



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة غرداية

Université de Ghardaïa

كلية علوم الطبيعة و الحياة و علوم الأرض

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

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

*N° d'enregistrement*

## THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle LMD

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences biologiques

Spécialité: Ecologie saharienne

# Etude de la biodégradation de quelques pesticides par des bactéries isolées de différentes niches écologiques de la wilaya de ouargla

Soutenue publiquement le:.. / .. / ....

Par

**ALOUI Nabiha**

Devant le jury composé de:

<b>BOURAS Nouredine</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ.Ghardaia</b>	<b>Président</b>
<b>OULED-HADDAR Houria</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ.Jijel</b>	<b>Directrice de thèse</b>
<b>BESSATI Samia</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ.Ouargla</b>	<b>Codirectrice de thèse</b>
<b>KHELIL Aminata</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ.Ouargla</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>KEMASSI Abdellah</b>	<b>M.C.A</b>	<b>Univ.Ghardaia</b>	<b>Examineur</b>

Année universitaire: 2019 /2020

## *Remerciements*

*J'exprime mes profonds remerciements à ma directrice de thèse, Madame Ouled Haddar Houria épouse Sifour, professeur en biologie moléculaire pour son encadrement, ses conseils avisés, pour sa disponibilité et ses encouragements. Je tiens à remercier également Madame Bisati Samia professeur en biologie pour avoir accepté de me co-encadrer, pour son soutien et son aide durant tout mon parcours universitaire. Je tiens à remercier aussi le professeur Bouras Noureddine pour avoir accepté de juger ce travail et pour l'insigne honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de ma thèse. Je remercie également Madame Khelil Amina professeur à l'université Ouargla de me faire l'honneur d'accepter d'être rapporteur de mon travail, ainsi que le docteur Kemassi Abdellah d'accepter d'être faire partie du jury et d'accepter de juger mon travail. Qu'ils soient sincèrement tous en remerciés.*

*Mes sincères et grands remerciements vont aussi au professeur Segni Ladjel directeur de laboratoire des génies des procédés, pour sa disponibilité dans les moments difficiles, pour son aide et ses conseils.*

*Je remercie aussi le Professeur Msettfa Amar qui a accepté de m'accueillir au sein de son laboratoire génie des eaux et de l'environnement des milieux sahariens, Unité de recherche microbiologie. Je voudrais adresser mes remerciements chaleureux au Professeur Lanez Touhami Directeur de Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes de l'université d'Eloued, de m'accueillir et de mettre à ma disposition tous les moyens nécessaires pour effectuer l'analyse chromatographique de haute performance, un*

*merci pour le docteur Rebia Abdelkrim de m'aider et d'accepter de travailler avec moi pendant la période des vacances. Sans oublier de remercier le professeur Sifour Mohamed, directeur du laboratoire moléculaire de toxicologie à l'université de jijel pour ses conseils, Je suis très reconnaissant également au Docteur Kraïmat Mohamed enseignant des biostates de l'Université de Gardaïa, de m'avoir réalisé l'étude statistique ainsi que pour ses précieux conseils. Je remercie aussi le technicien du laboratoire de Génie des eaux et de l'environnement des milieux sahariens pour sa disponibilité.*

*Sans oublier mes amis es particulièrement Siham, Nawel, Ouiza et Hakim d'etres là pour moi à tout moment.*

*Et en fin une pensée particulière pour mes chers et adorables enfants, Ilyes, Akram et Mohamed Aymen, de me supporter pendant les moments difficiles.*

*DÉDICACE*

*A LA MÉMOIRE*

*DE MON PÈRE*

## Sommaire

Remerciements .....	I
DÉDICACE.....	III
Valorisations .....	XIII
Résumé .....	XV
Liste des abréviations .....	XVIII
Introduction Générale .....	1
Synthèse bibliographique.....	6
1.Généralités sur les pesticides .....	6
1.1. Définition d'un pesticide .....	6
1.2.Composition et formulation .....	6
1.3. Classification des pesticides.....	7
- Les pesticides inorganiques .....	7
- Les pesticides organo-métalliques.....	7
- Les pesticides organiques .....	7
- Les herbicides .....	7
- Les fongicides .....	8
- Les insecticides .....	8
2.Pollution et contamination.....	8
3.Des pesticides très divers et des risques toxicologiques et environnementaux variés .....	9
3.1. Seuils de qualité.....	10
4. Contamination des sols.....	11

<b>4.1. Programmes de surveillance de la contamination des sols .....</b>	<b>11</b>
<b>4.2. Devenir et transfert des pesticides .....</b>	<b>13</b>
-Fumigation : .....	14
-Granulés-semences enrobées : .....	14
-Pulvérisation .....	14
<b>4.3. Rétention-dégradation dans les compartiments .....</b>	<b>15</b>
<b>5. Volatilisation .....</b>	<b>17</b>
<b>5.1. Transport par ruissellement et percolation .....</b>	<b>18</b>
<b>5.2. Les interactions moléculaires de l'adsorption sol/pesticides .....</b>	<b>19</b>
<b>5.3. La mobilisation des pesticides .....</b>	<b>20</b>
<b>6. La dégradation des pesticides .....</b>	<b>20</b>
<b>6.1. Dégradation microbienne des pesticides .....</b>	<b>21</b>
<b>6.2. Facteurs liés à la réponse de la microflore du sol .....</b>	<b>22</b>
<b>7. Formes du transport des produits phytosanitaires .....</b>	<b>23</b>
<b>8. L'état des lieux écologique .....</b>	<b>23</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>25</b>
<b>Situation géographique .....</b>	<b>28</b>
<b>1.L'agriculture dans la région de Ouargla .....</b>	<b>28</b>
<b>2.1.Superficie des terres utilisées par l'agriculture .....</b>	<b>29</b>
<b>2.2.Les principales cultures et leurs superficies agricoles .....</b>	<b>30</b>
<b>2.3.Le cadre pédologique.....</b>	<b>31</b>
<b>2.Matériel et Méthodes .....</b>	<b>31</b>
<b>2.1.Méthodologie de travail .....</b>	<b>31</b>
<b>2.2.Choix des sites.....</b>	<b>32</b>

<b>2.3.Présentation des sites d'étude.....</b>	<b>32</b>
<b>4.Elaboration d'un questionnaire phytosanitaire .....</b>	<b>33</b>
<b>5. Résultats des enquêtes auprès des structures agricoles. ....</b>	<b>34</b>
<b>5.1. Les pesticides utilisés par la D.S.A. deOuargla.....</b>	<b>34</b>
<b>5.2. Les pesticides utilisés par la CCLS Ouargla .....</b>	<b>36</b>
<b>5.3. Les principaux ennemis des cultures rencontrés au niveau des deux sites.....</b>	<b>36</b>
<b>5.4. Résultats des enquêtes des deux sites.....</b>	<b>37</b>
<b>6. Facteurs influençant le choix des produits phytosanitaires .....</b>	<b>42</b>
<b>6.1. La pratique et le mode de stockage des pesticides dans les sites enquêtés.....</b>	<b>42</b>
<b>6.2. Conclusion des résultats des enquêtes réalisées dans les deux sites agricoles .....</b>	<b>43</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>43</b>
<b>Extraction de quelques pesticides utilisés dans le domaine de l'agriculture saharienne d' El-Hjira (DASE) wilaya de Ouargla.....</b>	<b>59</b>
<b>1.Principe d'étude .....</b>	<b>47</b>
<b>2.Quelques données sur la région .....</b>	<b>48</b>
<b>2.1. Situation géographique de la région d'étude .....</b>	<b>48</b>
<b>2.2. Synthèse climatique .....</b>	<b>48</b>
<b>2.2.2. Données brutes .....</b>	<b>49</b>
<b>2.2.3. Les précipitations.....</b>	<b>49</b>
<b>2.2.4. Le vent .....</b>	<b>49</b>
<b>2.2.5. L'évaporation .....</b>	<b>49</b>
<b>2.2.6. L'insolation .....</b>	<b>50</b>
<b>2.2.7. L'humidité de l'air.....</b>	<b>50</b>
<b>2.2.8. Diagramme ombrothermique de Gausson.....</b>	<b>50</b>

<b>3. Paramètres édaphiques .....</b>	<b>52</b>
<b>4. Matériels et Méthodes .....</b>	<b>52</b>
<b>4.1. L'échantillonnage .....</b>	<b>52</b>
<b>4.2. Analyses physico-chimiques .....</b>	<b>52</b>
<b>5. L'extraction des pesticides.....</b>	<b>53</b>
<b>6. L'Analyse qualitative des pesticides .....</b>	<b>54</b>
<b>6.1. Méthode chromatographique sur couches minces CCM .....</b>	<b>54</b>
<b>6.2. Réalisation d'une CCM.....</b>	<b>54</b>
<b>6.3. Les étapes de la réalisation de la chromatographie sur couche mince .....</b>	<b>54</b>
<b>a-choix de la phase mobile .....</b>	<b>54</b>
<b>b-Dépôt de l'échantillon sur la plaque .....</b>	<b>54</b>
<b>c-Préparation de la cuve.....</b>	<b>54</b>
<b>d- Préparation de la plaque .....</b>	<b>55</b>
<b>7. La Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) .....</b>	<b>55</b>
<b>7.1. Principe de l'HPLC .....</b>	<b>56</b>
<b>7.2. Description du système d'HPLC .....</b>	<b>56</b>
<b>8. L'analyse statistique .....</b>	<b>57</b>
<b>9. Résultats et Discussion .....</b>	<b>58</b>
<b>9.1. Résultats des analyses physico chimiques .....</b>	<b>58</b>
<b>10. Liste des pesticides utilisée dans le domaine de l'agriculture saharienne d'El-Hjira.....</b>	<b>61</b>
<b>10.1. Caractéristiques physico-chimiques des pesticides utilisés au niveau de la DASE en 2018.      62</b>	
<b>11. Résultats de l'identification qualitative des pesticides par chromatographie sur couche mince (CCM) .....</b>	<b>64</b>
<b>12. Résultats de la chromatographie liquide à haute performance.....</b>	<b>66</b>

<b>13. Résultats de l'analyse statistique .....</b>	<b>68</b>
<b>14. Résultat de l'analyse canonique.....</b>	<b>70</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>72</b>
<b>Biodégradation du chlorpyrifos éthyle par des bactéries isolées du site agricole d'Ain Moussa. ....</b>	<b>43</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>74</b>
<b>1.1. Echantillonnage.....</b>	<b>75</b>
<b>1.1. Teneur en eau (humidité) .....</b>	<b>76</b>
<b>1.2. Potentiel hydrogène (pH) .....</b>	<b>77</b>
<b>1.3. Conductivité électrique (CE).....</b>	<b>77</b>
<b>1.4. Dosage du carbone organique.....</b>	<b>77</b>
<b>2. Analyses microbiologiques .....</b>	<b>77</b>
<b>2.1. Dénombrement de la microflore bactérienne .....</b>	<b>77</b>
<b>2.2. Préparation de la solution mère et de la série des dilutions .....</b>	<b>77</b>
<b>2.3. Isolement des bactéries dégradant le chlorpyrifos éthyle.....</b>	<b>78</b>
<b>2.4. Purification et conservation des bactéries.....</b>	<b>78</b>
<b>3. Pré-Identification des souches.....</b>	<b>79</b>
<b>3.1. Etude morphologique .....</b>	<b>79</b>
<b>4.2. Etude biochimique .....</b>	<b>80</b>
<b>3.4. Etude du métabolisme protéique.....</b>	<b>82</b>
<b>4.5. Etude de la biodégradation des souches bactériennes .....</b>	<b>84</b>
<b>5. Résultats et discussion .....</b>	<b>85</b>
<b>5.1. Analyses physico-chimiques du sol .....</b>	<b>85</b>
<b>5.2. Analyse microbiologique.....</b>	<b>85</b>

<b>5.3. Isolement et identification des bactéries .....</b>	<b>86</b>
<b>5.4. Etude Biochimique.....</b>	<b>87</b>
<b>5.5. Mesure de la densité optique en présence de chlorpyrifos éthyle .....</b>	<b>92</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>100</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>100</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>104</b>
<b>Annexes 01 : Chapitre 1 .....</b>	<b>126</b>
<b>Annexes 02: Chapitre 2 .....</b>	<b>131</b>
<b>Annexes 03: Chapitre 3 .....</b>	<b>136</b>
<b>Annexe 03 : liste de matériels utilisés dans la partie expérimentale .....</b>	<b>138</b>
<b>Annexe 04 : Le principe de quelques techniques utilisées .....</b>	<b>144</b>

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau 1:</b> Programmes d'inventaire et de surveillance des sols en europe .....	12
<b>Tableau 2:</b> Paramètres Pris En Compte Dans Les Programmes Nationaux D'inventaires Et De Surveillance Des Sols (d'après <b>EEA, 2003</b> ).....	12
<b>Tableau 3</b> .....	30
<b>Tableau 4:</b> Répartition des cultures dans la wilaya de Ouargla (DSA, 2015).....	30
<b>Tableau 5:</b> Produits phytosanitaires utilisés durant les campagnes de lutte contre les fléaux	34
<b>Tableau 6:</b> Répartition des palmiers dattiers traités contre le boufaroua, par daïra (DSA, 2014).....	35
<b>Tableau 9:</b> Facteurs influençant le choix d'un produit.....	42
<b>Tableau 10:</b> Données climatiques de la région d'ouargla (o.n.m., 2017).....	49
<b>Tableau 12:</b> Liste des pesticides utilisés par les agriculteurs à El-Hjira (la DASE).....	62
<b>Tableau 13:</b> Rf de l'extrait des sols des cultures maraichères profondeur 100cm. ....	65
<b>Tableau 14:</b> Rf de l'extrait des sols des cultures de l'olives profondeur 100 cm.....	65
<b>Tableau 15:</b> Rf de l'extrait des sols des cultures céréalières profondeur100cm .....	66
<b>Tableau 16:</b> RF de l'extrait des sols des palmiers dattiers profondeur 100CM.....	66
<b>Tableau 17:</b> Résultats de la caractérisation physico-chimique du sol. ....	85
<b>Tableau 18:</b> Dénombrement des colonies.....	85
<b>Tableau 19:</b> Caracteristiques morphologiques des souches bacteriennes isolées. ....	87
<b>Tableau 21:</b> Résultats des tests biochimiques pour les souches S2, S4, S6, S8 et S9.....	90
<b>Tableau 22 :</b> Résultats des tests biochimiques pour les souches S3, S5 et S7.....	92
<b>Tableau 23:</b> Résultats de la caractérisation morphologique et biochimique des isolats	93

