

République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A.MIRA–Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Sciences Biologiques de
l'Environnement
Spécialité : Toxicologie Industrielle et
Environnementale



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

*Etude de l'impact des pesticides sur la
croissance des souches de Bradyrhizobium*

Présenté par:

MELLAHI Dihia et KECHIR Thinhinane

Soutenu le: **18/09/2022**

Devant le jury composé de :

Mme AYOUNI Zahra MAA
Mlle SALMI Adouda MCB
Mr HAMLAT Mourad MCB

Président
Encadreur
Examineur

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et
miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience
d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre
promotrice Mlle Salmi A, qui nous a permis de bénéficier de la qualité de
son encadrement, les conseils qu'elle nous a prodigué, la patience, les
moyens qu'elle a mis à notre disposition*

*Nous tenons à remercier les membres de l'équipe de recherche du «Laboratoire
d'Ecologie Microbienne » de nous avoir accueillis au sein du laboratoire.*

*Nous remercions les membres de jury Mme Ayouni Z et Mr Hemlat M
d'avoir accepté la charge d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant
toutes nos années d'études spécialement Mr Boucheffa et*

Mr Djoulane A

*Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de
loin de quelque façons que ce soit, à la concrétisation de ce travail*

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à mes parents que j'aime le plus dans la vie
ma raison de vivre qui méritent tout le respect du monde qu'ils trouvent
ici le témoignage de mon profond amour infini.*

*Ma très chère maman , source de compassion et de tendresse, l'exemple de
Patience et de sacrifice la raison de mon existence et le support de ma vie.*

*Mon très cher papa, l'homme le plus parfait du monde, mon grand exemple
et mon secret de réussite.*

A mes trois chers frères qui sont ma fierté.

A mon mari Halim

Et ma chère binôme Dilia

Et ma trinôme Rima

Thinkinane

Dédicaces

*J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail à :
mes chers parents, à qui je dois un remerciement profond pour leurs
sacrifices, patience, soutien et encouragements. Puisse Dieu me les
garder.*

*ma chère grand-mère qui m'a toujours encouragé et soutenu que Dieu te
garde mamie.*

mon grand père

Khali Bachir à qui je dois un profond remerciement

mes chères tantes, mes chers oncles

*mes chères sœurs: Tinhinane, Tamazight et Célia à qui je souhaite un
avenir brillant.*

*mes chers frères Massi, Amazigh, Amine, Yacine et Youba à qui
je souhaite un bon rétablissement. Que Dieu vous garde*

mes nièces Marina et Emélie et à mon beau-frère Omar

*ma belle famille spécialement à ma belle mère et à mon cher fiancé
Fayçal que je tiens à remercier pour ce qu'il fait pour moi*

ma binôme Thinhinnane et ma trinôme Rima

*à tous mes amis(es) sans exception. Merci pour ces bons moments
que nous avons partagés ensemble durant toutes ces
années que notre amitié dure à jamais.*

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les pesticides

I. Généralités sur les pesticides.....	2
I.1. Définition	2
I. 2. Historique.....	2
I.3. Classification des pesticides	3
I.3.1. Classification par cible	3
I.3.2. Classification selon la famille chimique	3
I.3.3. Classification biologique et mode d'action.....	6
I.4. La dégradation des pesticides.....	7
I.4.1. La dégradation abiotique	7
I.4.2. La dégradation biotique.....	8
I.5. La toxicité des pesticides.....	8

Chapitre II : Généralités sur les Rhizobiums

II.1 Définition des rhizobiums.....	10
II.2 Classification des rhizobiums.....	10
II.3 Rôle des rhizobiums	11

Matériel et méthode

I. Souches bactériennes	12
II. Effet des pesticides sur la croissance des souches étudiées	12
III. Evaluation de toxicité des pesticides sur les <i>Bradyrhizobiums</i>	13
IV. Evaluation de capacité des souches à dégrader ces pesticides.....	14

Résultats et discussions

I. L'effet des pesticides sur la croissance des souches <i>Bradyrhizobium</i>	16
II. Détermination des concentrations minimales inhibitrices.....	18
III-Evaluation de la toxicité de pesticides <i>vis-à-vis</i> des <i>Bradyrhizobiums</i>	21
IV.Étude de la biodégradabilité des pesticides	25
Conclusion	27

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste de tableaux

Tableau I: La diversité chimique et fonctionnelle des pesticides	5
Tableau II: Le classement par mode d'action des pesticides en herbicides, fongicides et Insecticides	6
Tableau III: Les différents pesticides utilisés	13
Tableau IV: Croissances des souches de <i>Bradyrhizobium</i> en présence de différentes concentrations en pesticides	17
Tableau V: Les concentrations minimales inhibitrices sur des souches <i>Bradyrhizobium</i> vis-à-vis pesticides	18
Tableau VI: Diamètre des zones d'inhibitions.....	21

Liste de figures

Figure 01: Classification phylogénétique des rhizobium basée sur les séquences de l'ARNr 16s	11
Figure 02: Revivification des souches	12
Figure 03: Effet des pesticides sur la croissance des souches	13
Figure 04 : Evaluation de la toxicité des pesticides sur <i>Bradyrhizobium</i>	14
Figure 05 : Evaluation de la capacité des <i>Bradyrhizobium</i> à dégrader les pesticides	15
Figure 06 : taux de tolérance des souches de <i>Bradyrhizobium</i> a l'insecticide OBERON	19
Figure 07 : taux de tolérance des souches de <i>Bradyrhizobium</i> au fongicide SCORE	20
Figure 08: taux de tolérance des souches de <i>Bradyrhizobium</i> a l'herbicide TILLER	20
Figure 09: Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches <i>vis-à-vis</i> de l'insecticide OBERON	22
Figure 10: Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches <i>vis-à-vis</i> de l'herbicide TILLER	23
Figure 11 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches <i>vis-à-vis</i> du fongicide SCORE	24
Figure 12 : Evolution de la croissance des différentes souches en présence des différents pesticides	26

Abréviations

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DDT: Dicholodiphényltri Chloroéthane.

UFC: Unité FormantColonie.

YMA: Yeast-Mannitol-Agar.

YMB: Yeast-Mannitol-Broth

PH: Potentiel Hydrogène.

DO: Densité Optique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

FAO: Food Agriculture Organisation

NH₄Cl: Chlorure d'Ammonium

Mm: Millimètre

µg: Microgramme

csa :Calicotome Spinosa Azzaba

css: Calicotome Spinosa Sidi-aich

Le secteur agricole favorise fortement l'application de pesticides a fin d'améliorer son rendement, ils sont devenus presque inévitables (**Boada et al., 2016**). Ces molécules sont largement utilisées pour contrôler les ravageurs des récoltes (**Huang et al., 2018**).

La persistance des pesticides est une préoccupation majeure en raison de leur toxicité imminente, de leur cancérogénicité et de leur potentiel de bioaccumulation dans la chaîne alimentaire(**Almeida-González et al., 2012**).

Il est à noter que la dégradation des pesticides est le processus par lequel un pesticide se transforme en une substance bénigne compatible avec l'environnement à l'endroit auquel elle a été appliquée. Elle implique à la fois des processus de transformation biotiques et abiotiques. La transformation biotique est méditée par des microorganismes (**Fenner et al.,2013**).

En effet,les microorganismes qui ont été identifiés comme des agents de dégradation de pesticides ont été isolés à partir d'une grande variété de sols contaminés. Les facteurs environnementaux tels que l'humidité et la température, les propriétés physicochimiques du sol, la présence d'autres sources d'azote ou de carbone,peuvent modifier complètement la population microbienne et donc l'activité microbienne (**Besse-Hoggan et al., 2009; Laura et al., 2011**).

La contamination des sols algériens s'avère fréquente par l'excessive application des pesticides. C'est dans le contexte de cette problématique que nous avons choisi de lancer ce travail dans le but de déterminer les impacts des pesticides sur la croissance de souches de *Bradyrhizobium* ,et d'évaluer la résistance des souches choisies vis-à-vis des pesticides testés. On a opté pour un plan qui aborde les points suivants :

Ce travail est divisé en trois parties, une première qui rapporte l'essentiel des connaissances relatives aux pesticides, suivit par une partie matériel et méthode qui décrit la méthodologie de travail adoptée pour répondre à l'objectif tracé. Une troisième partie est consacrée pour la présentation des résultats obtenus ainsi que leur discussion. Ce manuscrit s'achève avec une conclusion.

I-Généralités sur les pesticides

I-1-Définition des pesticides

Les pesticides sont des produits phytopharmaceutiques utilisés dans la protection des productions agricoles contre de multiples agressions qui peuvent faire obstacle au bon développement des plantes, tels que les insectes nuisibles, les champignons, les moisissures ou les mauvaises herbes. **(Belmehel et Nefouci ,2019)**. Les substances s'applique avant ou après la récolte pour protéger le produit contre toute détérioration.**(Ramirez et al.,2019)**

I-2-Historique

Depuis très longtemps, les malheurs survenus aux cultures ont poussé les chercheurs à trouver des solutions pour lutter contre différents ravageurs.

La première utilisation de pesticide comme moyen de protection de culture remonte à l'antiquité. **(Rao et al., 2007)**.

Vers le XVI^e siècle, la valeur et la priorité des insecticides du tabac et de racine Derris et Lonchocarpus a été signalé **(Birraux et al., 2010)**.

Mais les recherches sont toujours en cours, au XVIII^e siècle une nouvelle production d'un moyen de lutte contre les maladies des céréales, de la pomme de terre et la vigne, limitant l'évolution d'insecte ravageurs a été découverte avec le développement de la chimie qui a poussé à la création des nouveaux pesticides. Au XIX^e siècle le sulfate de cuivre ou mercure sont les composants majoritaires formant les fongicides ;insecticides a base le cuivre, l'acétoarsénite de cuivre, l'arséniate de plomb font aussi leur apparition. Au tour des années 1920 les insecticides arsenicaux créé un grand problème mortel ce qui a incité les scientifiques à chercher d'autres produits moins dangereux. Le premier pesticide de synthèse de pouvoir insecticide et d'autres produits comme les salicylanilides en 1931 et les dithio carbamates en 1934**(Duval, 2009)**.

Zeidler a synthétisé le DDT en 1874, dont Muller a établi ses propriétés insecticides en 1939.(dichloro-diphényle-trichloro-éthane). Le DDT a été introduit en 1943, ouvrant la voie à la famille des Organochlorés. Le produit a dominé le marché des pesticides jusqu'au début années 1970. Durant la deuxième guerre mondiale, la recherche pour développer le gaz naturel combat de la famille des organophosphoré a connu un développement.

