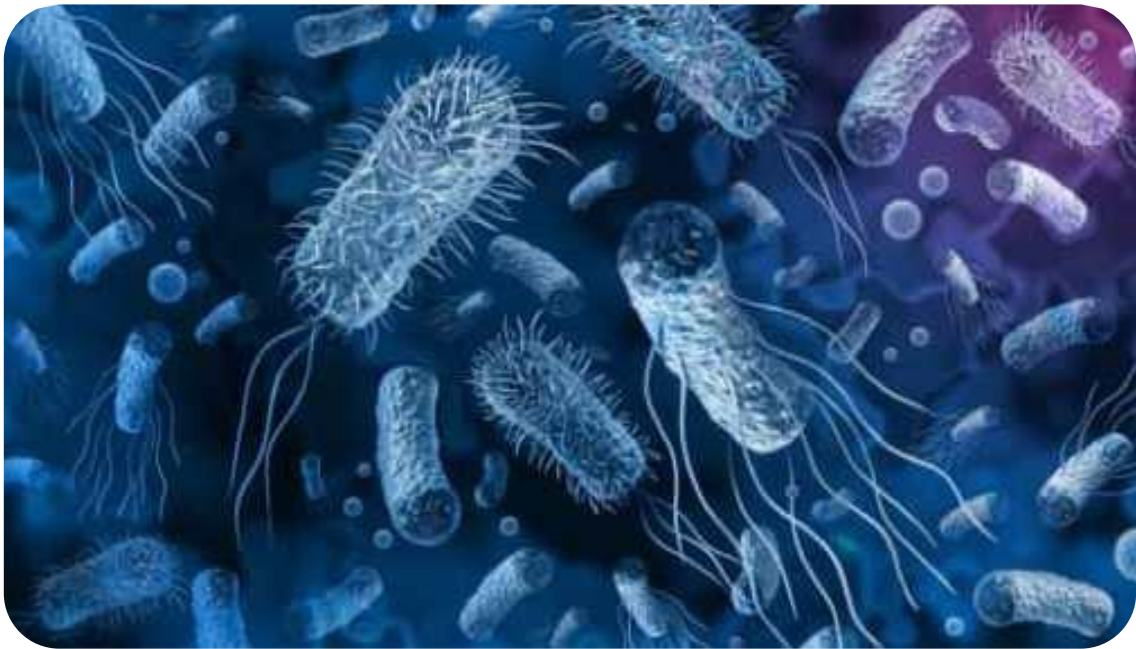
The main objective of this study is to characterize two strains of actinobacteria, resistant to pesticides named MK1 (resistant to acetamiprid) and MK2 (resistant to Gallant Super). Both strains are the collection of the Laboratory of Applied Microbiology (AML). The MK1 strain was isolated from the wadi located in Kaous in the wilaya of Jijel and the MK2 isolate was isolated from a sample taken from the watering well of an agricultural land located in Kaous. Morphological study of the two isolates made it possible to attach them to the genus *Streptomyces*.

The results obtained about the tolerance of actinobacteria strains to different concentrations of pesticides showed that the two strains (MK1, MK2) have a positive growth on the ISP1 medium with the addition of super gallant as well as on the ISP1 medium with the addition of acetamiprid. Physiological characterization has shown that both strains have the ability to degrade different chemical compounds and produce different enzymes (starch, cellulase, lipase, esterases.... etc). This study also highlighted the resistance of the two strains to different heavy metals (Zinc and Lead and Iron and Copper ... etc).

**Keywords:** Pesticides; Actinobacteria; physiological characterization, heavy metals resistance.

# *Chapitre I*

## *Etude bibliographique*





# CHAPITRE II

## *Matériels & méthodes*



# *CHAPITRE III*

## *Résultats et discussion*