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> Mécanismes mis en jeux lors des épandages par pulvérisation. Les flèches indiquent les interactions avec les différents compartiments (Jensen, 2003). .....	15
<b>Figure 2:</b> Schéma conceptuel des voies d'évolution des pesticides (Kersante, 2003) .....	16
<b>Figure 3:</b> Facteurs influençant la volatilisation depuis le sol (D'après Bedos et al., 2002). .....	18
<b>Figure 4:</b> Enchaînements possibles des effets des herbicides au sein des réseaux trophiques aquatiques (D'après Brock et al., 2000) ; COD : carbone organique dissous, COP : carbone organique particulaire, MIB : macro-invertébrés benthiques. ....	24
<b>Figure 5:</b> Enchaînements possibles des effets des insecticides au sein des réseaux trophiques aquatiques (D'après Brock et al., 2000).....	25
<b>Figure 6:</b> Localisation des deux sites d'études, (google map). ....	28
<b>Figure 7:</b> Localisation des deux stations d'étude (google earth).....	32
<b>Figure 8:</b> Pourcentage de palmiers traités contre la boufaroua par daira .....	36
<b>Figure 9:</b> Quantité des pesticides importés en algérie en tonnes de 1975 à 2007 (ssda, 2010). .....	48
<b>Figure 10:</b> Diagramme ombrothermique de la région de Ouargla (2007-2017) .....	50
<b>Figure 11:</b> Localisation de la région d'El-Hjira sur le climatogramme d'emberger. ....	51
<b>Figure 12:</b> Profil représentant les différentes cultures en fonction de la profondeur .....	57
<b>Figure 14:</b> Variation de l'humidité dans les sols d'El-Hjira.....	59
<b>Figure 15:</b> Variation du pH dans les sols cultivés d'El-Hjira. ....	59
<b>Figure 16:</b> Variation de la CE dans les sols cultivés d'El-Hjira. ....	60
<b>Figure 17:</b> Variation de la MO dans les sols cultivés d'El-Hjira.....	61
<b>Figure 18:</b> Moyenne de taux de calcaire total (%) dans les sols cultivés d'El-Hjira.....	61
<b>Figure 19:</b> Chromatogrammes des extraits de sols cultivés .....	67
<b>Figure 20:</b> Chromatogrammes des pesticides commerciaux utilisés par les agriculteurs	67

<b>Figure 21:AFC représentant le profil des groupes pesticides .....</b>	<b>68</b>
<b>Figure 22: AFC représentant la répartition des pesticides en fonction des cultures. ....</b>	<b>69</b>
<b>Figure 23:L'influence des paramètres pédoclimatiques sur la dissipation des pesticides. ....</b>	<b>71</b>
<b>Figure 24: chlorpyrifos éthyle (o,o-diéthyl-o-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate) (raoul et al., 2005).....</b>	<b>75</b>
<b>Figure 25: Localisation des sites d'étude (google maps, 2016).....</b>	<b>76</b>
<b>Figure 26: Réaction d'hydrolyse de l'onpg (marchal et bourdon, 1982). ....</b>	<b>81</b>
<b>Figure 27: Surveillance de la croissance de l'isolat N°1en présence de chlorpyriphos ou de glucose.....</b>	<b>94</b>
<b>Figure 28: surveillance de la croissance de l'isolat N°2en présence de chlorpyriphos ou de glucose.....</b>	<b>94</b>
<b>Figure 30: Surveillance de la croissance de l'isolat N°4 en présence de chlorpyriphos ou de glucose.....</b>	<b>95</b>
<b>Figure 31: Surveillance de la croissance de l'isolat N°5en présence de chlorpyriphos ou de glucose.....</b>	<b>96</b>
<b>Figure 32: Surveillance de la croissance de l'isolat N°6en présence de chlorpyriphos ou de glucose.....</b>	<b>96</b>
<b>Figure 33: Surveillance de la croissance de l' isolat N°7en présence de chlorpyriphos ou de glucose.....</b>	<b>97</b>
<b>Figure 34 : Surveillance de la croissance de l'isolat N°8en présence de chlorpyripho ou de glucose.....</b>	<b>97</b>
<b>Figure 35:Surveillance de la croissance del' isolat N°9 en présence de chlorpyriphos ou de glucose.....</b>	<b>98</b>
<b>Figure 36: Effet de la concentration en pesticide sur la croissance de l'isolat S6 .....</b>	<b>98</b>
<b>Figure 37: Effet du pH sur la croissance de l'isolat S6 en présence de 100 mg / l de chlorpyriphos-éthyle.....</b>	<b>99</b>

## *Valorisations*

Les travaux de thèse ont donné lieu à des publications et à des communications dans le cadre de séminaires nationaux et internationaux.

### **Publications**

**Nabiha Aloui**, Houria Ouled-Haddar and Samia Bissati. 2018. Isolation and characterization of some chlorpyrifos-degrading bacteria from different ecological niches of the “Ouargla” province. In: Kallel A., Ksibi M., Ben Dhia H., Khélifi N. (eds) Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions. EMCEI 2017. Advances in Science, Technology & Innovation (IEREK Interdisciplinary Series for Sustainable Development). Springer, Cham.

**Nabiha Aloui**, Houria Ouled-Haddar and Samia Bissati. 2018. Study on the biodegradation of chlorpyrifos ethyle by bacteria isolated from agricultural soils of Ouargla province. *Ponte Journal*.74(12) : pages (Impact factor 0,81).

**Nabiha Aloui**, Houria Ouled-Haddar, Samia Bissati, Mohamed Kraïmat and Nawel Omeiri. 2019 pesticide occurrence and distribution in cultivated soils of the arid region of elhejera, ouargla province and correlation with soil properties. The paper will appear in Volume 12 N° 1 (2020) issue of *Journal of Fundamental and Applied Sciences* and will be made accessible to public on the 1<sup>st</sup> of January 2020.

### **Séminaires**

**1.** Isolation and characterisation of some chlorpyrifos- degrading bacteria from different ecological niches of the province of the ouargla. Nabiha Aloui, Samia Bissati and Houria Ouled-Haddar. Communication orale at the 1st Euro-Mediterranean conference for environmental integration (EMCEI), 22-25 Novembre 2017 Sousse Tunisie.

**2.** Impact de l'utilisation de quelques pesticides sur l'environnement dans la region de Ourgla. Nabiha Aloui, Houria Ouled-Haddar et Samia Bissati. Communication orale au 1<sup>er</sup> Séminaire Maghrébin sur l'eau et l'environnement dans les zones arides (SMEEZA'1): Eau et santé, du 23- 25 Avril 2018.

# *Résumés*

## **Résumé**

La présente étude porte sur un diagnostic sur l'utilisation des pesticides dans la région de Ouargla, dans la lutte contre les différents bioagresseurs des cultures. Une évaluation des pesticides les plus utilisés par les agriculteurs dans les deux stations de notre choix dans la région de Ouargla. La méthodologie adoptée reposait sur la collecte de données au moyen d'enquêtes auprès des agriculteurs et d'organisations actives dans le domaine de l'agriculture saharienne à El-Hjira (DASE). Après échantillonnage des sols cultivés, une analyse physicochimique, une extraction solide / liquide et une identification par chromatographie en couche mince et une chromatographie en phase liquide à haute performance ont été effectuées. Les résultats suivants ont été obtenus: les pesticides utilisés en 2015 n'existent pas dans les extraits, comme dans le cas de vapcomic (abamectine à 1,8% CE) et de métronate (méthomyle). D'autres résidus de pesticides ont été retrouvés à l'extérieur de leurs sites d'application. C'est le cas de Pulsar et de Score 250EC. Ces phénomènes peuvent être expliqués par les conditions pédo-climatiques locales (température, vent, précipitations, rayonnement solaire via la photodégradation, la teneur en eau ou en matière organique du sol, etc.), il existe également une différence de comportement des pesticides qui peut être attribuée à une différence de solubilité et de la nature chimique. Un essai sur l'isolement et l'identification de certaines souches bactériennes présentant une capacité à biodégrader le chlorpyrifos éthyle à partir de sols agricoles dans la région de Ouargla (Ain Moussa) a été effectué. Les échantillons de sol décontaminés avec le pesticide testé ont un pH de 8.58, une conductivité électrique indiquant un sol légèrement salin et une très faible teneur en matière organique. Ces caractéristiques ont certainement favorisé le développement de la microflore bactérienne. L'analyse microbienne de cet échantillon a révélé la présence de neuf souches isolées et identifiées appartenant aux genres *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* et / ou *Bordetella*. Ces genres bactériens présentent une variabilité de leur cinétique de croissance induisant un développement significatif en présence d'éthyl chlorpyrifos par rapport au contrôle. C'est dans ce contexte que ces bactéries peuvent être utilisées dans le cadre d'une application éventuelle en bio-remédiation.

**Mots clés :** Dégradation, extraction, bactéries, niches écologiques, pesticides, ouargla.

## **Abstract**

The present study focuses on a diagnosis on the use of pesticides in the Ouargla region for phytosanitary practices and products used in the fight against various crop pests and diseases. An evaluation of the pesticides used by farmers in both resorts of our choice in the region of Ouargla. The methodology adopted was based on the collection of data through surveys of farmers and organizations in the field of Saharan agriculture in El-Hejera (DASE). After Sampling of the cultivated soils, physicochemical analysis, solid/liquid extraction and identification by thin layer chromatography and a high performance liquid chromatography were carried out. The following results were obtained: pesticides used in 2015 are not existing in the extracts, like the case of vapcomic (abamectin 1.8% EC) and Metronate (methomyle 25%), this could be explained by the retention which is the overall result of a set of elementary processes, involving interactions with organic constituents and soil minerals. On the other hand, pesticide residues were found outside their points of application, such as Pulsar and Score 250EC, these phenomena can be explained by the local pedo-climatic conditions (temperature, wind, precipitation, solar radiation via the photodegradation, water or soil organic matter content, etc.), there is also a difference in pesticide behavior that can be attributed to a difference in solubility and chemical nature. Our study focused on the isolation and identification of some bacterial strains displaying ability to biodegrade chlorpyrifos ethyl from agricultural soils in the region of Ouargla (AinMoussa). Soil samples decontaminated with the tested pesticide have a pH of 8.58, an electrical conductivity indicating slightly saline soil and very low organic matter content. These characteristics certainly favored the development of bacterial microflora. Microbial analysis of this sample revealed the presence of nine isolated and identified strains belonging to the genera *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* and / or *Bordetella*. These bacterial genera show variability of their growth kinetics inducing a significant development in the presence of ethyl chlorpyrifos compared to the control. It is in this context that these bacteria can be used in a possible application in bio-remediation.

**Keywords:** Degradation, extraction, bacteria, ecological niches, pesticides, ouargla

## ملخص

تهتم هذه الدراسة بتقويم المبيدات الأكثر استعمالا من طرف المزارعين في منطقة ورقلة. استندت المنهجية المتبعة الى جمع المعلومات من المزارعين و هيئات قطاع الفلاحة الصحراوية (DASE) بمنطقة الحجيرة. بعد أخذ عينات من التربة المزروعة ، تم إجراء التحليل الكيميائي الفيزيائي ، الاستخراج الصلب / السائل والتعرف بواسطة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة واللوني السائل عالي الأداء. تم الحصول على النتائج التالية: المبيدات المستخدمة في عام 2015 غير موجودة في المستخلصات ، مثل حالة 1.8 abamectin vapomic ( % EC و 25 methomyle Metronate % ) ، والتي يمكن تفسيرها بالنتيجة مجموعة من العمليات الأولية ، التي تنطوي على التفاعلات مع المكونات العضوية ومعادن التربة. يمكن تفسير بقايا المبيدات الحشرية ودرجاتها ، مثل Pulsar و Score 250EC ، بالظروف المناخية المحلية للبيدو (درجة الحرارة ، الرياح ، هطول الأمطار ، الإشعاع الشمسي عبر التحلل الضوئي ، الماء أو التربة) محتوى المادة العضوية ، وما إلى ذلك) ، هناك أيضا اختلاف في سلوك المبيدات التي يمكن أن تعزى إلى اختلاف في الذوبان والطبيعة الكيميائية. ركزت دراستنا على عزل وتحديد بعض السلالات البكتيرية التي تظهر القدرة على التحلل الأحيائي للكلور بيريوس إيثيل من التربة الزراعية في منطقة ورقلة (عين موسى). تم اختبار عينات التربة باستخدام درجة حموضة قدرها 8.58 ، وهو مؤشر الموصلية الكهربائية. ويفضل هذه الخصائص من خلال تطوير البكتيريا الدقيقة *Escherichia* ، *Pseudomonas* ، *Acinetobacter* ، *Moraxella* و / أو *Bordetella*. تُظهر هذه الأجناس البكتيرية تباين حركيات نموها مما يؤدي إلى تطور كبير في وجود إيثيل الكلوربيريوس مقارنةً بالتحكم. في هذا السياق ، يمكن استخدام هذه البكتيريا في تطبيق ممكن في العلاج الحيوي...