Au cours des années 1950-1955 les herbicides se sont développés suivis par des fongicides datant de 1966 aux Etats-Unis. Dans la période « 1970-1980 » un nouveau type d'insecticide les pyéthrinoïdes sont apparus pour dominer le marché des pesticides (Duval, 2009). À partir des années 1990, un grand nombre de produits ont été lancés et demandés, les réglementations permettent la concurrence entre les industries (Birraux et al., 2010)

I-3-Classification des pesticides

La classification des pesticides repose sur la nature de l'espèce nuisible à combattre ex : herbicide, insecticide, fongicide, nématocide, rodenticide...on peut aussi opter pour une classification selon la nature chimique, leur mode d'action exercé, l'effet obtenu ou le moment et le lieu d'application.

On se focalise sur trois grandes familles: les herbicides, les fongicides et les insecticides, puisqu'ils ont une grande diversification chimique

I-3-1-Classement par cible

Ils sont classés en fonction des bioagresseurs destinés à combattre

- Insecticides, dans le but de tuer les insectes nuisibles.
- Herbicides, contre les mauvaises herbes ou adventices.
- Fongicides, afin de se débarrasser des champignons parasites.
- Les nématocides, pour lutter contre les nématodes.
- Les corvicides, dans le but de lutter contre les oiseaux.
- Les acaricides, pour lutter contre les acariens.
- Les rodenticides ou raticides, pour lutter contre les rongeurs.
- Les molluscides, pour lutter contre les mollusques : limaces et escargots.
- Les algicides, pour lutter contre le développement des algues

(Benaounet Latrache, 2020)

I-3-2-Classification selon la famille chimique

- ✓ **Les pesticides organo-métalliques** : A partir d'un complexe de métaux tel que le zinc et les anions organiques dithiocarbamate a mené à une formation d'une molécule appelée organo-métallique qui sont les fongicides (Calvet et al., 2005)

✓ Les pesticides organiques

Ce sont des substances chimiques dont la structure moléculaire contient du Carbone, plus complexes que les pesticides inorganiques, généralement insolubles dans l'eau, ils peuvent être subdivisés en deux catégories : organiques naturels dérivés des sources naturelles telles que le pyrèthre plantes, les pesticides synthétique artificiellement chimiques. La plus part des pesticides modernes sont des produits chimiques organiques ces molécules contiennent généralement de l'oxygène du phosphore ou du soufre (**Terzievet Petkova Georgieva, 2019**)

✓ Les pesticides inorganiques

Ils sont disponibles en petite quantité, mais quelque uns sont utilisés en abondance, comme le soufre ou cuivre. ce sont des pesticides très anciens, dont l'utilisation est antérieure à la chimie organique synthétique depuis lors, un seul herbicides totaux(chlorate de sodium) et certains fongicides à base de soufre et de cuivre tels que Bouillie bordelaise(**Calvet et al., 2005**).

Cette classification est détaillée par le tableau récapitulatif suivant :

Tableau I : La diversité chimique et fonctionnelle des pesticides (Calvet et al.,2005)

Pesticide	Organismes cibles	Exemple de familles chimiques	Exemples de molécules	Modes d'action
Herbicide	Plantes concurrençant les cultures « mauvaises herbes »	Acides Chlorophénoxy-alcanoïques	2,4D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique)	Perturbation de la régulation de l'auxine
		Acides benzoïques	Dicamba	
		Carbamates	Carbétamide	Blocage des centres organisateurs des microtubules et désorganisation du fuseau
		Organophosphorés	Glyphosate	Inhibition de la biosynthèse des acides aminés aromatiques
		Sulfonylurées	Metsulfuron-méthyle	Inhibition de la biosynthèse des acides aminés ramifiés
		Triazines	Atrazine	Inhibition de la photosynthèse
		Urées substituées	Isoproturon, linuron	
Fongicide	Champignons parasites des cultures "maladies "	Carbamates	Propamocarbe	Inhibition de la formation des microtubules
		Triazoles	Tébuconazole	Inhibition de la biosynthèse des stérols
		Organophosphorés	Fosétyl-Al	Inhibition de la germination des spores et de la croissance mycélienne
		Dérivés soufrés, sulfate de cuivre	Bouillie bordelaise	Inhibition de la germination des spores
Insecticide	Insectes ravageurs "ravageurs "	Triazines	Triazoxide	Perturbation de la biosynthèse des mélanines
		Carbamates	Aldicarbe	Perturbation du système nerveux
		Pyréthroïdes	Cyperméthrine	
		Organophosphorés	Malathion	
		Organochlorés	Aldrine	
		Néonicotinoïdes	Thiaméthoxame	Perturbation du système Respiration
Amidinohydrazones	Hydraméthylnon			

I-3-3 Classement biologique et mode d'action

Les modes d'action des pesticides sont très variés, c'est le mécanisme par lequel la substance va exercé son effet sur la cible biologique du ravageur visé, aussi bien entre les différentes catégories de pesticides qu'à l'intérieur même de ces catégories, en lien avec leurs propriétés physicochimiques, et donc toxicologiques (Calvet et al., 2005). (Bonnefoy, 2013).

On a pu résumer les différents modes d'action dans le tableau ci-dessous :

Tableau II : Le classement par mode d'action des pesticides en herbicides, fongicides et insecticides

Herbicides	
De contact Systémique Sélectif Nonsélectif Résiduaire Non résiduaire	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact. Absorbé par la plante, se déplace à l'intérieur de celle-ci. Ne contrôle que certaines plantes traitées. Contrôle toutes les plantes traitées. Se dégradent lentement et contrôle les plantes sur une longue période. Est rapidement inactif après son application et ne contrôle les plantes que sur une courte période.
Fongicides	
Préventif Curatif	Protège la plante en empêchant que la maladie ne se développe. Réprime une maladie qui est déjà développée.
Insecticides	
De contact D'inhalation D'ingestion	Agit lorsque l'insecte entre en contact Avec le produit. Agit lorsque l'insecte respire le produit. Agit lorsque l'insecte se nourrit du produit.

I-4-La dégradation des pesticides

La dégradation des pesticides est l'un des processus clef dans leur devenir dans le sol qui a un rôle important dans leur dissipation et leur élimination des milieux naturels. Elle est due à de nombreuses transformations et modifications chimiques qui peuvent être limitées à l'élimination d'un groupe fonctionnel, conduire à divers produits de transformation et aller jusqu'à la minéralisation. (Calvet *et al.*, 2005).

Parmi les différents mécanismes de transformation, on distingue la dégradation métabolique et la dégradation co-métabolique (Lucas *et al.*, 2008).

Le métabolisme : le pesticide est utilisé comme source d'énergie unique ou partielle et le co-métabolisme : le pesticide ne peut être utilisé directement comme source de carbone ; ce mécanisme nécessite l'association de plusieurs souches complémentaires (et la présence d'un co-substrat) (Bortoli et Coumoul, 2018).

La dégradation est dominée par l'activité biologique qui joue un rôle important dans le devenir des matières actives, Malgré la présence de processus abiotiques (Alexander, 1981; Singh et Walker, 2006). Les bactéries et les champignons sont les microorganismes les plus impliqués dans la dégradation des pesticides (Singh et Walker, 2006). Selon leur matériel enzymatique, les microorganismes vont pouvoir dégrader partiellement ou totalement les pesticides présents dans le sol (Van Eerd *et al.*, 2003).

I-4-1-La dégradation abiotique

La dégradation abiotique des pesticides est souvent partielle et conduit en général à la formation de produits de transformation qui peuvent être ultérieurement dégradés de façon biologique, peuvent subir une dégradation chimique : par processus hydrolytique plus souvent par oxydation ou par réactions non-hydrolytiques. les processus de transformation chimique peuvent avoir lieu en absence de micro-organismes. Ainsi, ils sont soit induits par le rayonnement solaire, soit catalysés par certains constituants du sol (Andreu et Picó, 2004)

L'aspect fondamental de la dégradation due aux microorganismes est la catalyse des réactions chimiques par des enzymes ; cela nécessite que les pesticides soient à l'état dissous dans la phase liquide du sol. Nous distinguons deux situations (Calvet *et al.*, 2005) :

Les réactions chimiques catalysées par des enzymes intracellulaires ; les pesticides doivent d'abord être absorbés pour être transformés.

Les réactions chimiques catalysées par des enzymes extracellulaires ; l'absorption des pesticides n'est pas nécessaire.

I-4-2- Dégradation biotique

C'est une transformation structurelle de la molécule (pesticide) par les micro-organismes du sol de toutes sortes (actinomycètes, bactéries, champignons) qui sont peu spécifiques vis-à-vis des molécules chimiques dégradées (**Grébil et al., 2001**). Les paramètres qui influencent la biodégradation sont par exemple : le pH, la température, l'aération et l'humidité (**Aissaoui, 2012**).

I-5-La toxicité des pesticides

Des contaminations des produits alimentaires et des produits agricoles ont été dénombrées dans de nombreux pays (**EL-Nahhal et al., 2015**), sans oublier que les sols et les eaux ont été contaminés par ces composés ou métabolites intermédiaires formés lors de leur biodégradation (**Cycoń et al., 2009**).

Les dépassements de critères de la qualité de l'eau et la présence conjuguée de plusieurs pesticides peuvent avoir des conséquences sur les espèces aquatiques (**Giroux, 2004**). Un nombre annuel d'intoxication par les pesticides qui varie de 1 à 5 millions de personnes est estimé par L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et la FAO (Food Agriculture Organisation) (**Chubilleau et al., 2014**). L'infiltration des pesticides, peut contaminer les cours d'eau et toute source d'eau douce ou potable ce qui pose de graves effets sur l'homme et l'environnement (**Craaq, 2016**).

Les symptômes varient en fonction de la toxicité du pesticide, son degré est lié à l'exposition directe aux produits, Il peut aussi varier en fonction de la dose reçue, de la sensibilité de la personne touchée ou de la voie d'absorption (orale, cutanée ou respiratoire) (**Giroux, 2004**).

Les scientifiques ont mis en évidence trois types d'effets sur la faune et l'homme après des épandages insoucients des pesticides toxiques affectés ces 20 dernières années : des effets cancérigènes provoquent des tumeurs, des effets mutagènes entraînant des modifications du matériel génétique et des effets teratogènes entraînant des malformations de

l'embryon.(Craaq, 2016).

Pour l'environnement, les pesticides représente un facteur majeur d'incidence sur la diversité biologique de même que la perte d'habitat et le changement climatique. Ils peuvent subir des effets synergiques ou antagonistes additifs qui peuvent altérer l'équilibre des écosystèmes (EL-Nahhalet *al.*, 2015) .La répartition des pesticides dans les zones voisines non traitées peut avoir des effets néfastes directs ou indirects sur la végétation non ciblée surtout quand on parle des herbicides, qui peuvent inhiber la croissance et le développement des herbes non ciblés (Craaq, 2016).