الكلمات المفتاحية : تدهور ، استخراج ، بكتيريا ، منافذ بيئية ، مبيدات ، ورقلة

## *Liste des abréviations*

ICP	International Cooperative Programme
CCLS	Coopérative des cereals et des legumes secs
INERIS	Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques
INPV	Institute National De Protection Des Végétaux
S.A.T	Surface Agricole Totale
WG	Water dispersible Granule
WP	Wettable Powder
O N M	Office nationale meteorology
DASE	Domaine agricole saharienne de la région d'elhdjira
CM	Cultures maraichères
CC	Cultures céréalières
Coliv	Cultures des olives
PD	Palmiers dattiers
Ph	Potentiel hydrogen
CE	Conductivité électrique
MO	Matière organique
CA	Calcaire totale
CCM	Chromatographie sur couche mince
UV	Ultra violet
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
Rf	Retention Factor
Koc	Coefficient de partage carbone organique/eau
Kow	Coefficient de partage octanol/eau
ds/m	Dicisiemens par mètre
Rpm	Rotation Par Minutes
DO	Densité optique
UFC	Unité Formant Colonies
GN	Gélose Nutritive
S	Souche
MO	Matières organiques
BN	Bouillon nutritif
MMS	Milieu de sels minéraux solide
MES	Matière en suspension
°C	Degré Celsius
G	Gramme
Mn	Minute
Mm	Millimètre
Mol	Mole
µl	Microlitre
TCP	3,5,6-trichloro-2-pyridinol
CP	Chlorpyrifos éthyle
OPD	Organophosphate Degradation
Lac	Lactose
LDC	Lysine décarboxylase
ODC	Ornithine décarboxylase

# *Introduction Générale*

## **Introduction Générale**

Les progrès dans la protection des plantes ont largement contribué à l'augmentation des rendements et à la régularité de la production. Faciles d'accès et d'emploi, relativement peu chers, les produits phytosanitaires de synthèse se sont révélés très efficaces et fiables dans un nombre important de cas, sur de grandes surfaces. L'agriculture a plus que d'autres, développé des systèmes de production fondés sur l'utilisation de ces produits; elle apparaît actuellement très dépendante des pesticides. Mais aujourd'hui l'utilisation systématique de ces produits est remise en question, avec la prise de conscience croissante des risques qu'ils peuvent générer pour l'environnement, voire pour la santé de l'Homme. Les pesticides peuvent se retrouver dans l'organisme humain directement par ingestion, inhalation ou pénétration cutanée ou indirectement par l'intermédiaire des sols, des poussières, d'eau ou d'aliments contaminés (**WHO, 1992**). L'exposition aux pesticides peut aussi être la cause du développement de cancer (**Hercegovà et al., 2007**). Il a été montré que chez les agriculteurs, les cancers de la prostate et de l'estomac étaient plus fréquents (**Meyer et al., 2003**).

La consommation des pesticides est toujours en croissance et est passée de 140 tonnes de pesticides en 1940, à 600 000 tonnes en 1997. Ainsi, depuis plus d'un demi-siècle, des quantités considérables de pesticides sont utilisées partout dans le monde, les quantités utilisées annuellement étant estimées à 2,5 millions de tonnes (**Pimentel, 1995**). Aujourd'hui, ce sont plus de 500 matières actives qui sont utilisées dans l'environnement. Seulement environ 1% de cette quantité arrive directement sur les parasites cible, tandis que près de 30 à 50% de la quantité peut être perdue dans l'air (**Gavrilescu, 2005 ; Gil et Sinfort, 2005**). L'utilisation intensive des produits phytosanitaires entraîne également différentes pollution des eaux et des sols. Cette contamination est régie par plusieurs facteurs, les propriétés physico-chimiques et hydrauliques des sols, les propriétés des pesticides et le mode d'application (**Gavrilescu, 2005 ; Schieweck et al., 2007**).

De part leurs caractéristiques physico-chimiques, ces composés présentent des dangers pour l'environnement et les organismes vivants. Ils entrent dans la chaîne alimentaire, et finissent, à termes, par menacer la santé humaine. La réduction de leur impact environnemental nécessite de comprendre le processus auquel ils sont soumis dans les sols principalement les processus de rétention et stabilisation ceux de transformation ainsi que les phénomènes de transfert. Les mécanismes de détoxification des sols, base de leur pouvoir épurateur, reposent sur l'aptitude des micro-organismes des sols à dégrader les polluants. Cependant d'autres phéno-

mènes sont à l'origine de la stabilisation des polluants sous forme de résidus non extractibles appelés couramment « résidus liés » (**Barriuso et al. 1994**).

Une grande partie des pesticides transite par le sol où ils sont apportés directement ou indirectement par l'eau et les retombées atmosphériques. Ainsi, lorsque la molécule est à la surface du sol, elle peut être soumise à un phénomène de volatilisation et se retrouver dans l'atmosphère (**Bedos et al., 2002**). Ce phénomène de volatilisation implique une diffusion des pesticides car ceux-ci seront redéposés avec les eaux de pluie à un autre endroit que celui où la contamination ou l'application a eu lieu. Ainsi, en Suède des pesticides tels que le 2,4-D ou l'atrazine qui n'ont jamais été utilisés dans ce pays ont été détectés dans les eaux de pluie (**Kreuger and Kylin, 2006**).

Les pesticides utilisés en agriculture ayant des compositions et des structures très variées, leur propriétés physiques, chimiques et biologiques le sont aussi ce qui explique les difficultés rencontrées pour décrire et prévoir leur devenir dans les sols. Une fois que la molécule a pénétré dans le sol, elle est soumise à des phénomènes de rétention, d'adsorption, d'infiltration, de diffusion qui sont contrôlés par les propriétés du pesticide et du milieu. Elle peut également être transportée par la solution du sol et être entraînée dans les eaux souterraines par des processus d'infiltration et de percolation (**Yaron et al., 1996; Mirsal, 2004**). La prise de conscience des atteintes à l'environnement n'est que relativement récente puisque le premier meeting international sur les sols pollués n'a eu lieu qu'en 1985 au Pays Bas. Ce fut l'occasion de reconnaître le besoin de comprendre les processus à l'origine de ces pollutions et de trouver des moyens possibles de dépollution. Les pollutions du sol sont d'origine industrielle, agricole ou urbaine et ces différentes sources entraînent la présence de nombreuses molécules xénotiques différentes. Ainsi, les polluants organiques d'origine agricole incluent les fertilisants et les pesticides. (**Assink and Van den Brink, 1986**).

De nombreux travaux ont démontré la persistance des pesticides dans les eaux, les sols, l'air mais aussi dans les produits alimentaires. Le risque de transfert dépend fortement des caractéristiques du milieu naturel, du contexte pédoclimatique et des conditions hydrologiques, du contexte cultural et des propriétés de la substance active (**Gouy et Gril, 2003**).

Le sol contribue à tous ces services écologiques rendus à l'Homme: support physique de l'agriculture, conservation et distribution des nutriments aux plantes, décomposition de la matière organique morte et des déchets (résidus agricoles, déchets industriels...), recyclage

des nutriments et régulation des cycles des éléments majeurs (carbone, azote, soufre, phosphore) (**Buol, 1995; Lavelle et Spain, 2001**).

Ainsi, nous savons que les microorganismes du sol réalisent 90% des transformations chimiques intervenant dans le cycle de la matière organique et la fertilité chimique du sol et qu'ils sont capables de dégrader différents polluants en les utilisant comme source nutritive (**Prosser, 2002; Lavelle et al., 2005**).

L'ensemble des organismes du sol interagit par des liens trophiques étroits influençant ainsi les différents processus et fonctions supportés par le sol. Ces réseaux trophiques relient les structures des communautés du sol aux fonctions de l'écosystème puisque ces interactions trophiques correspondent à des taux de transferts participant aux cycles de matière, d'énergie et de nutriments (**Ruiter et al., 2002**).

La biomasse du sol présente dans les 25 premiers centimètres de la couche de surface transforme de 10 à 1000 tonnes de matière organique fraîche par hectare et par an (**Ruiter et al., 2002**). Les microorganismes du sol, qui se situent à la base de la chaîne alimentaire de cet écosystème jouent un rôle primordial dans l'élaboration des services écosystémiques rendus par le sol en étant les premiers acteurs des cycles biogéochimiques (**Lavelle et al., 2006**).

Le territoire Algérien est caractérisé par un écosystème méditerranéen au Nord, aride au Sud et une région intermédiaire semi-aride. En Algérie, comme ailleurs, les agriculteurs utilisent abondamment les pesticides. En conséquence, le risque de pollution des écosystèmes par les résidus de produits phytosanitaires est susceptible d'être très élevé. Même si l'activité agricole s'efforce maintenant de présenter une image de qualité et de préservation du milieu environnemental. L'agriculture Saharienne en Algérie est en pleine expansion. Elle n'est malheureusement pas à l'abri de l'usage des pesticides. Ouargla est une région qui se situe au Sud Est de l'Algérie caractérisée par un développement remarquable dans le domaine de l'agriculture par le programme de la mise en valeur des terres en milieu saharien ce qui incite les agriculteurs à l'utilisation des produits phytosanitaires.

Dans ce contexte, et dans la mesure où la contamination des sols Algériens par les pesticides est avérée, nous avons choisi de lancer un travail de recherche qui nous permettra d'avoir une idée sur l'utilisation de ces produits dans la wilaya de Ouargla, pour mener notre étude, qui s'articule autour d'un axe principal, à savoir l'extraction des pesticides dans les sols du do-

maine de l'agriculture saharienne d'El-Hjira (la DASE) et leur identification, suivie par une étude des souches bactériennes capables de dégrader un insecticide le chlorpyrifos éthyle pour une éventuelle application biotechnologique dans une stratégie de bioremédiation.

Les résultats de ces travaux font l'objet de trois chapitres successifs précédés d'une étude bibliographique abordant d'un côté une enquête réalisée sur l'utilisation des produits phytosanitaires dans différentes stations de la wilaya, une extraction solide/liquide afin d'identifier les molécules des pesticides utilisées durant toute la période d'étude et de comprendre le phénomène de leur dissipation, une sélection et une identification des bactéries pouvant utiliser le chlorpyrifos éthyle comme seule source d'énergie, enfin une conclusion générale, où nous tenterons de mettre en avant les points importants apportés par notre travail, ainsi que nos futures perspectives.

*Synthèse  
bibliographique*

# Synthèse bibliographique

## 1. Généralités sur les pesticides

### 1.1. Définition d'un pesticide

Selon le Code de conduite de la FAO sur la distribution et l'utilisation des pesticides (Version novembre 2002), «un pesticide est une substance ou association de substances destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines et animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux ».

D'un point de vue réglementaire, nous distinguons les pesticides utilisés principalement pour la protection des végétaux que nous appelons produits phytopharmaceutiques (**directive 91/414/CE**) ou plus communément produits phytosanitaires et d'autres dénommés biocides (**directive 98/8/CE**). Par exemple, un insecticide sera un produit phytosanitaire s'il est utilisé sur du blé mais un biocide dès lors qu'il est utilisé sur du bois de charpentes (**Devillers et al., 2005**). De manière plus concise, les produits phytosanitaires, sont définis comme des substances dont les propriétés chimiques contribuent à la protection des plantes cultivées et des produits récoltés, ils améliorent ainsi à la fois la quantité et la qualité des denrées alimentaires. Leur composition et leur structure sont très variées, de sorte que leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques le sont aussi, ce qui explique leurs multiples usages, leurs dangers, ainsi que les difficultés rencontrées pour décrire et prévoir leur devenir dans les sols (**Gariido et al., 2004**).

### 1.2. Composition et formulation

Les produits phytosanitaires contiennent une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. Ceux utilisés aujourd'hui sont, la plupart, de nature organique dont un petit nombre est extrait ou dérivé des plantes. Les formulations sont en générale composées d'une ou plusieurs substances actives et d'un ou plusieurs adjuvants. La substance active exerce une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux; c'est elle qui confère au produit l'effet désiré. L'adjuvant quant à lui est une substance dépourvue d'activité biologique jugée suffisante dans la pratique, mais capable de modifier des propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation (**ACTA, 2006**).

La formulation correspond, aussi, à la forme physique sous laquelle le produit phytopharmaceutique est mis sur le marché. Obtenue par le mélange des matières actives et des adjuvants,

elle se présente sous une multitude de formes, solides ou liquides. La teneur en matière active s'exprime en g/l pour les formulations liquides et en pourcentage (%) pour les formulations solides. La dose d'emploi en produit commercial s'exprime en l/ha pour des formulations liquides et en kg/ha (ou parfois en g/ha) pour les formulations solides. La dose d'emploi en matière active s'exprime toujours en g/ha. (Coulibaly, 2005).

### 1.3. Classification des pesticides

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structures chimiques, de groupes fonctionnels et d'activités biologiques que leur classification est complexe. D'une manière générale les pesticides peuvent être classés selon deux façons: selon les organismes vivants visés et selon leurs caractéristiques chimiques.

#### 1.3.1. Classification chimique

Il existe trois catégories de pesticides (**Pesticide Manual, 1995**) :

- *Les pesticides inorganiques*

Il n'existe plus d'insecticides inorganiques et un seul herbicide est encore employé, aujourd'hui, comme désherbant total, le chlorate de sodium. L'essentiel des pesticides inorganiques sont des fongicides à base de soufre et de cuivre.

- *Les pesticides organo-métalliques*

Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe d'un métal tel que le zinc et le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate. Des exemples de ces pesticides sont le mancozèbe (avec le zinc) et le manèbe (avec le manganèse) (**Calvet et al., 2005**).

- *Les pesticides organiques*

Il existe actuellement plus de 80 familles ou classe chimiques mais leur appellation sont parfois arbitraires. Les principales familles chimiques de pesticides identifiés par des groupes d'atomes constituant une fonction chimique particulière sont : les acides carboxyliques, les amines, les carbamates, les thiocarbamates, les hétérocycles azotés, les azoles, les organophosphorés, les pyréthrinoides, les urées substituées, les sulfonylurées, les uraciles et les diphenyles éther.

#### 1.3.2. Classification biologique

Selon les organismes vivants visés, nous distinguons plusieurs catégories de pesticides dont les principales sont les insecticides, les fongicides et les herbicides (**ACTA, 2006**) :

- *Les herbicides*

Les herbicides représentent les pesticides les plus utilisés dans le monde, toutes cultures confondues. Ils sont destinés à éliminer les végétaux rentrant en concurrence avec les plantes à

protéger en ralentissant leur croissance. Les herbicides possèdent différents modes d'action sur les plantes, ils peuvent être des perturbateurs de la régulation d'une hormone de croissance telle que l'auxine, de la photosynthèse, des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de la cellulose ou des acides aminés.

#### *- Les fongicides*

Les fongicides permettent quant à eux à éliminer ou limiter le développement des champignons parasites des végétaux. Ils peuvent agir différemment sur ces organismes, soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire, soit en perturbant la biosynthèse des stéroïdes, de l'ARN polymérase ou de l'adénosine désaminase.

#### *- Les insecticides*

Les insecticides sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en les éliminant ou en empêchant leur reproduction, différents types existent : les neurotoxines, les insecticides agissant sur la respiration et les insecticides interférant sur la mise en place de la cuticule. Outre, ces trois familles mentionnées ci-dessus, d'autres peuvent être citées en exemple: les acaricides, contre les acariens ; les némantocides, contre les vers du groupe de nématodes ; les rodenticides, contre les rongeurs ; les taupicides, contre les taupes ; les molluscicides, contre les limaces et escargots ou encore les corvicides et corvifuges, respectivement contre les corbeaux et les autres oiseaux ravageurs de culture.

## **2. Pollution et contamination**

Les définitions des termes pollution et contamination sont nombreuses mais elles convergent toutes vers les notions présentées ci-dessous.

Le terme pollution désigne "l'introduction directe ou indirecte, par suite de l'activité humaine, de substances ou de chaleur dans l'air, l'eau ou le sol, susceptibles de porter atteinte à la santé humaine ou à la qualité des écosystèmes aquatiques ou des écosystèmes terrestres, qui entraînent des détériorations aux biens matériels, une détérioration ou une entrave à l'agrément de l'environnement ou à d'autres utilisations légitimes de ce dernier. La contamination atteint un niveau seuil où elle produit des dommages, des déséquilibres ou des effets nocifs et interfère avec le bien-être des organismes vivants" (**Directive Européenne 2000/60/CE du 23 octobre 2000**).

Le terme contamination désigne "la présence anormale de substances, de micro-organismes, d'objets, ou d'êtres vivants. Cette notion s'applique historiquement et dans l'ordre aux micro-organismes, puis aux substances radioactives" (**BRGM, 2000**).

Selon la définition du terme pollution, la présence de substances est considérée comme polluante si elle atteint un seuil pour lequel des dommages sont susceptibles de se produire. Le

Dictionnaire raisonné de biologie (**Morère & Pujol, 2003**), reprend cette notion en définissant une pollution comme une "altération que subit la biosphère, en particulier d'ordre chimique et physique, et qui engendre des déséquilibres du fonctionnement à tous les niveaux". Cette prise en compte des impacts permet d'inclure dans les pollutions la présence de substances naturelles qui ne posent pas de problèmes aux niveaux naturels de concentration, mais qui en posent aux niveaux de concentrations engendrés par l'activité humaine. Le caractère normal ou anormal de leur présence, de même que le caractère évitable ou inévitable de cette présence n'entrent pas en ligne de compte. La définition du terme contamination fait intervenir la notion de normalité de la présence de substances dans un milieu donné. En revanche, ce terme n'intègre pas la manifestation d'effets potentiels liés à cette présence.

Cette distinction est importante dans le cas des pesticides. Ces produits sont en effet destinés à être utilisés pour débarrasser les cultures d'organismes nuisibles, et donc à être épandus sur ces cultures.

Ces substances n'étant pas pour la plupart d'entre elles d'origine naturelle mais issue de la synthèse chimique, leur présence sur le sol et les végétaux des zones agricoles correspond formellement à une contamination. Il s'agit toutefois d'une contamination attendue et volontaire pour le sol et les végétaux, au contraire des milieux aquatiques, qu'ils soient de surface ou souterrains, ou des milieux atmosphériques pour lesquels la contamination est secondaire et involontaire (en faisant abstraction des usages non agricoles des pesticides tels que par exemple le désherbage des milieux aquatiques ou bien la lutte contre les moustiques). Cette contamination ne peut toutefois pas être assimilée à une pollution. Cette dernière ne sera effective que si l'existence d'une toxicité intrinsèque des pesticides épandus, combinée à un certain niveau de concentration et de persistance dans le milieu récepteur, produit le dépassement d'un seuil d'effets pour les organismes ou les fonctions non visés (**Aubertot et al., 2005**).

### **3. Des pesticides très divers et des risques toxicologiques et environnementaux variés**

Il n'existe pas de pesticide totalement spécifique d'un ravageur ou d'un adventice. Toutes ces substances sont écotoxiques, mais on peut s'attendre à une très grande disparité des effets potentiels en fonction des cibles et des modes d'action particuliers : il n'y a rien de commun entre les effets d'un herbicide de grande culture, inhibiteur de la photosynthèse des végétaux, un insecticide neurotoxique et un raticide anticoagulant. Ces produits peuvent être toxiques à court ou à long terme, mais dans la plupart des cas, il n'y a pas de relation évidente entre la toxicité humaine et l'écotoxicité. Il est donc extrêmement difficile et périlleux de tirer des

généralités en la matière. On peut par exemple penser qu'un insecticide neurotoxique, du fait de l'homologie des cibles sera plus toxique pour l'homme, les vertébrés ou les arthropodes présents dans l'environnement qu'un herbicide ou qu'un fongicide ; c'est souvent vrai, mais il y a de nombreuses exceptions. De même un herbicide présentera généralement plus de risques pour la flore aquatique (algues) que d'autres pesticides. La contamination de l'environnement est directement liée aux propriétés physicochimiques des substances actives : les molécules persistantes, solubles dans l'eau et mobiles comme beaucoup d'herbicides présentent un risque beaucoup plus important de présence dans les eaux en particulier souterraines, risque confirmés par les contrôles effectués. Des produits très volatiles ont plus de risque de se retrouver dans l'atmosphère, mais là le domaine est moins connu parce que moins exploré.

Enfin, la localisation des parcelles dans le paysage conditionne très fortement la contamination des eaux UIPP, (2009).

### **3.1. Seuils de qualité**

Sur le plan réglementaire, seules les eaux, de surface ou souterraines font l'objet de contrôles de la présence de pesticides avec des normes de qualité. **Hamilton et al., (2003)** ont publié une revue des différentes stratégies mises en œuvre pour la définition des seuils réglementaires de la contamination des eaux par les pesticides. Dans la suite de ce document, seule la démarche appliquée au sein de l'Union Européenne sera abordée.

Pour les eaux de surface, l'objectif est en principe de ne pas dépasser des seuils sans effets pour les organismes aquatiques, établis par des PNEC (Predicted No Effect Concentration) ou CPSE (Concentration Prévisible Sans Effet) définies pour chaque substance sur la base des données d'écotoxicité disponibles. Des seuils ont ainsi été définis pour 72 substances dans le Système d'Évaluation de la Qualité des cours d'eau développé en France (**SEQ-Eau ; Agences de l'Eau, 2000**).

De nouveaux seuils sont en cours d'élaboration dans le cadre de la mise en œuvre de la Directive Cadre sur l'Eau.

Le Décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 (relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles) stipule que l'utilisation des eaux douces superficielles pour la production d'eau destinée à la consommation humaine est subordonnée à la mise en œuvre de procédés de traitement différents selon que ces eaux sont classées en :

- groupe A1 : traitement physique simple et désinfection ;

- groupe A2 : traitement normal physique, chimique et désinfection ;

-groupe A3 : traitement physique et chimique poussé, opérations d'affinage et de désinfection. Les seuils pour les pesticides sont identiques en ce qui concerne les groupes A1 et A2 (0,1 µg/l par substance individualisée – sauf l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore et l'heptachlore époxyde pour lesquels la valeur seuil est de 0,03 µg/l – et 0,5 µg/l pour la somme des pesticides). Les valeurs à ne pas dépasser pour le groupe A3 sont de 2 µg/l par substance individualisée et de 5 µg/l pour la somme des pesticides.

#### **4. Contamination des sols**

La contamination des sols par différentes substances, dont les pesticides, a été reconnue comme l'une des principales menaces qui pèsent sur les sols européens (CEC, 2002). La plupart des données permettant de discuter de la persistance des produits dans le sol ainsi que leur périmètre de propagation provient essentiellement des dossiers d'autorisation de mise sur le marché (AMM) dans lesquels ces aspects sont abondamment documentés, mais restent, pour l'aspect quantitatif de la contamination en tout cas, prédictifs.

Les Etats membres travaillent actuellement à la rédaction d'une Directive Cadre sur les sols, fixant entre autres des critères de qualité des sols et les modalités d'appréciation de cette qualité. Pour l'heure, les données disponibles sur la contamination des sols par les pesticides en France et en Europe sont très fragmentaires.

##### **4.1. Programmes de surveillance de la contamination des sols**

Il existe deux programmes de surveillance de la qualité des sols au niveau européen, qui sont respectivement inclus dans le Programme de coopération internationale (International Co-operative Programme ou ICP) d'évaluation et de surveillance des effets de la pollution atmosphérique des forêts (ICP Forests) et dans le Programme de coopération internationale de surveillance intégré (ICP Integrated Monitoring). En 2003, l'Agence Européenne de l'Environnement a effectué un recensement des programmes nationaux d'inventaire et de surveillance des sols (Tableau.1). Tous ces programmes n'ont pas le même objectif et les données sur la contamination par les micropolluants organiques et les pesticides ne sont prises en compte que dans 17 des 57 programmes recensés.

Ceci explique en grande partie qu'à l'heure actuelle les bases de données européennes sur les sols (European Soil Databases) n'intègrent pas la contamination par les pesticides dans la liste des critères pour lesquels des cartes sont disponibles. Par ailleurs, la faible abondance des données tient au fait que la contamination des sols par les pesticides est implicite, tout au

moins au niveau des agrosystèmes, du fait même du mode d'utilisation des produits (Tableau.2) (D'après **EEA, 2003**).

**Tableau 1:** Programmes d'inventaire et de surveillance des sols en europe

Pays	Date d'actualisation	Nombre des programmes	Dont nationaux	Dont programmes régionaux
Allemagne	2003	4	3	1
Autriche	2003	20	8	12
Belgique	1997	1		1
Bulgarie	2003	2	2	
Danemark	1997	3	3	
Espagne	1997	1	1	
Finlande	2003	2	2	
France	2003	7	7	
Hongrie	2003	1	1	
Italie	2003	2		2
Lichtenstein	1997	1	1	
Luxembourg	2003	1	1	
Norvège	2003	1	1	
Pays-Bas	1997	2	2	
Royaume-Uni	1997	4	1	3
Suède	1997	4	4	
Suisse	1997	1	1	

**Tableau 2:** Paramètres Pris En Compte Dans Les Programmes Nationaux D'inventaires Et De Surveillance Des Sols (d'après **EEA, 2003**).

Paramètres	Nombre de programmes	Fréquence d'échantillonnage (années)		Nombre de sites
		Médiane	Etendue	
Propriétés générales	29	9	5 - 20	2 - 2 100
Nutriments	43	9	1 - 15	1 - 20 000
Physico-chimie	43	8	1 - 12	1 - 20 000
Activité microbienne et faune	12	6	3 - 10	<b>2 - 1 200</b>
Métaux lourds	40	8	3 - 20	1 - 20 000
Radionucléides	9	6	3 - 10	4 - 2 000
Micropolluants organiques et pesticides	17	6	3 - 10	1 - 700

#### 4.1.1. État des lieux de la contamination

La contamination des sols à distance, c'est-à-dire surtout par la voie aérienne ou éventuellement lors de crues, a parfois été décrite. Les exemples les mieux documentés concernent les pesticides organochlorés (**Simonich & Hites, 1995 ; Galiulin et al., 2002**). Dans le cas des substances utilisées actuellement, les données sont beaucoup moins nombreuses et elles concernent essentiellement des travaux d'analyse du transfert par dérive ou en post-application dans des systèmes expérimentaux. Il est aussi très délicat d'utiliser les mesures de concentrations en pesticides dans les eaux de pluie pour faire des bilans d'apports sur les sols non cultivés. A titre d'exemple, dans un suivi réalisé en 2002, **Mast et al. (2003)** ont estimé que les

apports annuels au niveau du sol dans une aire naturelle protégée atteignaient 45,8 mg/ha pour l'atrazine, 14,2 mg/ha pour le dacthal et 54,8 mg/ha pour le carbaryl.

Il n'existe pas de dispositif équivalent à ceux relatifs à l'eau et à l'air pour la caractérisation de la contamination des sols par les pesticides, que ce soit en France ou dans les autres pays d'Europe. La pollution chronique par les substances minérales (cuivre) et l'existence, pour certaines substances, de résidus non extractibles pose la question du risque environnemental à long terme, notamment dans le cas d'une réallocation des terres agricoles à d'autres usages.

Un état des lieux sur la charge en pesticides des sols agricoles permettrait sans doute : de savoir à quelle échelle de temps un sol agricole peut être reconverti en autre chose qu'une terre cultivée.

- de faciliter la mise en place de l'approche comparative évoquée dans le Plan interministériel sur les phytosanitaires,
- de faciliter les débats sur les indicateurs qu'il convient de développer (indicateurs de qualité *versus* indicateurs écologique),
- d'évaluer l'accumulation de substances qui à terme peuvent être transférées à d'autres milieux ou avoir des impacts sur différents compartiments biologiques, voire sur la santé humaine.

## **4.2. Devenir et transfert des pesticides**

Nous distinguons ci-dessous le devenir et le transfert des pesticides aux échelles parcellaires, l'échelle parcellaire est limitée sur le plan vertical à l'horizon racinaire. En conséquence les transferts vers les nappes sont traités dans la section consacrée à l'échelle supra-parcellaire.

### **4.2.1. Distribution entre compartiments à l'épandage**

La bonne compréhension de la répartition des pesticides entre les différents compartiments environnementaux "primaires" (sol, végétation et air) lors de l'épandage est essentielle pour un paramétrage correct des modèles de transfert dans l'environnement (eau, sol, air) à d'autres échelles, voire des modèles d'absorption par l'Homme ou la faune par voie respiratoire.

Trois types d'épandages sont alors à considérer :

- la fumigation pour la stérilisation des sols réalisée par pulvérisation, irrigation ou injection,
- l'utilisation de granulés, de micro-granulés, de semences enrobées incorporés ou non dans le sol (nématocides par exemple),

- la pulvérisation (qui représente 95% des techniques d'épandage).