II- Généralités sur les Rhizobiums

II-1-Définition des *Rhizobiums*

Les rhizobium sont reconnues comme étant des bactéries du sol fixatrices d'azote sous forme de bâtonnets de 0,6 à 0,9 μm de largeur et d'environ 1 à 3 μm de longueur, appartenant à la famille des rhizobiacées à Gram négatif, aérobies strictes, hétérotrophes, mobiles et non sporulantes (**Boukecha et al., 2017**). Leur température de croissance optimale est de 28°C et le pH optimal est de 6 à 7 (**Yuan et al., 2020**).

Les *Rhizobium* à croissance rapide produisent une turbidité dans le milieu liquide en 2-3 jours les *Bradyrhizobiums* à croissance lente produisent une turbidité dans le milieu en 5-6 jours. Ils favorisent le milieu YMA(Yeast Mannitol Agar) qui est un milieu de culture qui réponds à ses besoins nutritifs en contenant une source de carbone ,une source d'azote et des sels minéraux .

Les *Rhizobiums* sont des bactéries du sol capables de former des nodules racinaires et d'établir une relation symbiotique avec les racines rarement avec des tiges des légumineuses. Lors de la symbiose, les *Rhizobium* réduit l'azote atmosphérique en une forme directement utilisable par les plantes (ammonium) par une activité enzymatique sous l'effet du manganèse. La capacité des *Rhizobiums* à fixer l'azote à conduit à une réduction significative de l'utilisation des engrais agrochimiques. (**Dai et al., 2012**).

II-2- Classification des rhizobiums

Selon **Bergey's Manuel (2012)**, les rhizobium appartiennent au domaine des *Eubacteria*, au phylum des *Proteobacteria* et à la classe des *Alpha* et *beta*, elles comportent environ 13 genres et plus d'une centaine d'espèces (figure 1). La majorité des rhizobiums appartient à la classe des α -*Proteobacteriacea* (*Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*,...etc.) (**Yaw Boakye et al., 2016**). Cette taxonomie est continuellement en évolution et en changement.

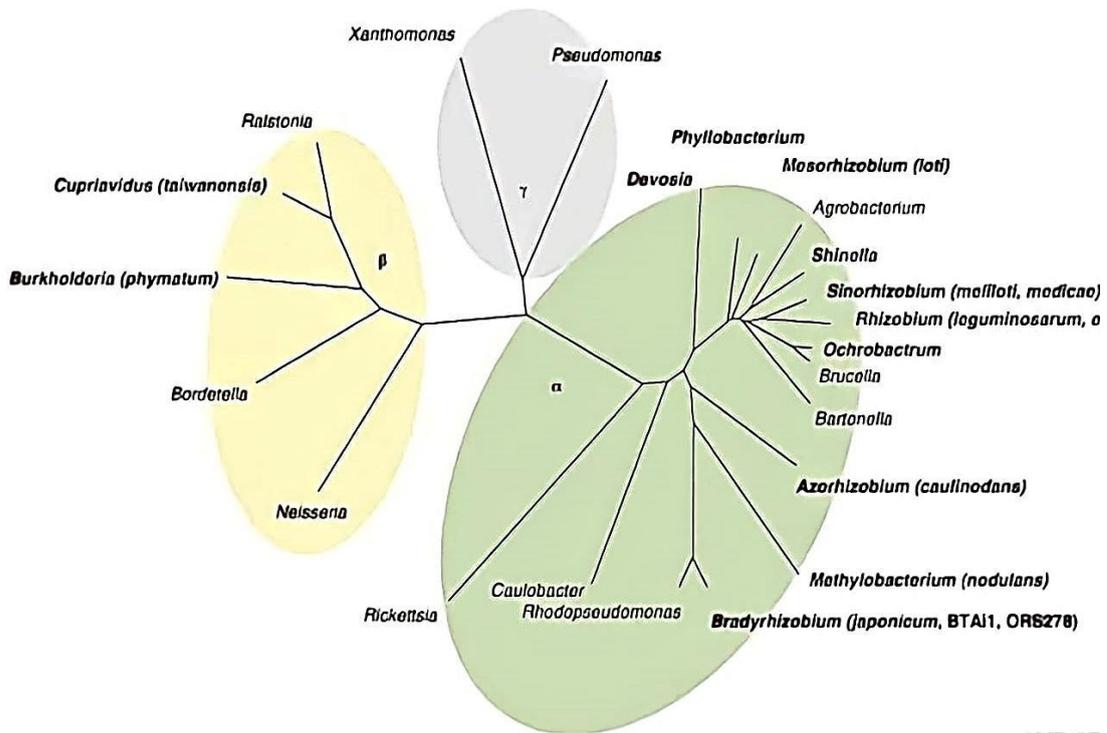


Figure 1 : Classification phylogénétique des rhizobia basée sur les séquences de l'ARNr 16s (*Masson-Boivin et al., 2009*).

II-2-Rôle des *Rhizobiums*

Les rhizobia ont été reconnus comme une stratégie potentielle pour simultanément augmenter la teneur en azote du sol, réduire l'utilisation d'engrais et augmenter la concentration en H₂ (engrais hydrogène) dans la rhizosphère par la fixation symbiotique de l'azote. Les rhizobiums possèdent également la capacité biochimique et écologique de dégrader les produits chimiques organiques de l'environnement et de diminuer le risque associé aux métaux et aux métalloïdes dans les sites contaminés. La phytoremédiation assistée par les rhizobiums présente d'autres avantages environnementaux et économiques pour la biorémédiation. L'exploitation des interactions microbe-microbe ou plante-microbe entre la communication intra-espèce et inter-espèce dans la rhizosphère pourrait représenter des approches plus intégratives pour faciliter davantage la biorémédiation (*Teng et al., 2015*).

A travers ce chapitre nous décrivons le matériel biologique et les méthodologies de caractérisation des souches étudiées par différents types de pesticides dans le but d'étudier leurs influence sur la croissance des micro-organismes du sol du type *Bradyrhizobium* et d'évaluer l'aptitude de nos souches adaptées à la dégradation après avoir réalisé des différents tests: test de croissance, test de toxicité et on termine avec un test de dégradation

I- Matériel biologique

1-Souches bactériennes

L'étude a été réalisée sur six souches bactériennes (csa112, csa208, csa207, csa236, css354, css381) et une souche témoin « BJ » identifiées comme *Bradyrhizobium* qui appartiennent à la collection du Laboratoire d'Ecologie Microbienne de l'université de Bejaia. Ces souches ont été isolées à partir des nodules racinaires de «*Cytisus spinosus*» *calicotome spinosa* par Salmi et al., (2018) dans les régions : Azzaba, et Ain turk, du nord d'Algérie.

En vue de la revivification des souches conservées à -80°C, un repiquage a été réalisé à l'aide d'une anse de platine sur milieu YMA (Yeast Mannitol Agar) (Annexe 1). Après incubation à 28°C pendant 10 jours, les boîtes ont été utilisées pour la préparation de l'inoculum sur milieu YMB (figure1), qui doit être incubé à 28°C pendant 6 jours, et standardisé avec un spectrophotomètre d'une longueur d'onde de (630nm) dans le but d'obtenir des tubes du milieu liquide d'une densité optique qui varie de 0.08 à 0.1 UFC avant chaque utilisation.

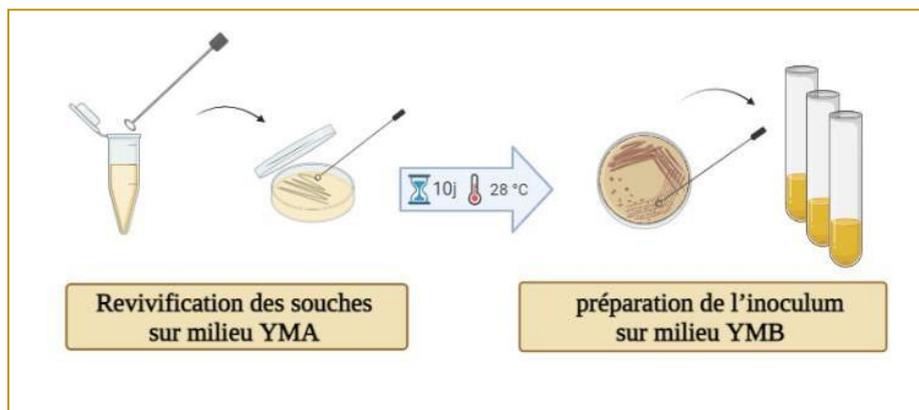


Figure 02 : Revivification des souches

II- Méthodologies de travail

1-Effet des pesticides sur la croissance des souches étudiées

Dans le but d'évaluer l'effet des pesticides sur la croissance des *Bradyrhizobiums*, un test a été réalisé sur milieu YMA (Annexe1) additionné de différentes concentrations de pesticides choisis (tableau VI) allant de 100 à 1000 ug/ml, selon **Sabeen et al., (2013)**.

Tableau III: Les différents pesticides utilisés

Pesticides	Lamarque
Insecticide	DURSBAN
Fongicide	ARDAVO
Acaricide	RIVAFOL

Les pesticides utilisés sont dilués dans de l'eau distillée afin de varier les concentrations pour cela des volumes bien définis ont été prélevés et ajoutés au milieu YMA (Annexe 2) par filtration (0.22um) sous conditions stériles (figure2).

Le milieu YMA additionné de pesticide est versé dans des boites de pétri, leur ensemencement a été réalisé en spots avec une micropipette (10ul de suspension bactérienne), cette opération est répétée trois fois pour chaque souche (6souches) et chaque concentration (10concentration) et un témoin sans pesticide est également inclu. Toutes les boites sont incubées à 28°C pendant 10 jours.

La sensibilité des souches a différentes concentrations de pesticides et les CMI (concentrations minimales inhibitrices) sont déterminées par la présence ou l'absence de croissance (+croissances/- inhibition).

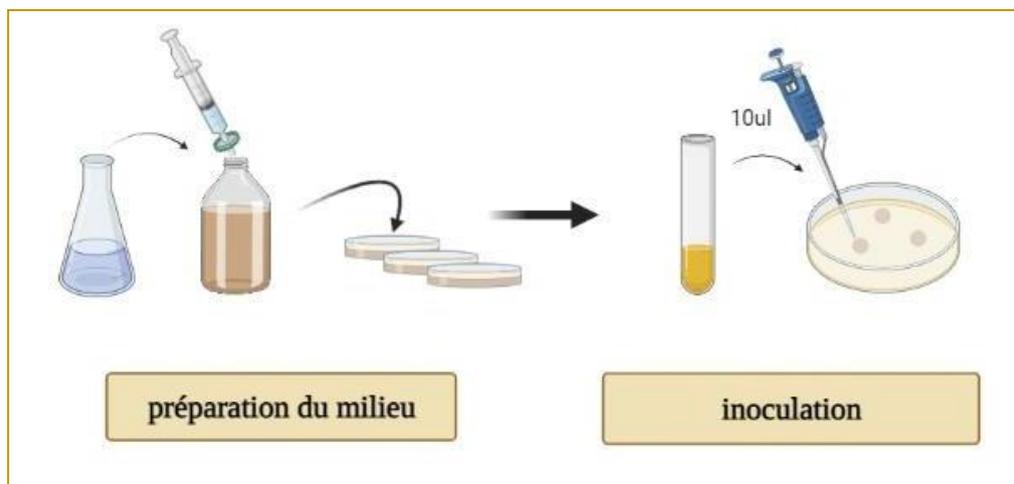


Figure 03 : Effet des pesticides sur la croissance des souches

III-Evaluation de la toxicité de pesticides *vis-à-vis* les *Bradyrhizobium*

Dans ce test deux concentrations sont impliquées pour chaque pesticide (100µg/ml et 800µg/ml)

La toxicité des pesticides sur nos souches a été évaluée par la méthode des puis sur gélose YMA (Annexe1). Après solidification du milieu coulé sur boites, ces dernières sont ensemencées à l'aide d'un écouvillon par les suspensions bactériennes préalablement préparées.