#### *-Fumigation :*

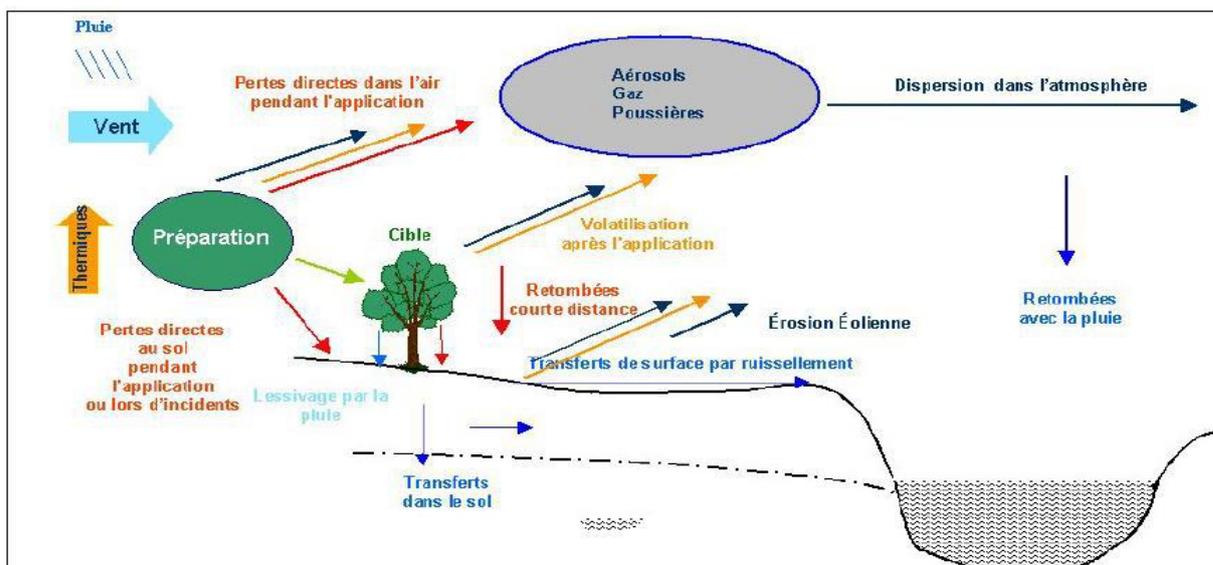
Pour les opérations de fumigation menées sans précautions particulières, des pertes dans l'air très élevées ont été constatées, allant jusqu'à 90%. En post-application, et lors d'expérimentations de laboratoire, **Sullivan et al. (2004)** ont observé pour des périodes de 72 heures des taux de pertes allant de 10% par injection à 20% pour des applications par fumigation. Tous les auteurs décrivent l'influence des caractéristiques du sol sur ces phénomènes. En post application, les pertes dans l'air restent toutefois importantes et de l'ordre de 20 à 30% pour des profondeurs d'injection de 20 cm (**Van Den Berg et al., 1999**). Les risques pour l'eau semblent par ailleurs plus importants si les applications sont suivies d'épisodes pluvieux importants. C'est pourquoi les techniques de fumigation par injection sous films étanches sont maintenant préconisées (**Yates et al., 2002**). Ces opérations sont très bien encadrées et menées par des professionnels formés à l'exercice.

#### *-Granulés-semences enrobées :*

L'utilisation de granulés, micro-granulés ou semences traitées peut engendrer l'émission de fines particules vers l'atmosphère qui vont pouvoir se déposer (ou non) en proximité de parcelle. Par contre, leur incorporation dans le sol réduit a priori les pertes dans l'air en concentrant les composés dans le sol.

#### *-Pulvérisation*

Pour la pulvérisation et à l'échelle de la technique d'application (autour de la machine et par extension à l'échelle d'une parcelle), de nombreuses études expérimentales ont été menées pour déterminer la répartition entre le sol, la végétation et l'air. Les phénomènes sont multiples, comme décrit dans la figure 1.



**Figure 1:** Mécanismes mis en jeu lors des épandages par pulvérisation. Les flèches indiquent les interactions avec les différents compartiments (Jensen, 2003).

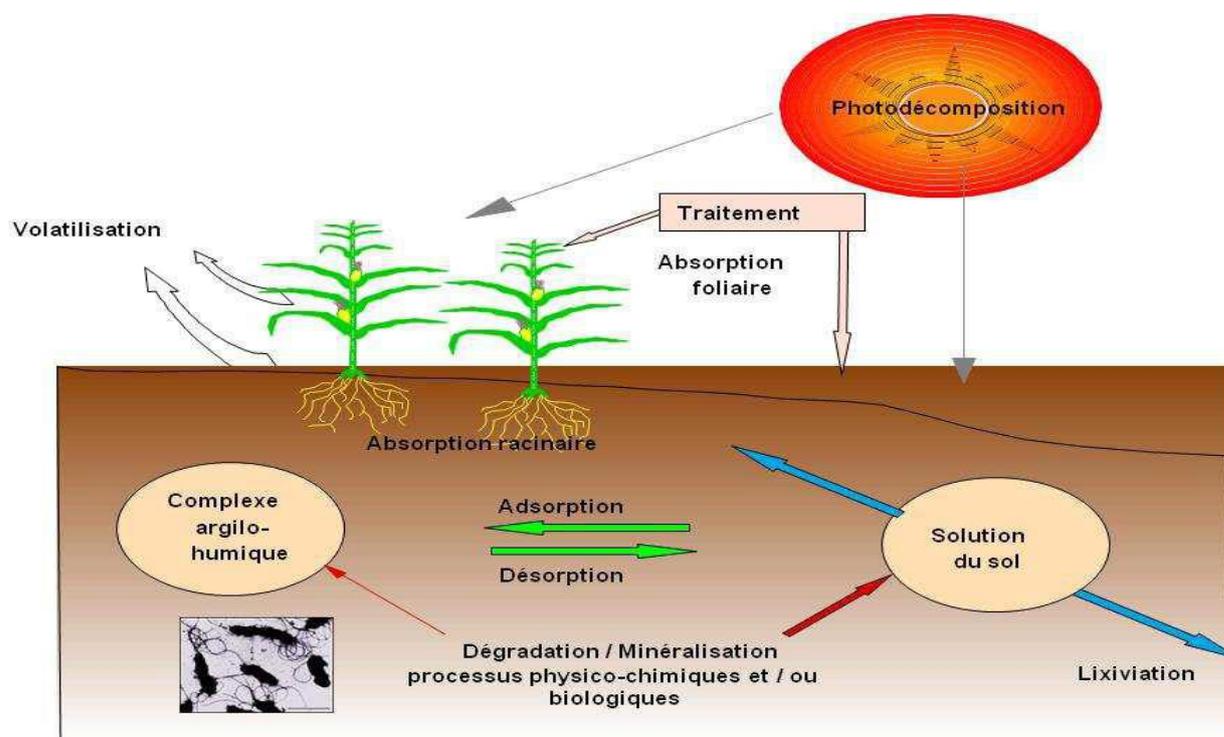
Ainsi, durant l'application et suivant le stade de développement de la végétation, 10 à 70% des produits peuvent être perdus au sol (Jensen, 2003) alors que c'est jusqu'à 30 à 50% des produits qui peuvent être perdus dans l'air sous forme de gouttelettes ou de gaz (Van Den Berg et al., 1999).

#### 4.3. Rétention-dégradation dans les compartiments

La rétention et la dégradation des pesticides dans les sols sont les deux phénomènes fondamentaux conditionnant leur caractère polluant (Barriuso et al., 2005). La rétention est le résultat global d'un ensemble de processus élémentaires, impliquant des interactions avec les constituants organiques et minéraux des sols (figure 2). De même, la dégradation est la résultante d'un ensemble de processus de dissipation, physico-chimiques et biologiques, qui font diminuer la concentration du pesticide en fonction de cinétiques caractéristiques du pesticide et du milieu.

Les pesticides seront plus ou moins retenus sur la phase solide, conditionnant le partage du pesticide entre les phases solide, liquide et air du sol (Calvet, 1989). La part du pesticide la plus mobile est celle localisée dans les phases liquide et air, et elle constitue la part directement disponible pour la dégradation par les micro-organismes du sol et pour le transfert en profondeur ou par ruissellement à l'origine, respectivement, des contaminations des eaux souterraines et de surface. L'augmentation de la rétention des pesticides diminue les risques de transfert, mais peut rendre difficile leur biodégradation. D'une manière générale, la rétention

va conditionner la biodisponibilité, donc la manifestation d'une action toxique, et/ou phytosanitaire dans le cas des produits phytosanitaires appliqués au sol (**Barriuso et al., 1994, 2004 ; Alexander, 2000 ; Alexander et al., 2000**).



**Figure 2:**Schéma conceptuel des voies d'évolution des pesticides (**Kersante, 2003**)

#### 4.3.1. Couplage des phénomènes de rétention et de dégradation

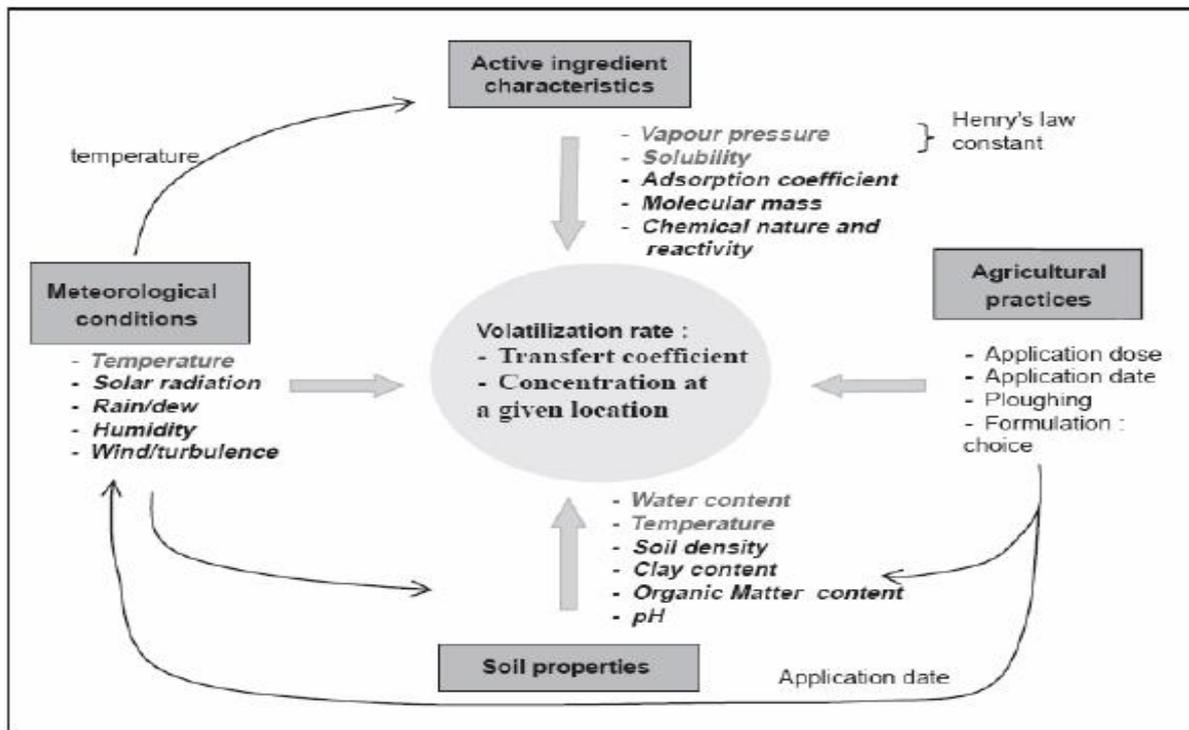
La rétention et la dégradation ne sont pas des phénomènes indépendants. La rétention conditionne la disponibilité des produits pour leur dégradation : ainsi les produits à Koc élevés seront mieux "protégés" que les autres. En pratique, c'est le couple rétention-dégradation qui détermine la mobilité des substances (**Alexander, 2000 ; Guo et al., 2000**). Néanmoins, dans certains cas, des observations expérimentales sur l'effet de l'adsorption peuvent rester ambiguës. C'est le cas lors de l'addition des matières organiques aux sols (amendements), qui pour certains pesticides provoquent une diminution de la dégradation, due à une augmentation de l'adsorption (piclorame, diuron, atrazine, paraquat...), mais dans d'autres cas, il y a une augmentation de la dégradation, due à un accroissement de l'activité microbienne par co-métabolisme (2,4-D, linuron, diphénamide, chlorprophame... ; exemples cités par **Calvet et al., 2005**).

## 5. Volatilisation

La volatilisation peut avoir lieu par transfert depuis un sol nu, depuis un couvert végétal (ou depuis un sol nu avec couvert végétal) ou depuis une surface aquatique dans le cas d'application en riziculture notamment ou depuis des fossés contaminés. Les fumigants constituent une application à part.

Grâce à des développements à la fois expérimentaux et en modélisation, des connaissances ont été acquises sur la volatilisation surtout depuis le sol et moins depuis la plante, bien qu'elle soit reconnue plus intense et rapide (**van den Berg et al., 1999**). Les flux de volatilisation mesurés dans différentes situations ont des valeurs variant de  $0,1 \text{ g ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$  à  $100 \text{ g ha}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , représentant alors de quelques 0,1 % jusqu'à quelques dizaines de pour-cent de la dose appliquée (voire plus pour les fumigants) sur une durée de quelques jours à quelques semaines (**Bedos et al., 2002**). Ces transferts sont donc très variables en intensité et en durée selon (figure 3) :

- la nature physico-chimique du composé (pression de vapeur saturante, constante de Henry, Koc),
- les pratiques culturales (mode d'application, incorporation ou non au sol, distribution du produit sur la surface foliaire),
- les conditions pédo-climatiques locales (température, vent, précipitations, rayonnement solaire via la photodégradation, contenu en eau ou en matière organique du sol, etc.) et la nature de la surface pour les applications foliaires (forme, mouillabilité).



**Figure 3:**Facteurs influençant la volatilisation depuis le sol (D'après **Bedos et al., 2002**).

Les flèches représentent les différentes interactions. Étant donné que la pression de vapeur, la solubilité ou le coefficient d'adsorption dépendent de la température, une flèche joint les cases "Conditions météorologiques" et "Caractéristiques physico-chimiques".

Après leur application, puis le flux de volatilisation décroît dans le temps ; d'autres, moins volatils que les précédents, présentent un flux moins élevé au départ mais plus "stable" dans le temps. Cette différence de comportement a été notée par **Jury et al. (1987)** qui ont défini trois classes de potentiel de volatilisation selon la constante de Henry du composé. Par ailleurs, les observations ont permis de noter un cycle diurne de volatilisation que l'on n'interprète pas entièrement pour l'instant (**Pattey et al., 1995 ; Briand et al., 2003 ; Bedos et al., 2004**) en liaison avec les couplages entre processus et leur compétition (volatilisation/adsorption) ainsi qu'à la méconnaissance de certains processus comme l'adsorption du composé en phase gazeuse sur le sol (que l'on peut supposer exister à la surface du sol en cas de dessèchement).

La formulation du pesticide représente une propriété fondamentale conditionnant la disponibilité de la matière active pour les transferts (**Wienhold et Gish, 1994**).

### 5.1. Transport par ruissellement et percolation

### **5.1.1. Les voies de transport par l'eau à l'échelle parcellaire**

Hormis les phénomènes de dérive intervenant lors des pulvérisations, l'ensemble des voies de transport des substances phytosanitaires partent ou transitent par le sol. C'est bien sûr le cas des produits appliqués directement sur le sol, mais c'est aussi celui des produits d'application foliaire dont une partie traverse le feuillage et atteint le sol lors de la pulvérisation et dont une autre partie rejoint le sol ultérieurement par lessivage foliaire lors des pluies. Quatre mécanismes principaux de transfert des pesticides hors de la parcelle peuvent être distingués. Il s'agit de la volatilisation, décrite dans le paragraphe précédent, et de trois voies de transport par l'eau présentant des capacités d'entraînement contrastées : Le ruissellement de surface, provoqué soit par une intensité de pluie supérieure.

La capacité d'infiltration du sol, soit par saturation du sol au-dessus de niveaux peu perméables. Il lave la couche de surface du sol, fortement chargée en matières actives et aboutit aux contaminations de l'eau les plus fortes, pouvant aller à plus d'un mg/L et représenter jusqu'à quelques % (voire 10%) des quantités appliquées sur le sol (**Leonard, 1990 ; Lenartz, 1997**).

Le drainage artificiel des sols par drains enterrés, alimenté soit par les nappes superficielles se formant lors des épisodes pluvieux, soit par de l'eau de ruissellement captée par les tranchées de drainage. La contamination des eaux de drainage est en général d'un ordre de grandeur inférieur à celui des eaux de ruissellement du fait des possibilités de rétention des molécules par la matrice du sol qui sont associées à l'écoulement dans le sol (**Schiavon et al., 1995 ; Dorobisz, 2000**).

Les flux de percolation à travers le sol. Ils produisent des contamination faible en concentration, souvent proches de quelques µg/L, voire inférieurs (**Schiavon et al., 1995; Flury, 1996**).

### **5.2. Les interactions moléculaires de l'adsorption sol/pesticides**

Les interactions moléculaires de l'adsorption sol/pesticides peuvent être classées en, liaisons ioniques et/ou sorption par échange d'ions, liaisons de coordination entre des atomes donateurs des pesticides (azote ou oxygène) et les atomes accepteurs (métaux de transition ou cations échangeables), liaisons hydrogène, liaisons de **Van Der Waals (Flogeac, 2004)**. Les facteurs influençant l'adsorption d'un pesticide par le sol sont: la température, les pH du sol et de l'eau, la distribution de taille des particules et la surface spécifique des solides, le rapport sol/eau, les propriétés physiques de l'adsorbant, et la composition du sol (matière organique, argile ou autre constituant, etc.) (**Chafik, 2002**). Une étude sur l'adsorption de trois herbicides (atrazine, terbutryne et l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique) sur 55 matériaux terreux issus de

sols de composition et d'origine très variées, montre que le mécanisme d'adsorption dépend de la nature des sols (**Barriuso et Calvet, 1992**):

- les sols riches en matière organique adsorbent tous les pesticides non ioniques en grande quantités,
- les pesticides cationiques sont très adsorbés par les sols contenant beaucoup de minéraux argileux (montmorillonite et vermiculite surtout) et de matière organique,
- les pesticides anioniques sont très adsorbés par les sols riches en oxydes et hydroxydes métalliques.

### **5.3. La mobilisation des pesticides**

La rétention prend fin par la libération (ou la mobilisation) des molécules suite à des modifications de la structure de la phase solide ou de la composition de la phase liquide. La concentration d'une solution d'un pesticide mis en contact avec un solide adsorbant diminue à la suite de l'adsorption d'une partie du soluté. Après certain temps plus au moins long selon la

vitesse de la réaction, la concentration devient constante et le système solution – liquide est alors à l'équilibre. Si, ensuite, la concentration de la solution est diminuée par la dilution de la phase liquide, l'équilibre thermodynamique est rompu. Le système évolue à nouveau vers un nouvel équilibre, en provoquant le passage dans la solution d'une certaine quantité de pesticides, ce passage est le phénomène de désorption. Il se produit chaque fois que la concentration de la solution au contact de la phase solide adsorbante est diminuée jusqu'à une limite qui dépend des caractéristiques de l'adsorption (**Calvet et al., 2005**).

### **6. La dégradation des pesticides**

La dégradation des pesticides est un processus clé du devenir des pesticides dans le sol et joue un rôle majeur dans leur dissipation et leur élimination des milieux naturels. Elle est due à de nombreuses transformations chimiques qui modifient la composition et la structure des molécules apportées au sol. Ces modifications peuvent être limitées à l'élimination d'un groupe fonctionnel, conduire à divers produits de transformation et aller jusqu'à la complète dégradation avec la production de molécules minérales (minéralisation). Toute une série de molécules intermédiaires entre la molécule initiale et les molécules finales peuvent ainsi être produites (**Calvet et al., 2005**). Dans certains cas les métabolites peuvent être plus toxiques et/ou persistants que le pesticide lui-même (**Schiavon, 1988 ; Benoit, 1994 ; Remde et Traunspurger, 1994 ; Mansour et al., 1999 ; Tixier et al., 2002**). Seule, la minéralisation des pesticides

conduit à leur élimination totale des milieux naturels, ce qui lui donne une très grande importance environnementale (**Calvet et al., 2005**). Les transformations chimiques responsables de la dégradation sont de nature abiotique et biotique.

Les transformations abiotiques sont dues à des réactions chimiques qui ne sont pas catalysées par des systèmes enzymatiques (photoréactions, des réactions d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse et de conjugaison). La dégradation représente le plus souvent la principale cause de la dissipation des pesticides, sauf pour ceux qui sont très volatils.

### **6.1. Dégradation microbienne des pesticides**

Les microorganismes dégradant les pesticides sont en majorité des bactéries et des champignons. Leur grande diversité et la multiplicité des conditions de leur développement font qu'ils sont de puissants agents de la dégradation des pesticides. La composition de la microflore est très variable selon la nature des sols, leur pH, les teneurs en carbone organique et en minéraux argileux. La taille de la biomasse microbienne est elle, aussi, très variable en fonction des mêmes facteurs. Elle est en moyenne de 200 mg Kg<sup>-1</sup> dans les sols sableux pauvres en matière organique et peut atteindre l'ordre de 900 mg Kg<sup>-1</sup> dans les sols riches (teneur en C supérieur à 4%) (**Chaussod et al., 1986**). La microflore impliquée dans la dégradation des pesticides est qualifiée de dégradantes pour la distinguer de l'ensemble des microorganismes du sol ; elle n'est généralement pas Étude bibliographique limitée à une seule espèce. Son activité dans le processus de dégradation dépend, à la fois de son patrimoine enzymatique qui détermine la nature des réactions chimiques et de son environnement qui exerce une influence sur son développement et sur sa survie. 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.

Par ailleurs certaines molécules sont résistantes à toute action de dégradation. Les polluants qui sont piégés dans les pores du sol, trop étroits pour que les bactéries puissent y pénétrer, deviennent inaccessibles aux microorganismes et s'accumulent. Les produits phytosanitaires peuvent aussi être complexés avec des polymères organiques résistants à la biotransformation,

cas de lignines et de composés humiques. L'accumulation peut aussi être due à des conditions non favorables au développement des microorganismes (manque de nutriments par exemple). Les pesticides et leurs produits de dégradation peuvent aussi être piégés temporairement par les animaux ou les végétaux. C'est le phénomène de bioaccumulation (**Coulibaly, 2005**).

## **6.2. Facteurs liés à la réponse de la microflore du sol**

L'action du pesticide peut provoquer un ralentissement de l'activité de la microflore du sol et une sélection des populations les mieux dotées pour résister à cette action toxique ou pour l'utiliser comme source de carbone. Dans certaines conditions, on peut avoir un phénomène d'adaptation des populations microbiennes qui peut se traduire par une augmentation de la vitesse de dégradation du pesticide dû à la sélection de souches de micro-organismes ayant des systèmes enzymatiques spécialisés dans la dégradation d'un pesticide. Dans ces circonstances, la biodisponibilité des pesticides vis-à-vis d'une microflore adaptée peut être augmentée (**Barriuso et al., 2004**). Suivant une terminologie sans doute critiquable mais consacrée par l'usage, il s'agit d'une dégradation de type "métabolique", par opposition à la dégradation de type "co-métabolique". Le "métabolisme" d'une substance correspond à la possibilité pour un micro-organisme d'utiliser tout ou partie de cette substance pour tirer l'énergie nécessaire à sa croissance. Dans ce cas, le polluant organique constitue un substrat électif pour les micro-organismes capables de le dégrader et qui peuvent ainsi proliférer et augmenter la capacité dégradante du sol (**Audus, 1964 ; Horwath, 1972 ; Soulas, 1993**).

La notion de "co-métabolisme" est basée sur le fait que certaines transformations des pesticides, souvent partielles, ne permettent pas la récupération de l'énergie nécessaire à l'activité de ces microorganismes (**Horwath, 1972**). Cette énergie est alors obtenue grâce à l'oxydation par ces mêmes microorganismes de la matière organique présente dans le sol. Dans ces circonstances, le polluant organique ne constitue pas un substrat électif de la microflore "co-métabolique" et il ne provoque pas le développement de la capacité dégradante du sol. Aussi, pour une dégradation complète de la molécule, la présence d'un consortium complexe de populations microbiennes spécialisées chacune dans des étapes spécifiques de la voie métabolique est nécessaire. Toute modification de l'équilibre de cette biocénose provoquera l'apparition de produits de dégradation qui auront tendance à s'accumuler.

Le codage génétique du caractère dégradant détermine l'évolution de la population microbienne du sol en termes de diversité et de structure des populations microbiennes. Les gènes codant pour la dégradation des pesticides sont portés le plus souvent chez les bactéries par des éléments extrachromosomiques appelés plasmides (**Waid, 1972**). Du fait de leur caractère

transmissible entre individus d'espèces ou de genres différents, ils permettent la dispersion du caractère dégradant dans une population microbienne d'une façon plus rapide que ne le permettrait un simple processus de reproduction. C'est probablement cette possibilité de transfert des gènes impliqués dans la dégradation qui permet, en partie, d'expliquer la grande diversité des espèces dégradantes que l'on peut trouver dans les sols (**Amy et al., 1985 ; Chaudry & Huang, 1988 ; Koiv et al., 1996 ; Bhat et al., 1994**). C'est aussi l'une des causes du potentiel important d'évolution de la microflore des sols. Le catabolisme codé par les gènes plasmidiques permet de réaliser les premières étapes de dégradation qui conduisent à des substances de dégradation dont les structures moléculaires sont reprises ensuite dans le cycle métabolique classique de la cellule ; ces fonctions sont alors codées par des gènes chromosomiques.

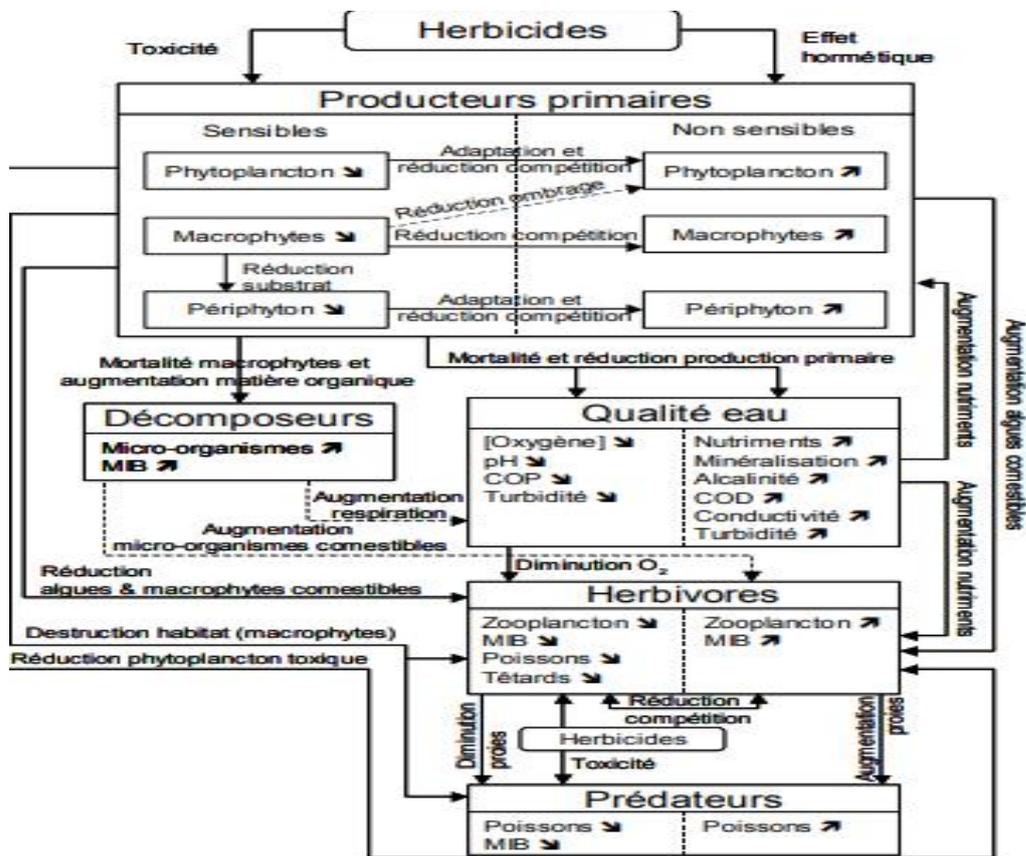
### **7. Formes du transport des produits phytosanitaires**

Le transport par l'eau des substances peut s'effectuer soit sous forme dissoute, soit sous forme adsorbée sur les matières en suspension (M.E.S.). Les proportions relatives de ces deux formes de transport dépendent de deux facteurs principaux. Le premier est lié aux propriétés d'adsorption des substances sur la phase solide, qui sont définies par le coefficient de partage sol-eau  $K_d$  égal au ratio entre la teneur en substances adsorbées sur les particules et leur concentration dans l'eau, supposée en équilibre avec la phase adsorbée. Ce coefficient varie en fonction de la nature chimique des molécules, mais aussi en fonction des caractéristiques de la phase solide et en particulier de sa teneur en matière organique (**Barriuso et al., 1996**). Ainsi, suivant la valeur du  $K_d$ , la répartition entre les deux formes de transport peut varier fortement. Le second facteur est la charge en M.E.S. de l'eau d'écoulement. On note qu'un Koc élevé n'implique pas nécessairement un transport majoritaire de la substance sous forme adsorbée si la charge en M.E.S. est faible. Or, de nombreux écoulements présentent des teneurs en M.E.S. réduites, notamment les écoulements de subsurface. En conséquence, dans une majorité de situations, on observe que le transport s'effectue essentiellement en phase soluble (**Leonard, 1990**). Réciproquement, on constate que les molécules à fortes propriétés d'adsorption sont peu mobiles et présentent des risques plus restreints de contamination des eaux. Expertise scientifique collective "Pesticides.