Trois disques de gélose ont été prélevés soigneusement à partir des boîtes préalablement préparées et recouvert par une goutte de gélose pour créer des puits. Ces derniers ont été remplacés : 1^{er} puits remplis de 100µl du pesticide à concentration 100µg/ml de pesticide le 2^{ème} par 100µl de la concentration 800µg/ml du pesticide, le dernier disque est remplacé par une goutte d'eau distillée stérile (figure3). L'expérience a été réalisée en triplicata.

Après incubation à 28°C pendant 10 jours, la sensibilité des souches aux différents pesticides est déterminée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

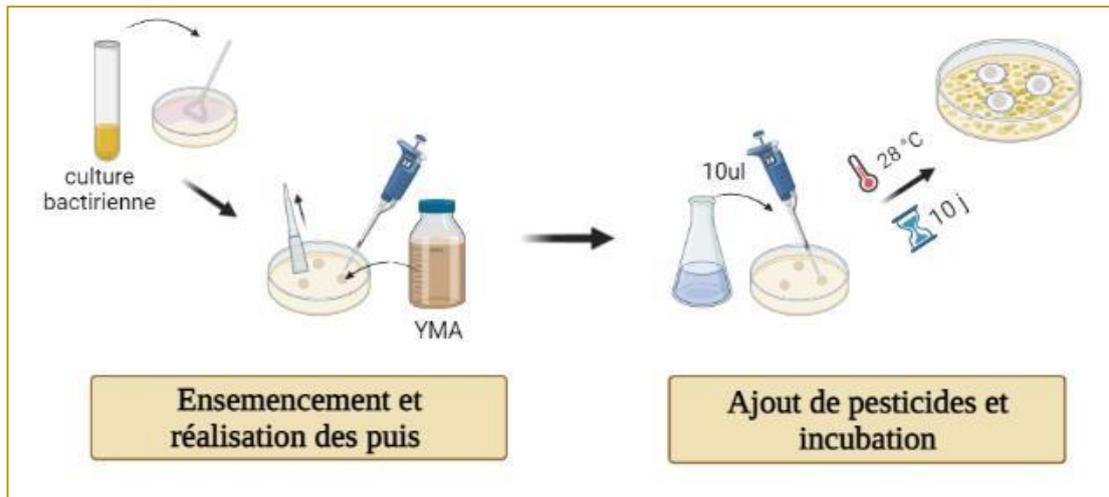


Figure 04 : Evaluation de la toxicité de pesticides sur les *Bradyrhizobium*

IV- Evaluation de la capacité des *Bradyrhizobium* à dégrader les pesticides

Afin d'évaluer la biodégradabilité des pesticides par nos souches, un test a été réalisé sur milieu YMB modifié (Annexe1) où le mannitol est remplacé par les différents pesticides à tester et l'extrait de levure par NH_4Cl .

Des tubes contenant 5 ml des milieux préparés ont été inoculés avec 10µl des suspensions bactériennes, trois répétitions ont été faites pour chaque souche et chaque pesticide en plus d'un témoin (figure4).

La densité optique a été mesurée avant et après incubation des tubes à 28°C pendant 6 jours pour estimer la croissance des différentes souches en présence de pesticides.

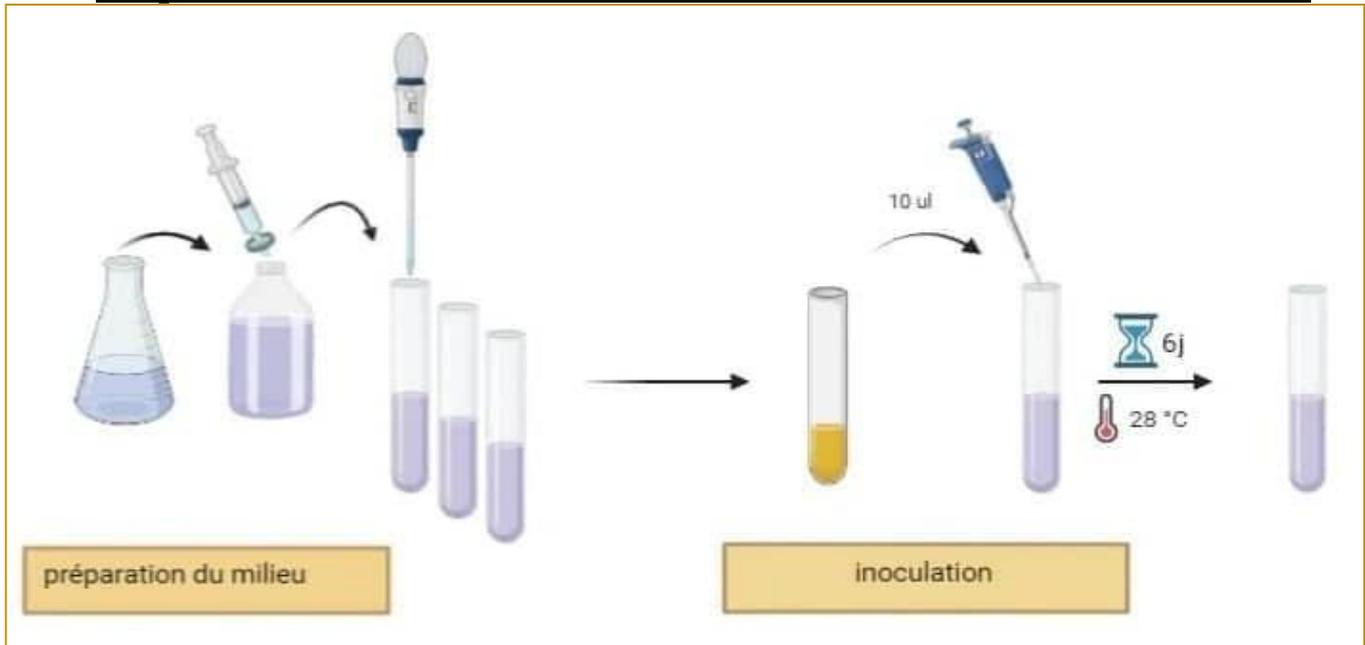


Figure 05 : Evaluation de la capacité des *Bradyrhizobium* à dégrader les pesticides

I- L'effet des pesticides sur la croissance des souches « *Bradyrhizobium* »

Cette étude a permis de déduire les concentrations des pesticides que les souches tolèrent, les molécules testées sont : insecticide(OBERON), herbicide (TILLER), fongicide (SCORE).

Il a été noté que la croissance diffère en fonction de la souche, du pesticide et de la concentration considérée. Nos résultats sont illustrés dans le tableau VI.

En effet, une bonne croissance dans le cas de l'insecticide (OBERON) a été enregistré chez les souches « csa112, csa208 et la csa236 » en présence de 1000µg/ml. En revanche, les souches « css381et css354 » présente une croissance de 700µg/ml. Au-delà de 900µg/ml la souche csa207 est complètement inhibée.

Pour le fongicide (SCORE) on observe une absence de croissance chez la csa381 qui ne se manifeste même pas à la plus faible concentration à savoir 100µg/ml. En contrepartie, la csa354 se développe à la concentration 100µg/ml. Cependant, les souches « csa112, csa207, csa208, csa236 »se développent de 700à 1000µg/ml.

En ce qui concerne l'herbicide (TILLER) les souches « css381et csa207 » marquent l'exception avec une tolérance à une concentration inférieure à 900 µg/ml de ce pesticide au moment où les souches « csa112 et la css354 » persistent à 1000µg/ml. Toutefois, la csa236 et csa208 se développent respectivement à 600µg/ml et 800µg/ml.

Les résultats du test de croissance sont enregistrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI : Croissance des souches de *Bradyrhizobium* étudiées en présence de différentes concentrations en pesticide.

	Souches	Csa112	Csa207	Csa208	csa236	Css354	Css381
	[C] (µg/ml)						
Insecticide OBERON	0	+	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+	+
	200	+	+	+	+	+	+
	300	+	+	+	+	+	+
	400	+	+	+	+	+	+
	500	+	+	+	+	+	+
	600	+	+	+	+	+	+
	700	+	+	+	+	+	-
	800	+	+	+	+	-	-
	900	+	+	+	+	-	-
	1000	+	-	+	+	-	-
Fongicide SCORE	0	+	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+	-
	200	+	+	+	+	-	-
	300	+	+	+	+	-	-
	400	+	+	+	+	-	-
	500	+	+	+	+	-	-
	600	+	+	+	+	-	-
	700	+	-	-	+	-	-
	800	-	-	-	+	-	-
	900	-	-	-	-	-	-
	1000	-	-	-	-	-	-
Herbicide TILLER	0	+	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+	+
	200	+	+	+	+	+	+
	300	+	+	+	+	+	+
	400	+	+	+	+	+	+
	500	+	+	+	+	+	+
	600	+	+	+	-	+	+
	700	+	+	+	-	+	+
	800	+	+	-	-	+	+
	900	+	-	-	-	+	-
	1000	+	-	-	-	+	-

(+) : croissance ; (-) : pas de croissance

II- Détermination des concentrations minimales inhibitrices

Les réponses des souches aux différentes concentrations en pesticide sont diverses d'après les résultats de notre test. (Tableau V)

Le maximum de résistance est observé dans le cas de l'insecticide OBERON où la moitié des souches possèdent des CMI supérieures à 1000 μ g/ml ce qui signifie qu'elles continuent à croître dans des concentrations importantes de ce pesticide, à l'exception des souches csa207, css354 et css381.

En outre, ces souches présentent des CMI qui varient de 100 à 1000 μ g/ml vis-à-vis du fongicide SCORE.

Les résultats trouvés dans le cas de l'herbicide TILLER montrent que les souches étudiées tolèrent la présence de ce pesticide tenant compte que leurs CMI varient de 600 à 1000 μ g/ml.