### **8. L'état des lieux écologique**

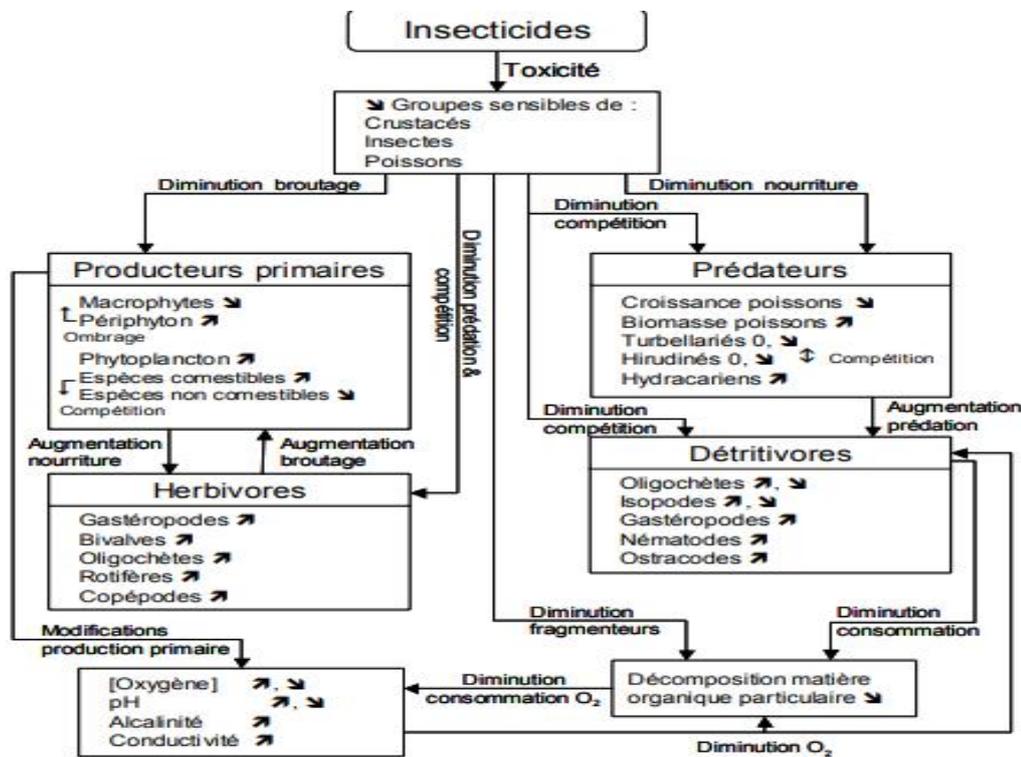
Quel que soit le groupe de producteurs primaires concerné (phytoplancton, périphyton, macrophytes), il a été observé que la disparition de certaines espèces pouvait conduire à l'augmentation d'autres espèces au sein du même groupe (**Goldsborough et Robinson, 1986 ; Herman et al., 1986 ; Hamilton et al., 1987 ; Gurney & Robinson, 1989 ; Murphy & Barrett, 1990**). Les producteurs primaires sont en compétition pour les nutriments, l'espace,

le CO<sub>2</sub> et la lumière. La diminution de l'abondance des espèces sensibles réduit cette compétition, ce qui peut conduire à une évolution vers une communauté composée d'espèces moins sensibles. Ce type d'évolution a essentiellement été observé au sein du phytoplancton et du périphyton (revue in **Bérard et al., 2002**). La disparition ou la raréfaction des producteurs primaires provoque fréquemment une baisse de la concentration en oxygène dissous et/ou du pH de l'eau. Le caractère récurrent de la plupart de ces observations et le fait qu'elles s'inscrivent dans des schémas écologiques conformes à ce qui est connu du fonctionnement des écosystèmes aquatiques font que leur existence dans les milieux naturels soumis aux pesticides est néanmoins très probable, même si davantage d'études de terrain valides sont encore nécessaires pour en avoir confirmation. La figure 4, présente les hypothèses les plus plausibles pour expliquer les effets indirects des herbicides dans les écosystèmes



**Figure 4:** Enchaînements possibles des effets des herbicides au sein des réseaux trophiques aquatiques (D'après **Brock et al., 2000**) ; COD : carbone organique dissous, COP : carbone organique particulaire, MIB : macro-invertébrés benthiques.

Les effets des insecticides sont fonction de divers paramètres tels que la température, les caractéristiques des molécules, la structure de la communauté et la période d'étude. En dehors des effets sur les relations entre producteurs primaires et herbivores, les insecticides peuvent aussi affecter directement ou indirectement les organismes détritiques, et notamment les fragmenteurs figure 5.



**Figure 5:** Enchaînements possibles des effets des insecticides au sein des réseaux trophiques aquatiques (D'après Brock et al., 2000).

### Conclusion

Le terme pollution, correspond à la présence de substances au-delà d'un seuil pour lequel des dommages sont susceptibles de se produire. Cette distinction est importante dans le cas des pesticides. Ces produits sont en effet destinés à être utilisés pour débarrasser les cultures d'organismes considérés comme nuisibles, et donc à être épandus sur ces cultures. Ces substances n'étant pas pour la plupart d'entre elles d'origine naturelle mais issue de la synthèse chimique, leur présence sur le sol et les végétaux des zones agricoles correspond donc formellement à une contamination. Il s'agit toutefois d'une contamination attendue et volontaire pour le sol et les végétaux, au contraire des milieux aquatiques, qu'ils soient de surface ou souterrains, ou des milieux atmosphériques pour lesquels la contamination est secondaire et involontaire. Cette contamination ne peut toutefois pas être assimilée à une pollution, qui ne sera effective

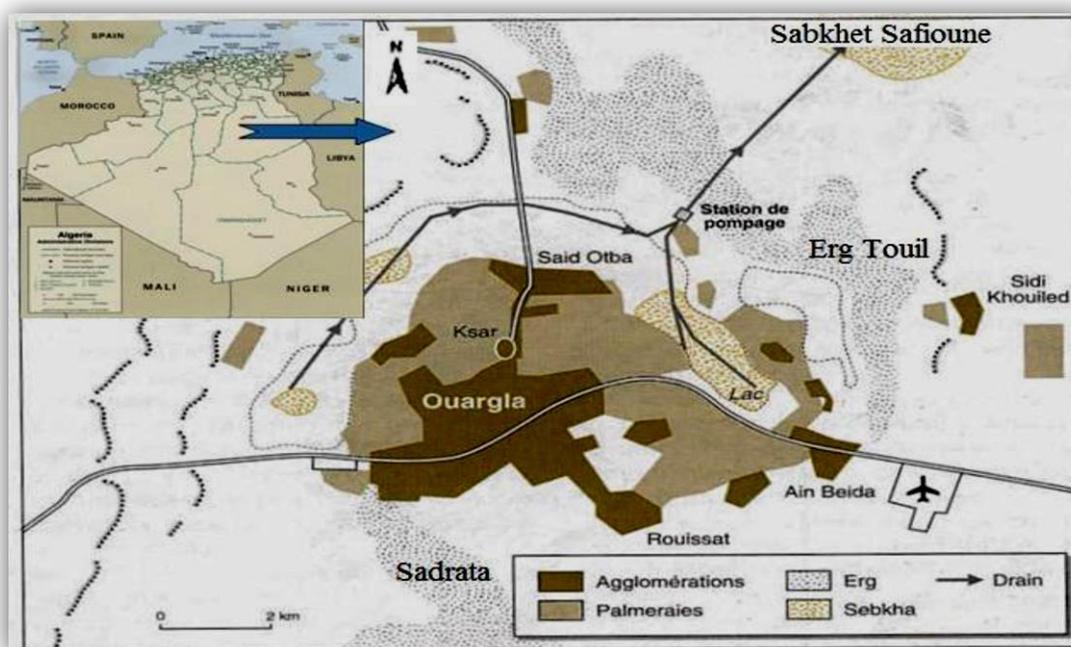
que si l'existence d'une toxicité intrinsèque des pesticides épanchés, combinée à un certain niveau de concentration et de persistance dans le milieu récepteur, conduit au dépassement d'un seuil d'effets pour les organismes ou les fonctions non visés.

Une contamination significative des différents milieux, eau, air, sol, peut être générée par des pertes en pesticides très faibles en comparaison des quantités épanchées. Il suffit par exemple parfois d'une fuite hors parcelle de moins de 1 pour mille de la masse d'herbicide épanchée dans des conditions de pratiques agricoles standards pour provoquer une contamination de l'eau supérieure au seuil autorisé pour les eaux destinées à la consommation humaine. Il est donc par essence très difficile de contrôler et limiter les pertes parcellaires vers l'environnement. Un corollaire est que même si de bonnes pratiques agricoles sont mises en oeuvre, une contamination de l'environnement extra-parcellaire peut être observée. Ceci explique aussi le fait que les données actuellement disponibles sur les réseaux de suivi de contamination témoignent d'une contamination généralisée, voire chronique, d'une proportion importante des milieux aquatiques, vraisemblablement des phases atmosphériques et sans doute des sols. Les processus de contamination des milieux par les pesticides sont extrêmement variés et nombreux. Ils sont pour la plupart bien identifiés, sauf sans doute pour ceux qui concernent les phases atmosphériques. Néanmoins, ils présentent des interactions complexes à différentes échelles d'espace et de temps. La connaissance insuffisante de ces interactions constitue un frein à la modélisation et à la prévision des contaminations en fonction des propriétés intrinsèques des molécules et des situations locales d'usage (conditions climatiques, systèmes de cultures, sols, caractéristiques paysagères...

*Diagnostic sur l'utilisation de quelques pesticides dans la région de Ouargla*

### Situation géographique

Notre zone d'étude est située dans la wilaya de Ouargla, dans différents périmètres agricoles répartis sur les 21 communes. Elle s'étend sur une superficie de 163 238 km<sup>2</sup>, et limitée au Nord-Est par la wilaya d'El Oued, Nord-Ouest par la wilaya de Djelfa, au Sud-Est par la wilaya d'Illizi et à l'Ouest par la wilaya de Ghardaia. Ses coordonnées géographiques sont: les longitudes 5°25' Est et les latitudes 31°55' et 32°00' (figure 6) (Rouvillois-brigol, 1975; ANAT 1995).



**Figure 6:** Localisation des deux sites d'études, (google map).

### 1. L'agriculture dans la région de Ouargla

L'agriculture dans la région de Ouargla est dominée par la culture du palmier dattier dont la pratique remonte à des siècles. La phoeniculture est souvent intercalée par d'autres types de cultures, grâce au microclimat qui favorise la coexistence de ce type de culture. Selon **Bouammar et Bekhti (2008)**, l'agriculture dans cette région se distingue par deux systèmes agricoles:

Les anciens systèmes agricoles, ou l'agriculture dans les anciennes palmeraies, qui sont l'objet d'une dégradation importante et qui impliquent l'intervention de l'état par un soutien aux agriculteurs due à des impératifs écologiques, sociaux, économiques et culturels.

Le nouveau système agricole ou les nouvelles palmeraies, créées dans le cadre de la mise en valeur des terres agricoles et des différents programmes de développement. Deux types d'agriculture peuvent être distingués dans ces nouveaux espaces:

Le premier type à travers l'extension des palmeraies qui a donné naissance à une agriculture "périurbaine" ou encore petite mise en valeur parce que constitué de petites et moyennes exploitations. Le deuxième type que l'on qualifie de grande mise en valeur à travers de vastes programmes de concession.

L'agriculture dans la région de Ouargla a connu une évolution rapide et des mutations, grâce aux efforts entrepris par les pouvoirs de croissance économique et les développements socio-économiques (**Peyron, 2000**).

### **2.1. Superficie des terres utilisées par l'agriculture**

Pour déterminer l'importance des terres agricoles, on s'est basé sur les documents du service statistiques et les enquêtes agricoles de la Direction des Services Agricoles de la wilaya d'Ouargla. Le tableau 3 donne une première indication concernant l'importance des terres agricoles. La superficie totale est de 5242579 ha, correspondant à 32.11 % de la superficie totale. En ce qui concerne la superficie agricole utilisée, elle représente un faible espace, estimé à 0.76% de la superficie agricole totale (s.a.t) soit 40034.00 ha, et le reste sont des terres partagées entre pacages et parcours.

**Tableau 3**

(DSA, 2015), S.A.U: Surface Agricole Utile

Désignation		Superficie (ha)	
Superficie Agricole Utile	Terres Labourables	Cultures herbacées	2400,00
		Terres au repos	150525,00
		Prairies naturelles	00
		Superficies plantés	22 109,00
	S.A.U Exploitée		24 509,00
	SAU Irriguée		21 934,00
	Surface Agricole Utile (S.A.U)		40 034,00
	Parcours Sahariens		4750 000
Autre terres	Terres Alfatières	0	
	Terres bois, forêt,	0	
Total Des Terres Utilisées par L'agriculture		5 242 579	
Total de la superficie de la wilaya		16 326 300	

### 2.2. Les principales cultures et leurs superficies agricoles

Le tableau 4 présente les cultures les plus utilisées dans la wilaya de Ouargla, où palmier dattier est la culture dominante. Elle occupe 21 857.45 ha et compte environ 2.562.268 palmiers dont 2.024.923 palmiers productifs avec une production de 1.252.163 Qtx de dattes (DSA, 2015). Les cultures maraichères occupent la deuxième place avec une superficie de 4773 ha, et avec une production de 962 439 Qtx.