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V : Concentrations minimales inhibitrices en μ g/ml des souches des *Bradyrhizobium vis-à-vis* les pesticides.

[C](μ g/ml) Souches	OBERON	SCORE	TILLER
csa112	>1000	800	>1000
csa207	1000	700	900
csa208	>1000	700	800
csa236	>1000	900	600
css354	800	200	>1000
css381	700	<100	900

Une bonne croissance des souches *Bradyrhizobium* étudiées a été constatée dans le cas d'insecticide OBERON. En effet, on a remarqué que la moitié des souches continuent leur croissance à des concentrations supérieures à 1000 μ g/ml. Les souches css381 et css354 sont inhibées à des CMI respectives de 700 et 800 μ g/ml. La csa207 présente une CMI de 1000 μ g/ml.

On déduit que cette forte tolérance à des concentrations élevées de l'insecticide est due au fait que ce pesticide n'exerce pas d'effet toxique sur la croissance des souches « csa207, csa208, csa112, et la csa236 ». Le reste des souches montrent une moins forte tolérance qui

peut être causé par l'action des extraits toxiques du pesticide.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par (Hadroug and Ramdani, 2017) ont montré que les souches *Rhizobium* ont une croissance élevée en présence de l'insecticide DURSBAN (100% des souches tolèrent 900µg/ml).

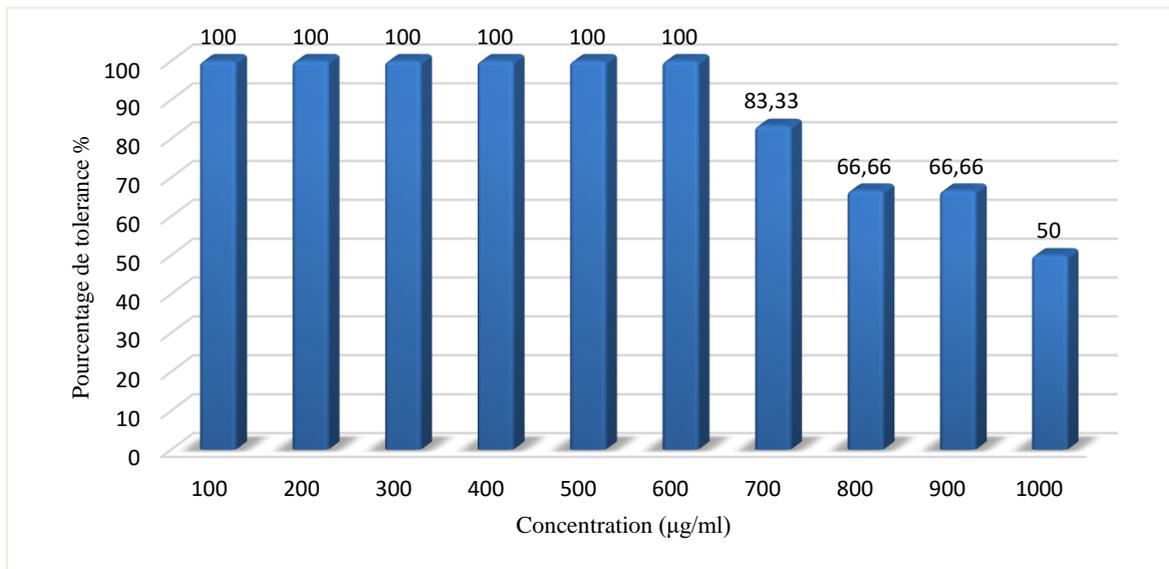


Figure 06 : Taux de tolérance des souches de *Bradyrhizobium* a l'insecticide OBERON

Les souches testées présentent des concentrations minimales inhibitrices comprises entre 100 et 900µg/ml vis-à-vis du fongicide SCORE. A une concentration de 100µg/ml, les souches se manifestent à un pourcentage de 83.33%.

Plus que la moitié (66.66%) des souches tolèrent des concentrations de l'intervalle de 200 à 600 µg/ml et la moitié (50%) de ces souches poussent à des concentrations de 700 µg/ml. Ces souches testées présentent un taux de tolérance de (33.33%) à la concentration 800µg/ml.

Un taux de (16.66%) des souches tolèrent la concentration de 900µg/ml. Aucune souche ne résiste aux concentrations les plus élevées.

Les résultats du test qui consiste à définir l'action du fongicide (CAPTAN) sur des souches des *Rhizobium* réalisé par (Mohamed Ahmed T. et al., 2007) rapportent que leur CMI ne dépassent pas 0.5µg/ml ce qui fait que nos résultats sont largement plus importants que les leurs.

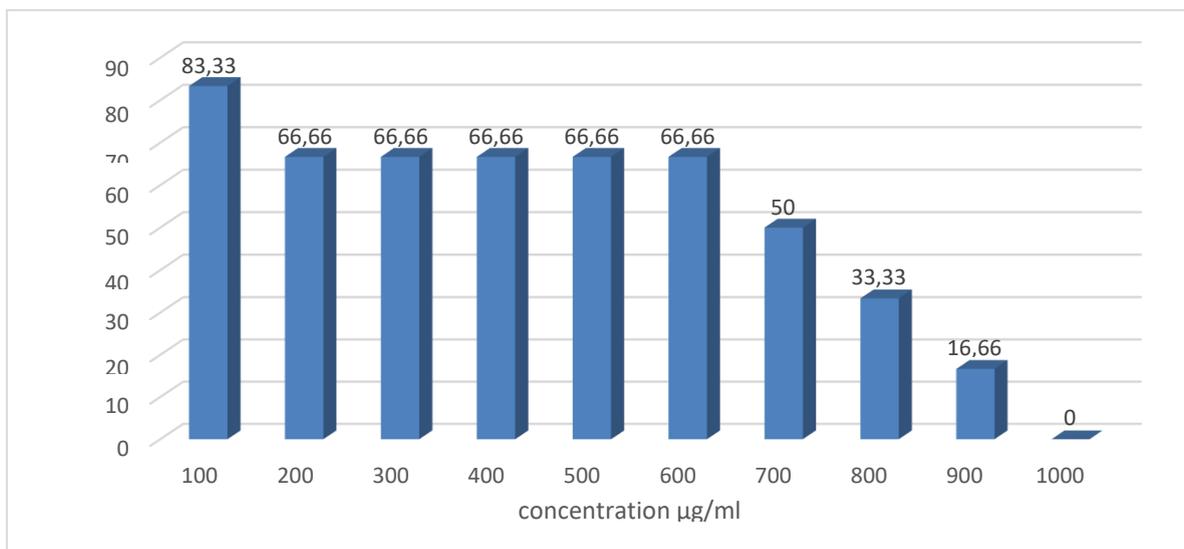


Figure 07 : Taux de tolérance des souches de *Bradyrhizobium* au fongicide SCORE

Toutes les souches (100%) tolèrent des concentrations allant de 100-500 µg/ml. Un pourcentage élevé (83.33%) est marqué par les concentrations 600 et 700µg/ml. Un taux de (66.66%) des souches présente une CMI de 800µg/ml. Les souches présentent un taux de tolérance de (33.33%) en présence de l’herbicide TILLER aux concentrations de 900 et 1000µg/ml.

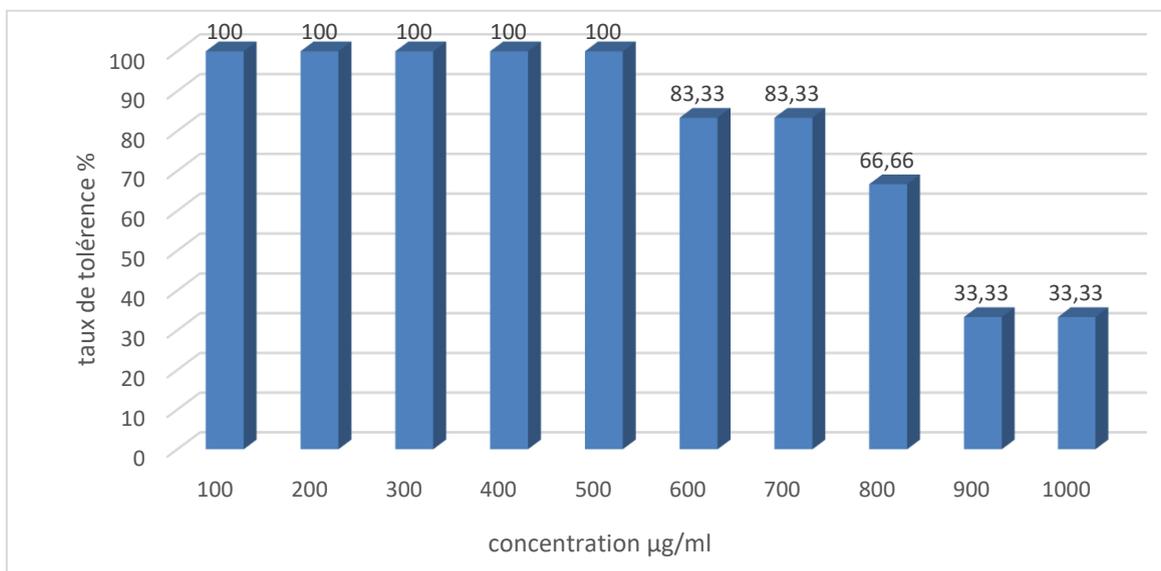


Figure 08 : Taux de tolérance des souches de *Bradyrhizobium* a l’herbicide TILLER

Comparant aux résultats obtenus par (Sellami, 2003) en étudiant l'effet de 17 pesticides (8 herbicides) sur 122 souches a démontré que l'herbicide LINURON présente 450µg/ml

III- Evaluation de la toxicité de pesticides *vis-à-vis* des *Bradyrhizobium*

L'étude de sensibilité des souches de *Bradyrhizobium* vis-à-vis des différents pesticides permet d'évaluer leur toxicité (Tableau VI).

A une concentration de 100µg/ml aucune inhibition n'est observée sur toutes les souches traitées par aucun des différents pesticides utilisés.

A une concentration de 800µg/ml toutes les souches présentent des sensibilités variables en fonction de la souche et du pesticide appliqué.

Les résultats de ce test sont interprétés dans le tableau suivant :

Tableau VI: Les diamètres des zones d'inhibition en (mm) des différentes souches de *Bradyrhizobium*

Souches	csa112	csa207	csa208	csa236	css354	css381
Pesticide						
Témoin	0	0	0	0	0	0
OBERON	12	12	12	12	14	18
SCORE	15	16	16	14	21	24
TILLER	14	14	14	16	20	18

Les souches csa112, csa208, csa207 et csa236 montre une sensibilité à la concentration 800µg/ml de l'insecticide OBERON. Elles présentent des zones d'inhibition avec un diamètre de 12 mm.

Les souches css354 et css381 sont plus sensibles, le diamètre de leurs zones d'inhibition par ordre respectif est 14 et 18mm.

La sensibilité des souches traitées est due à l'inhibition de leur croissance par cette concentration du pesticide ce qui implique qu'à une concentration de 800µg/ml de

l'insecticide OBERON les différentes souches sont inhibées. Et à cette concentration ce dernier a un effet nuisible sur ces souches.

Nos résultats sont semblables aux résultats de (Sellami, 2003) qui ont montré que parmi les 5 insecticides utilisés, seule la concentration la plus élevée en CARBARYL qui a affecté (inhibé) 15% de la collection étudiée à une concentration de 45µg/disque.

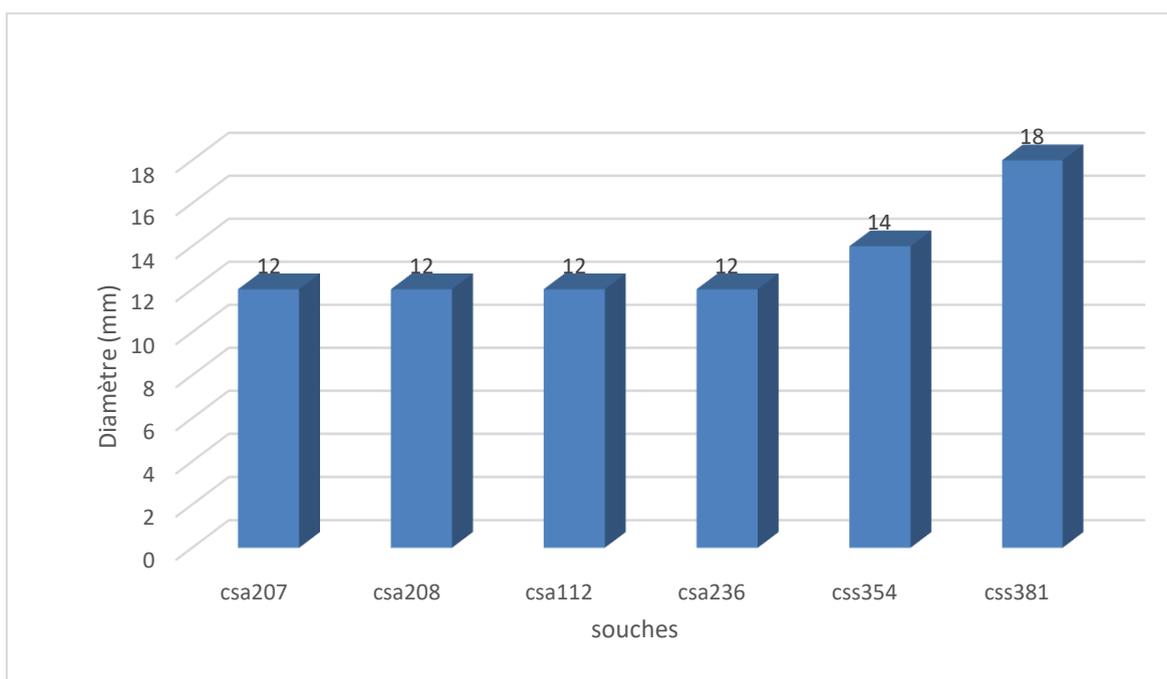


Figure 09 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches *Bradyrhizobium vis-à-vis* de l'insecticide OBERON

On constate que les diamètres de zones d'inhibition des souches vis à vis de l'herbicide TILLER varient entre 12 à 20 mm.

L'ensemble des souches *Bradyrhizobium* étudiées montre une sensibilité à cet herbicide, on remarque que la souche css354 se montre la plus sensible à la concentration 800µg/ml de TILLER cela implique que cette souche ne s'est pas adaptée à cette concentration et que cet herbicide a une action toxique sur elle en inhibant sa croissance.

La sensibilité du reste des souches est peut-être induite par l'action nocive de ce pesticide affectant pratiquement toutes les souches.

Ces résultats sont comparables à ceux de (Sellami *et.,al*) qui ont rapporté que les herbicides ATRAZINE et PARAQUAT ont inhibé respectivement la croissance de 0.8% et 2.5% de la collection étudiée à une concentration de 450µg/disque.

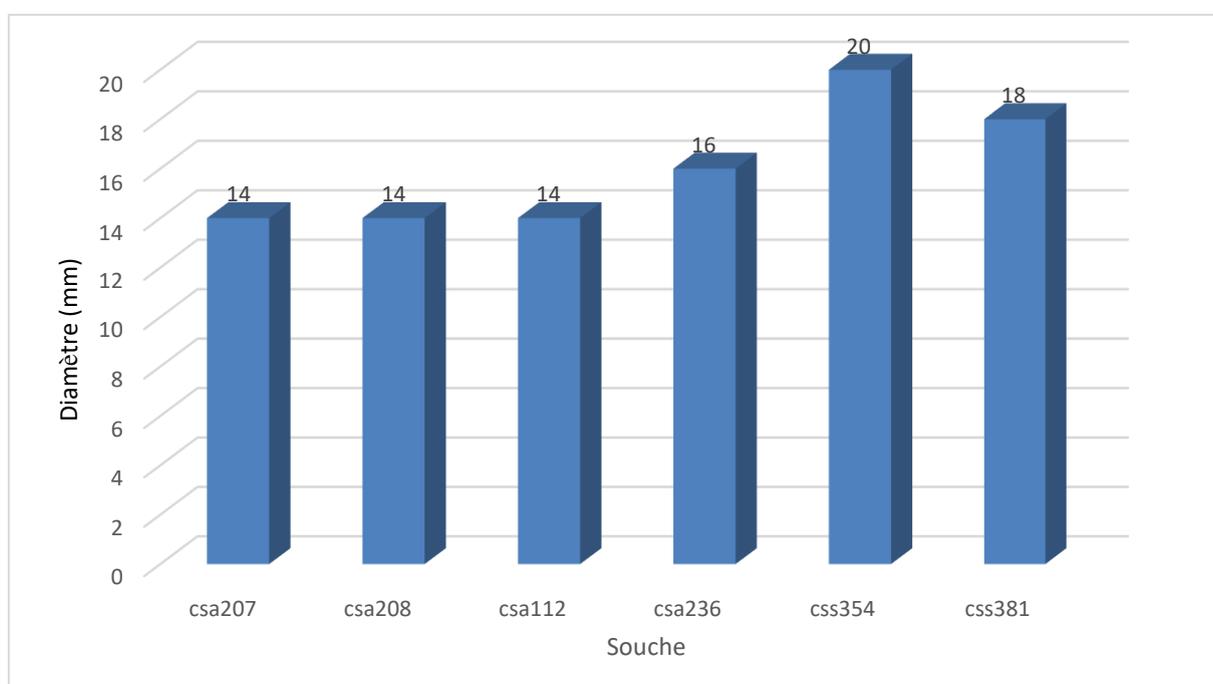


Figure 10 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches *Bradyrhizobium* vis-à-vis de l'herbicide TILLER

Toutes les souches montrent une forte sensibilité vis-à-vis de ce fongicide. On remarque que les diamètres des zones d'inhibition varient de 14 à 24mm. La souche css381 est la plus inhibé par ce pesticide c'est la plus sensible après la css354 qui a des diamètres de 24 et 21mm respectivement.

L'ensemble des souches signale une sévère sensibilité vis-à-vis de la concentration 800µg/ml du fongicide SCORE, ces souches ne sont plus capables de croitre elles étaient inhibées par cette concentration du fongicide qui présente un effet toxique sur leur croissance. Il s'avère que le fongicide SCORE est le plus toxique des pesticides utilisés.

Ces résultats sont comparables a ceux de (Sellami, 2003) qui ont mené une étude sur 122 souches de *Rhizobium* ils ont démontré qu'une concentration de 45µg/ml des fongicides testés ont inhibé 95% des souches étudiées.

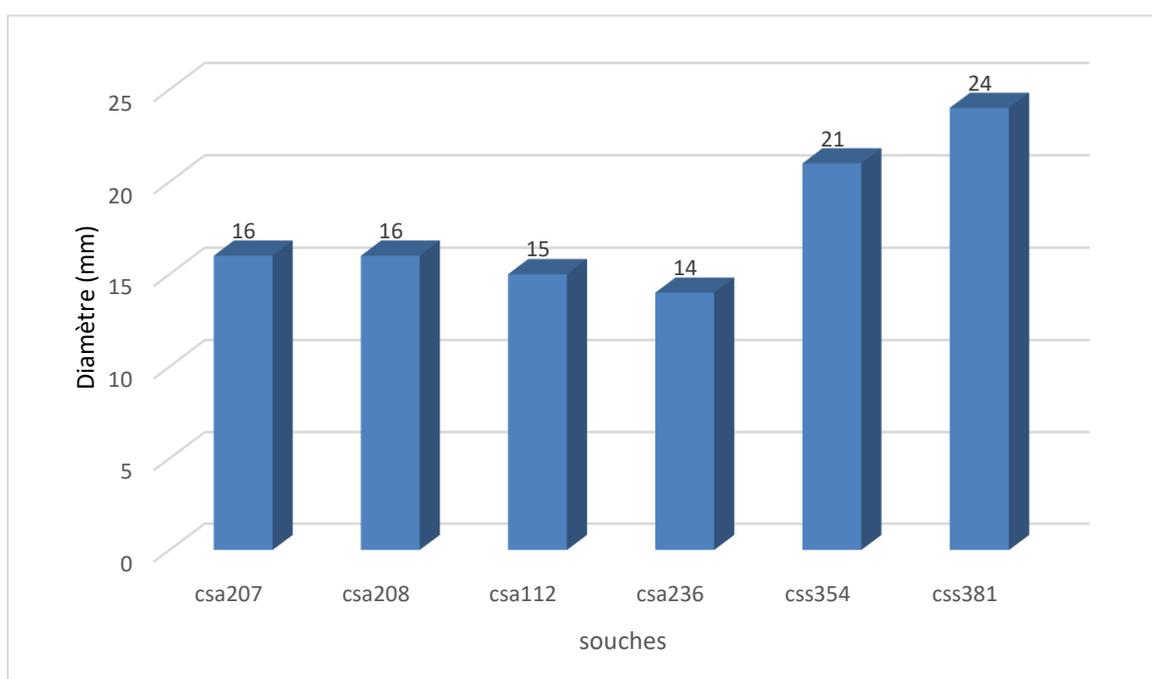


Figure 11 : Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches *Bradyrhizobium* vis-à-vis du fongicide SCORE.

IV- Evaluation de la capacité des *Bradyrhizobium* à dégrader les pesticides

Ce test a permis d'identifier les souches de *Bradyrhizobium* qui sont capables de dégrader les différents pesticides et de les utiliser comme substrat carboné.

D'après les résultats présentés dans l'histogramme (Figure 11) ci-dessous on remarque que :

Pour l'insecticide OBERON :

La croissance de « csa207, csa236, csa208, css354 et css381 » en présence de ce pesticide est presque équivalente à celle enregistrée en son absence. Remarquablement, la croissance de la souche « csa112 » en présence de cet insecticide est plus élevée par rapport à celle enregistrée en son absence, ces souches sont donc capables d'utiliser cet insecticide comme source de carbone voire favorise leur croissance.

Concernant l'herbicide TILLER :

On a observé que la majorité des souches notamment « csa207, csa208, csa236, css381, css354 » en présence de TILLER montrent des D.O. inférieurs à celles enregistrées chez les témoins. A l'exception de la souche csa112 qui a une croissance beaucoup plus considérable relativement à celle du témoin. De là, on déduit que : uniquement la souche csa112 est capable de dégrader cet herbicide et de l'utiliser comme source de carbone.

A propos du fongicide SCORE :

On constate que toutes les souches ont une faible croissance en présence du fongicide SCORE testé à l'exception de la souche csa112 qui présente une croissance relativement similaire à celle du témoin expliqué par la capacité de cette souche à dégrader cette molécule.

Ces résultats sont compatibles avec les résultats obtenus par (Umamaheswari et al., 2013) qui ont démontré que la dégradation de l'insecticide Endosulfan pourrait être accompli par les quelques souche d'*Acinetobacter* et quelques bactéries du sol.

Contrairement à l'insecticide OBERON, les souches étudiées semblent incapables d'assimiler le fongicide SCORE et de l'herbicide TILLER. Ces dernières ont de faibles croissances en présence de ce pesticide.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par (Bhattacharyya and Jha, 2012) qui ont déduit que les pesticides incorporés fournissent une faible concentration de nutriments et pourraient être utilisés comme substrat secondaire par les souches PGPR.

Les résultats obtenus par (Sellami, 2003) sont différents des résultats obtenus dans cette étude. En effet, leurs résultats stipulent que les souches traitées se sont adaptées aux différentes concentrations de l'herbicide et ils ont déclaré la possibilité de dégradation de l'herbicide ATRAZINE plus encore tous les pesticides du groupe chimique des triazines par ces souches.

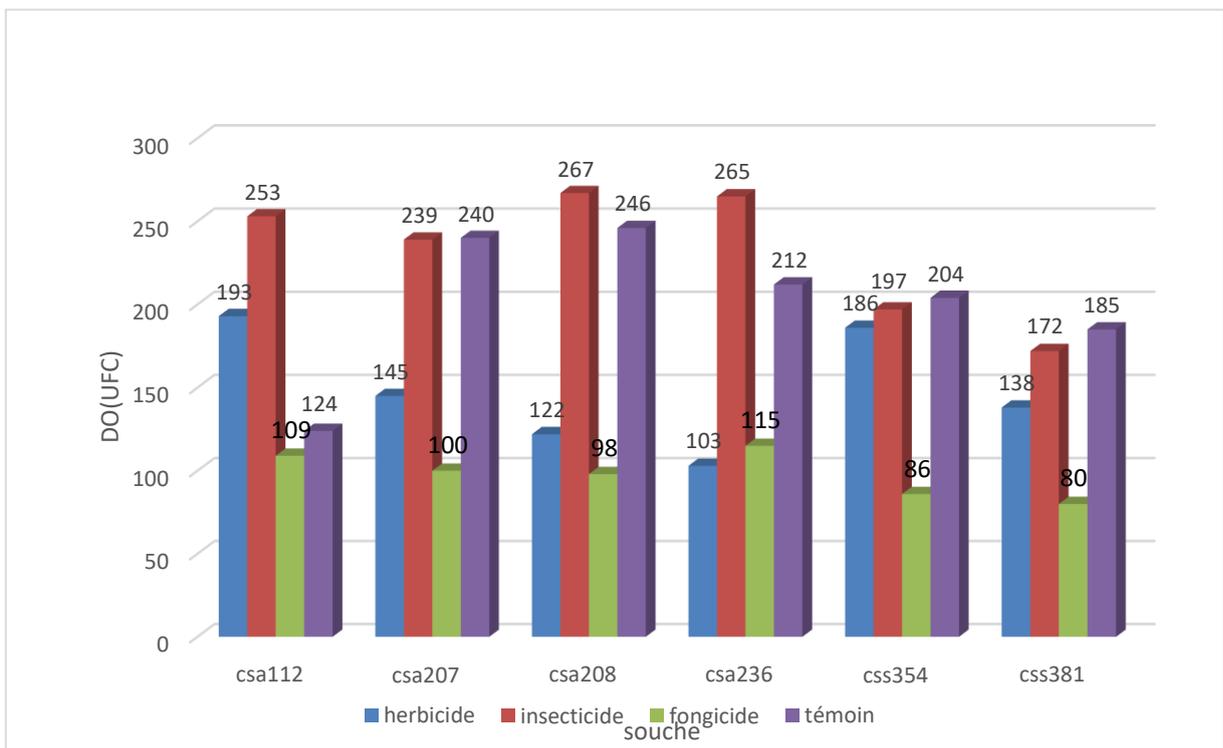


Figure 12 : Evolution de la croissance des différentes souches en présence des différents pesticides.

Dans notre étude nous nous sommes intéressées à définir l'influences de trois (03) différents pesticides (Insecticide OBERON, un herbicide TILLER, et un fongicide SCORE) sur la croissance de six (06) souches de *Bradyrhizobium*.

Le test de croissance réalisé a permis de déduire qu'en présence de différentes concentrations de pesticide les souches *Bradyrhizobium* testées présentent des tolérances diversifiées vis-à-vis d'OBERON, SCORE et TILLER, toutefois, leur CMI sont 1000µg/ml, 900µg/ml, 1000µg/ml respectivement. Les souches *Bradyrhizobium* utilisées montrent une résistance intermédiaire à la concentration élevée de l'insecticide OBERON qui a marqué un taux de tolérance de 50%, en outre, le fongicide SCORE n'est toléré par aucune des souches (0%), et l'herbicide TILLER avec un pourcentage de 33.33%.

L'évaluation de toxicité des pesticides à deux concentrations différentes a conclu qu'à la concentration de 100µg/ml aucune souche n'est inhibé par l'action d'aucun des trois pesticides, les diamètres de zones d'inhibition sont de 00mm ce qui veut dire que les souches utilisées résistent à cette concentration en pesticide. En ce qui concerne la concentration 800µg/ml de l'insecticide OBERON on a constaté une sensibilité pratiquement chez toutes les souches, la csa208, csa207, csa236 et la csa112 ont formé des diamètres de 12mm. Le plus grand diamètre est présenté par la csa354 (20mm) pour l'herbicide TILLER, cependant, une forte sensibilité s'est avérée chez le fongicide SCORE, la css381 et la css354 sont les plus sensibles avec des zones de diamètre de 24 et 21mm respectivement. On a remarqué que le fongicide SCORE est le pesticide le plus toxique.

La biodégradabilité de l'insecticide est assurée par la majorité des souches *Bradyrhizobium* testées ce dernier est préalablement envisageable à utiliser comme un substrat carboné. En revanche ces souches n'ont pas été capables de dégrader le fongicide, seule la csa112 semble fortement capable d'utiliser l'herbicide comme source de carbone afin de s'alimenter et continuer à croître en sa présence.

On conclut d'après les résultats de cette étude que les souches qui montrent une forte croissance et qui s'adaptent à des concentrations données de pesticide peuvent être utilisées dans des zones agricoles pour renforcer leur rendement et leur récoltes.

Nous tenons à émettre quelques perspectives importantes :

- Réaliser une étude sur les différents mécanismes par lesquels les *Bradyrhizobium* résistent contre les effets nocifs des pesticides.
- Faire une étude de croissance avec une variété de pesticide

- **Aissaoui, M. (2012).** Chronique d'une famille en souffrance : Comment la résonance est-elle utilisée comme un levier thérapeutique au sein d'une famille bouleversée par l'autonomisation d'une adolescente aux prises avec deux cultures ? *Thérapie Familiale* Vol. 33, 263–277. doi: 10.3917/TF.123.0263.
- **Alexander, M. (1981).** Biodegradation of Chemicals of Environmental Concern. *Science* 211, 132–138. doi: 10.1126/science.7444456.
- **Almeida-González, M., Luzardo, O. P., Zumbado, M., Rodríguez-Hernández, Á., Ruiz- Suárez, N., Sangil, M., et al. (2012).** Levels of organochlorine contaminants in organic and conventional cheeses and their impact on the health of consumers: An independent study in the Canary Islands (Spain). *Food and Chemical Toxicology* 50, 4325–4332. doi: 10.1016/j.fct.2012.08.058.
- **Andreu, V., and Picó, Y. (2004).** Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 23, 772–789. doi: 10.1016/j.trac.2004.07.008.

• B

- **Belmechel, Nefouci and D. Encadreur Nemmiche.** " Effets des traitements pesticides sur les composés phénoliques de la pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum* Var *Sylvana*)".2019.
- **Ben aoun, R., and Latrache, H. (2020).** raisonnement de l'usage des pesticides sur la culture de pomme de terre dans la région du souf. 59.
- **Besse-Hoggan, P., Alekseeva, T., Sancelme, M., Delort, A.-M., and Forano, C. (2009).** Atrazine biodegradation modulated by clays and clay/humic acid complexes. *Environ Pollut* 157, 2837–2844. doi: 10.1016/j.envpol.2009.04.005.
- **Bhattacharyya, P. N., and Jha, D. K. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28, 1327–1350. doi: 10.1007/s11274-011-0979-9.
- **Birraux, M. C., Étienne, M. J.-C., Gatignol, M. C., Lasbordes, M. P., Déaut, M. J.-Y. L., Gaudin, M. C., et al. (2010).** Composition de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. 262.
- **Boada, L. D., Henríquez-Hernández, L. A., Zumbado, M., Almeida-González, M., Álvarez- León, E. E., Navarro, P., et al. (2016).** Organochlorine Pesticides Exposure and Bladder Cancer: Evaluation from a Gene-Environment Perspective in a Hospital-Based Case-Control Study in the Canary Islands (Spain). *Journal of Agromedicine* 21, 34–42. doi: 10.1080/1059924X.2015.1106374.

- **Bonnefoy N.,(2012).** Au Nom De La Mission Commune D'information Sur Les Pesticides et Leur Impact Sur La Santé Et L'environnement, Rapport D'information, N°42
- **Bortoli, S., and Coumoul, X. (2018).** Impact des pesticides sur la santé humaine. *Pratiques en nutrition* 14, 18–24. doi:10.1016/j.pranut.2017.12.005.

• C

- **Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P., Coquet Y.,(2005).** Les Pesticides Dans Le Sol - Conséquences Agronomiques et Environnementales: Dégradation de Pesticide P :255-261, Editions France Agricole
- **Chubilleau, C., Lenoir, B., Candolfi, C., Masschelein, P., Dauscher, A., and Claude, G. (2014).** Thermoelectric properties of In_{0.2}Co₄Sb₁₂ skutterudites with embedded PbTe or ZnO nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds* 589, 513–523. doi: 10.1016/j.jallcom.2013.11.204.
- **Craaq ,(2016).** Utilisation rationnelle et sécuritaire des pesticides. Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ) .
- **Cycoń, M., Wójcik, M., and 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, 494–501. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.03.023.

• D

- **Dai, J., Liu, X., and Wang, Y. (2012).** Genetic diversity and phylogeny of rhizobia isolated from *Caragana microphylla* growing in desert soil in Ningxia, China. *Genet. Mol. Res.* 11, 2683–2693. doi: 10.4238/2012.June.25.5.
- **Duval, M. (2009).** L'histoire des phytosanitaires de l'origine à 2030. 64.

• E

- **EL-Nahhal, Y., Kerkez, S. M. F., and Heen, Z. A. (2015).** Toxicity of Diuron, Diquat and Terbutryn to Cyanobacterial Mats. *EEC* 10, 71–82. doi: 10.5132/eec.2015.01.11.

• F

- **Fenner, K., Canonica, S., Wackett, L. P., and Elsner, M. (2013).** Evaluating Pesticide Degradation in the Environment: Blind Spots and Emerging Opportunities. *Science* 341, 752–758. doi: 10.1126/science.1236281.

• G

- **Giroux, I. (2004).** La présence de pesticides dans l'eau en milieu agricole au Québec. 46.
- **Grébil, G., Novak, S., Perrin-Ganier, C., and Schiavon, M. (2001).** La dissipation des produits phytosanitaires appliqués au sol. 14.

• H

- **Hadroug, Hayat, Tinhinane Ramdani, and D. Encadreur Belhadi.** "Influence des pesticides sur la croissance des *Rizobium*." (2017).
- **Huang, Y., Shi, X., Li, Z., Shen, Y., Shi, X., Wang, L., et al. (2018).** Possible association of Firmicutes in the gut microbiota of patients with major depressive disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat* 14, 3329–3337. doi: 10.2147/NDT.S188340.

• L

- **Laura, Ma., Snchez-Salinas, E., Olvera-Velona, A., and Luis, J. (2011).** "Pesticides in the Environment: Impacts and its Biodegradation as a Strategy for Residues Treatment," in *Pesticides - Formulations, Effects, Fate*, ed. M. Stoytcheva (InTech). doi: 10.5772/13534.
- **Lucas, N., Bienaime, C., Belloy, C., Queneudec, M., Silvestre, F., and Nava-Saucedo, J.-E. (2008).** Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. *Chemosphere* 73, 429–442. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.06

• M

- **Mohamed Ahmed T., H., Elsiddig A. E. Elsheikh, and Mahdi, A. A. (2007).** The in vitro compatibility of some *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* strains with Fungicides. doi: 10.13140/2.1.3933.9208.
- **Masson-Boivin C., Giraud E., Perret X. & Batut J. (2009).** Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? *Trends Microbiol*, 17: 458–466.

• R

- **Ramirez, R., Restrepo, L., Perez, C., and Jimenez, A. (2019).** “Physical, Chemical and Processing Postharvest Technologies in Strawberry,” in *Strawberry - Pre- and Post-Harvest Management Techniques for Higher Fruit Quality*, eds. T. Asao and M. Asaduzzaman (IntechOpen). doi: 10.5772/intechopen.83575.
- **Rao, S. C., Northup, B. K., Phillips, W. A., and Mayeux, H. S. (2007).** Interseeding Novel Cool-Season Annual Legumes to Improve Bermudagrass Paddocks. *Crop Sci.* 47, 168–173.

• S

- **SBoukecha, D., Laouar, M., Hanifi, L., and Harek, D. (2017).** Drought tolerance in some populations of grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *legumeresearch-an international journal* 41. doi: 10.18805/lr-346.
- **Sellami, Moëz.** Effets des pesticides sur la croissance bactérienne des Rhizobia. Université Laval, 2003.
- **Singh, B. K., and Walker, A. (2006).** Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiol Rev* 30, 428–471. doi: 10.1111/j.1574-6976.2006.00018.x. doi: 10.2135/cropsci2006.02.0088.

• T

- **Teng, Y., Wang, X., Li, L., Li, Z., and Luo, Y. (2015).** Rhizobia and their bio-partners as novel drivers for functional remediation in contaminated soils. *Front. Plant Sci.* 6. doi: 10.3389/fpls.2015.00032.
- **Terziev, V., and Petkova Georgieva, S. (2019).** the pesticide toxic impact on the human health condition and the ecosystem. *ijasos* 5, 1314–1320 doi: 10.18769/ijasos.592098.

• U

- **Umamaheswari, S., Palanimanickam, A., and Sivalingam, G. (2013).** Plasmid mediated endo sulfatase degradation by *Bacillus ciradans* and *Acinetobacter* species. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research* 3, 15–20.

• V

- **Van Eerd, L. L., Hoagland, R. E., Zablotowicz, R. M., and Hall, J. C. (2003).** Pesticide metabolism in plants and microorganisms. *Weed Science* 51, 472–495. doi: 10.1614/0043-1745(2003)051[0472:PMIPAM]2.0.CO;2.

• Y

- **Yuan, K., Reckling, M., Ramirez, M. D. A., Djedidi, S., Fukuhara, I., Ohyama, T., et al.(2020).** Characterization of Rhizobia for the Improvement of Soybean Cultivation at ColdConditionsinCentralEurope.*Microb.Environ.* 35, n/a.doi: 10.1264/jsme2.ME19124.

Annexe 1 : Milieu de culture**Milieu YMA (Yeast mannitol agar) (g/l)**

Mannitol	10g
Extrait de levure	0.4g
K ₂ HPO ₄	0.5g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	0.2g
Na Cl	0.1g
Agar Agar.....	18g
Eau distillée	1000ml

PH= 6,8

Autoclavage 120°C pendant 20minutes

Milieu YMB (Yeast mannitol broth) (g/l)

Mannitol	0.4g
Extrait de levure.....	0.9 g
K ₂ HPO ₄	0.5g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	0.2g
NaCl.....	0.1g
Eau distillée	1000ml

PH= 6,8

Autoclavage 120°C pendant 20minutes

Milieu YMB modifié (Yeast mannitol broth) (g/l)

NH ₄ Cl	10g
K ₂ HPO ₄	0.5g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.2g
NaCl.....	0.1g
Eau distillée	1000ml

PH= 6,8

Autoclavage 120°C pendant 20minutes

- Après autoclavage on rajoute des volumes bien définis des différents pesticides (Insecticide,Herbicide,Fongicide)

Eau physiologique (g/l)

NaCl.....	9g
Eau distillée	1000ml

PH= 7

Autoclavage 120°C pendant 20minutes

Annexe 3 : Les densités optiques

Tableau1: Densité optique (DO) des différentes souches (Témoin)

Les souches	Csa112	Csa207	Csa208	Csa236	Css354	Css381
DO(UFC)	124	240	246	212	204	185

Tableau 2 : La densité optique de différentes souches vis-à-vis les trois pesticides utilisés.

Pesticides	Insecticide	Herbicide	Fongicide
Souche			
BJ	0.178	0.108	0.303
csa207	0.239	0.193	0.100
csa208	0.267	0.145	0.98
csa112	0.253	0.193	0.109
csa236	0.265	0.103	0.115
css354	0.197	0.189	0.86
csa381	0.172	0.138	0.80

Annexe 4 : Tableau de pourcentage de tolérance

Taux de tolérance des souches de bradyrhizobium au fongicide « SCORE »

Concentration (µg/µl)	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Pourcentage (%)	100	85.72	71.42	71.42	71.42	71.42	71.42	57.14	42.86	28.57	14.28

Taux de tolérance des souches de bradyrhizobium a l'insecticide « OBERON »

Concentration (µg/µl)	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Pourcentage (%)	100	100	100	100	100	100	100	85.72	71.42	85.72	57.14

Taux de tolérance des souches de bradyrhizobium a l'herbicide « TILLER »

Concentration (µg/µl)	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Pourcentage (%)	100	100	100	100	100	100	85.72	85.72	71.42	42.86	42.86

Résumé

Ce travail a été réalisé dans le but de définir les impacts des pesticides sur la croissance de *Bradyrhizobium* et déterminer l'aptitude de ces souches à les décomposer. La majorité des souches ne tolèrent pas les concentrations élevées en effet elles se développent en présence de faibles concentrations en pesticide. L'insecticide OBERON est le pesticide qui a marqué le taux de tolérance le plus élevé (50% des souches se manifestent à la concentration 1000µg/ml de ce pesticide), par contre le fongicide est le pesticide le moins toléré par l'ensemble des souches. La CMI obtenue par l'herbicide varie de 600 à 1000µg/ml. Le test de toxicité a montré que des faibles concentrations en pesticides n'influent pas sur le développement des souches tandis que des concentrations élevées des pesticides inhibent leur croissance et forme des zones d'inhibition de diamètres distincts, en effet le fongicide SCORE est le pesticide le plus nuisible qui freine la croissance d'approximativement toutes les souches.

Le test de biodégradation a montré que les souches étudiées sont capables de dégrader ces pesticides à des proportions différentes. L'insecticide est le pesticide le plus dégradé par les *Bradyrhizobium*.

Les souches csa112, csa207, csa208 et la csa236 présentent les taux de croissance les plus élevés donc ce sont les souches les plus performantes à la dégradation des différents pesticides utilisés.

Mots clés : Impact, croissance , *Bradyrhizobium* , tolérance, toxicité , pesticide , dégradation.

Abstract

This work was carried out in order to define the impacts of pesticides on the growth of *Bradyrhizobium* and to determine the ability of these strains to decompose them. The majority of the strains do not tolerate high concentrations of pesticide; in fact they grow in the presence of low concentrations of pesticide. The insecticide OBERON is the pesticide that has marked the highest tolerance rate (50% of the strains are manifested at the concentration 1000 μ g/ml of this pesticide), on the other hand the fungicide is the pesticide least tolerated by all the strains. The MIC obtained by the herbicide varies from 600 to 1000 μ g/ml. The toxicity test showed that low concentrations of pesticides do not influence the development of the strains while high concentrations of pesticides inhibit their growth and form zones of inhibition of distinct diameters, in fact the fungicide SCORE is the most harmful pesticide which inhibits the growth of approximately all strains.

The biodegradation test showed that the strains studied are able to degrade these pesticides to different extents. Insecticide was the most degraded pesticide by *Bradyrhizobium*.

The strains csa112, csa207, csa208 and csa236 show the highest growth rates and are therefore the most efficient strains for the degradation of the different pesticides used.

Key words: Impacts, growth, *Bradyrhizobium*, tolerance, toxicity, pesticide, biodegradation.