**Tableau 4:**Répartition des cultures dans la wilaya de Ouargla (DSA, 2015)

Cultures	Superficies (ha)	Production (Qtx)
Palmier dattier	21 857.45	1 252 163
Céréales	307	5 996
Maraichage	4 773	962 439
Plein champ	4094.80	780492

Sous-serre	678.04	181947
Arboriculture	976	14246
Fourrages	2069	481717

### 2.3. Le cadre pédologique

Les sols de la cuvette d'ouargla sont caractérisés par l'halomorphie et l'hydromorphie. Les facteurs ayant une influence sur la nature de ces sols sont le climat, principalement la période prolongée de l'évaporation (**Dutil, 1971 in Boutelli, 2012**), le contexte géologique avec les évaporites du Trias et du Sénonien et les concentrations de sel gemme de Plioquaternaire, et enfin la nappe phréatique constituant un réservoir à diffusion des sels à travers tout le profil pédologique (**Idder, 1998**).

La texture de ces sols est généralement sableuse ou sablo-limoneuse. La structure est particulière, parfois avec une structure polyédrique mal développée. Leur compacité est faible, leur couleur est brun rougeâtre, brun clair ou beige. Le pH varie de 7,6 à 8,4. Les sols sont donc à réaction moyennement basique, pouvant être expliquée par la forte proportion d'ions Na<sup>+</sup> dans la solution du sol. Le gypse est fréquent dans de nombreux sols (**Khadhraoui, 2007**).

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Méthodologie de travail

Pour atteindre notre objectif, nous avons adopté une démarche, qui consiste à collecter des informations sur l'utilisation des pesticides par les agriculteurs et leurs pratiques phytosanitaires pour ensuite procéder à l'estimation du risque de leur utilisation, en outre leur influence sur l'environnement (le sol). Notre approche est la suivante :

Le choix des sites c'est fait après plusieurs sorties au niveau des stations à vocation agricole parmi elles nous avons enquêté auprès des sites suivants : Ramtha, Kahf Soltane, N'goussa, Hassi Ben abdelah, Hassi lakhfif, et El Gadachi (El-Hjira).

L'élaboration d'un questionnaire, destiné aux agriculteurs;

La collecte des données sur les pesticides et leur utilisation dans les sites à étudier ;

L'établissement d'enquêtes auprès des organismes d'agriculture (DSA)

Quelques analyses physico-chimiques du sol,

Résultats des enquêtes.

## 2.2. Choix des sites

Le choix des sites est motivé par :

La diversité des systèmes de cultures : en effet, la région a connu un développement assez remarquable ces dernières décennies en agriculture que ce soit en phœniciculture, cultures protégées ou céréaliculture.

L'homogénéité du sol : selon **Hamdi-Aissa et Girard (2000)**, il s'agit d'un pédo-paysage sableux à sable grossier et graviers, avec du calcaire.

## 2.3. Présentation des sites d'étude

Notre choix s'est porté pour notre étude sur deux sites différents par leur vocation agricole dans la wilaya de Ouargla: la commune de Rouissat (Remtha) et la commune de Elgadachi



**Figure 7:** Localisation des deux stations d'étude (google earth) (El-Hjira) (figure 7 photo satellitaire) mais également sur la base de la surface mise en valeur, ce qui augmenterait la probabilité d'utilisation des pesticides.

### Site de Remtha

Le périmètre de Remtha est localisé dans la commune de Rouissat (wilaya de Ouargla), il se situe géographiquement dans la partie Sud-Ouest de la wilaya de Ouargla, il est situé à environ 50 km au Sud-Ouest de l'agglomération chef-lieu de la commune de Rouissat. Cette dernière est distante de 5 km du chef-lieu de la wilaya de Ouargla (DSA). Le site de Ramtha

(figure 7) dispose d'une surface agricole identifiée de 36.906 ha. La superficie actuellement cultivée est de 398,4 ha (selon la **DSA**).

#### **Site d'El-Hjira**

Elle est située à 100 km au Nord de la wilaya de Ouargla, et possède plusieurs zones agricoles. Nous avons choisi la zone d'Elgadachi, située à 20 km du centre ville d'El-Hjira.

#### **4. Elaboration d'un questionnaire phytosanitaire**

Après un certain temps d'observation, de recherche bibliographique, de discussions et de réflexion, nous avons pu mettre en place un type de questionnaire qui tient compte essentiellement de la protection phytosanitaire et également de différents éléments pouvant agir de façon directe ou indirecte sur les aspects phytosanitaires (voir annexe 1).

Les bases de données utilisées :

L'index des produits phytosanitaires à usage agricole homologués en Algérie est disponible sous forme de catalogue imprimé, édition 2011 par la Direction de la Protection des Végétaux et des Contrôle Techniques (DPVCT) sous tutelle du Ministre d'agriculture et du développement rural.

L'index phytosanitaire contient les données sur les produits pesticides à usage agricole qui sont:

- Le nom commercial
- La matière (s) ou active (s) qui constitue le produit.
- La concentration de la matière active dans le produit, qui s'exprime soit en pourcentage ou en g/l.
- La formulation de la spécialité commerciale (par exemple la formulation EC: Concentré émulsionnable, SP: Poudre soluble dans l'eau,.....).
- Le déprédateur ciblé (insectes, acariens, maladies fongiques, mauvaise herbe, nématodes,.....).
- Les cultures à traiter.
- La dose homologuée pour l'utilisation.
- Une case pour les observations s'ils existent, comme par exemple le danger pour les abeilles, ou des conseils.
- Le numéro d'homologation.
- La firme d'origine.
- Le représentant qui distribue les pesticides.

## 5. Résultats des enquêtes auprès des structures agricoles.

Dans cette partie, nous présentons les résultats des enquêtes menées auprès des différentes structures agricoles de la région, en relation avec les produits phytosanitaires.

### 5.1. Les pesticides utilisés par la D.S.A. de Ouargla

D'après la direction des services agricoles de la wilaya de Ouargla, les campagnes de lutte se font essentiellement contre : les acridiens, le Boufaroua, le Myelois (tableau 5).

**Tableau 5:** Produits phytosanitaires utilisés durant les campagnes de lutte contre les fléaux

Fléaux	Nom commercial du produit utilisé	Matières actives	formulation	Dose d'utilisation	D.A.R (jours)
Acridiens	Malaliulin 50 ULV	MALATHION	ULV	11/ha	21 à 30
	Kung fu 2,5 EC	LAMBDA-CYHAMOTHRINE	EC	50 ML/hl	05
	Alphythrine 12,5 ULV	DELTA-METHRINE	ULV	11/ha	-
	Alphythrine 25 EC	DELTA-METHRINE	EC	11/ha	-
	Lamdacytrine 2% ULV	LAMBDA-CYHAMOTHRINE	ULV	11/ha	21
Boufaroua	Fastac 5 EC	ALPHA-CYPERMETHRINE	EC	200 ml/ha	-
	Torque SC	FENBUTATIN-OXYDE	SC	75 à 90 cc/hl	-
	Vapcomic*	FARNE-SOL+NEROLIDOL+GERANIOL	EC	50 ml/ha	10
	Biomite	FARNE-SOL+NEROLIDOL+GERANIOL	EC	21/ha	2
	Zero*	ABAMECTINE	EC	50 ml/hl	-
Ectomyelois	Ponstyl 25 WP	CYHEXATIN	WP	1,2 kg/ha	14
	Dimilin 45%	DIFLUBEZURON	EC	150 ml/ha**	-
	Maverick 2 F	TAU-FLUVALINATE	EC	40 0 50 ml/hl	21
	Bulldock 25 SC	BETA-CYFLUTHRINE	SC	0,5l/ha	-

ULV : ultra-low volume, EC : concentré émulsionnable, SC : suspension concentrée, WP : poudre mouillable

\*Insecticides à effet Acaricide

\*\*Mélange avec 4,8 litres d'huile minérale.

D'après le tableau 5, la lutte contre les acridiens se fait principalement par les insecticides qui appartiennent à la famille des Pyréthroides de synthèse, soit sous formulation ULV (Ultra Low Volume) d'un liquide homogène, directement utilisable dans un appareil de traitement à Ultra Bas Volume pour une dose de 11/ha; soit sous forme d'émulsion. Après dilution dans l'eau, les doses utilisées varient entre 0,2 l/h et 5 l/h en fonction du produit et leur matière ac-

tive qui le compose. On dénombre 6 spécialités commerciales, réparties sur 4 matières actives qui appartiennent à deux familles chimiques différentes:

-Les organophosphorés (malathion).

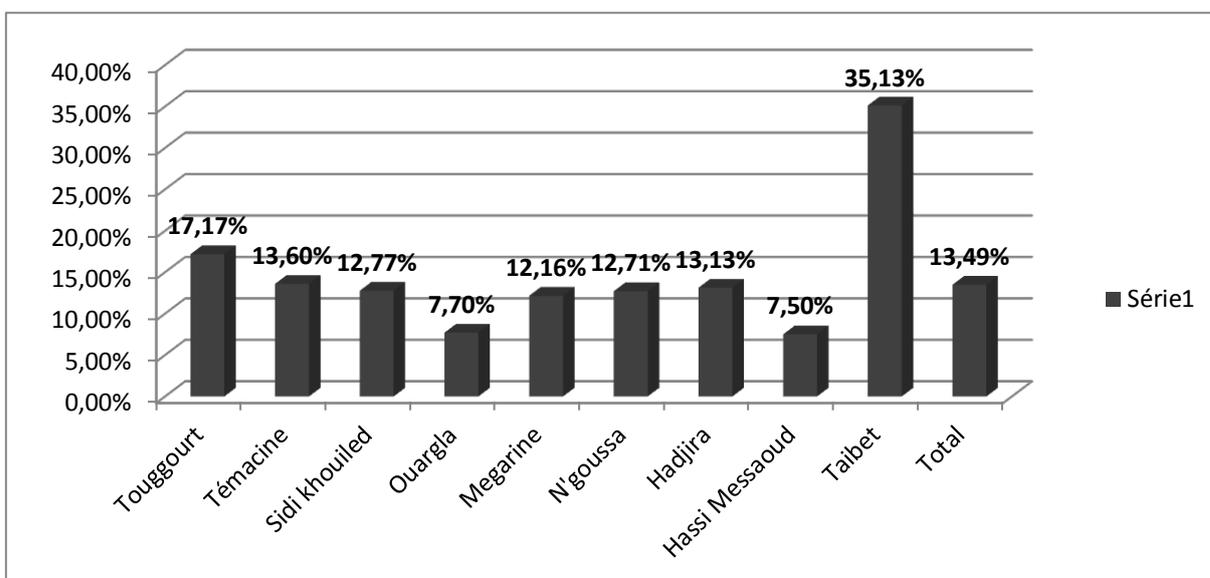
-Pyréthroides (lambda cyhalothrine, deltaméthrine, alpha-cyperméthrine).

Selon la direction des services agricoles, la lutte se fait essentiellement par l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV), ainsi que les opérateurs privés et les agriculteurs. Le tableau 6 montre la répartition des palmiers dattiers traités contre le boufaroua dans la région de Ouargla (DSA, 2014).

**Tableau 6:** Répartition des palmiers dattiers traités contre le boufaroua, par daïra (DSA, 2014).

Dairas	Nombre de palmiers traités	Nombre total de palmiers	Pourcentage de palmiers traités
Tougourt	75970	442568	17,17 %
Témacine	53000	389603	13,60 %
Sidi khouiled	57100	446989	12,77 %
<b>Ouargla</b>	<b>31450</b>	<b>413891</b>	<b>07,70%</b>
Megarine	43395	356869	12,16 %
N'goussa	22150	174253	12,71 %
<b>El-Hjira</b>	<b>20000</b>	<b>152340</b>	<b>13,13 %</b>
Hassi Messaoud	6140	81864	07,50 %
Taibet	36500	103891	35,13 %
<b>Total</b>	<b>345705</b>	<b>2562268</b>	<b>13,49 %</b>

La Figure 8 montre que l'opération de la lutte dans la totalité de la wilaya de Ouargla a atteint 13,49 % de l'ensemble des palmiers dattiers, et on observe que le pourcentage de lutte dans la région de Ouargla et El-Hdjira (13,13%) sont plus et moins identiques avec d'autres daïra sauf la région de Taibet (35,13%). Ceci peut s'expliquer par le fait que les agriculteurs de la région de Ouargla et El-Hjira ne donnent pas assez d'importance à l'opération de traitements de leurs palmeraies.



**Figure 8:** Pourcentage de palmiers traités contre la boufaroua par daïra

### 5.2. Les pesticides utilisés par la CCLS Ouargla

La Coopérative des Céréales et de Légumes Secs de la wilaya de Ouargla fournit aux agricultures conventionnés une gamme d'herbicides (tableau 7) pour traiter les céréales.

**Tableau 7:** Les herbicides fournis par la CCLS de Ouargla

Nom commercial du produit utilisé	Matières actives	Formulation	Dose d'utilisation
Apyros mç	Sulfo-sulfuron	WG	26,5 g/ha
Granstar 75 DF	Tribenuron-Methyl	DF	12 g/ha
Round up	Glyphosate	CS	8 à 10l/ha
2,4 Diméthilamine Salt	2,4 dichlorophenoxyacétique	SL	0.7à 11 l/ha

### 5.3. Les principaux ennemis des cultures rencontrés au niveau des deux sites

Nous avons adopté la stratégie suivante pour poser un diagnostic :

- Quelle partie de la plante porte les symptômes ?
- Quelle est la localisation des plantes atteintes dans la parcelle ?
- Evolution de la culture atteinte.
- Ampleur des symptômes dans la parcelle.

A partir des résultats des enquêtes que nous avons menées auprès des deux stations visitées, nous avons constaté que les différents ennemis des plantes cultivées sont nombreux et variés. De part les ennemis classiques, nous trouvons également des maladies cryptogamiques comme Oïdium et la Rouille sur lesfeuilles d'aubergine, des carences et des accidents atmos-

phériques par exemple comme le pucerons qui provoque des déformations ou nécroses dans les cultures.

Selon les moyens et les conditions de travail dont nous disposons, on s'est parfois limité à émettre quelques hypothèses concernant les symptômes ainsi que les différents types des pesticides utilisés pour traiter les cultures.

\* Les symptômes rencontrés au niveau des deux sites d'étude

Certains symptômes constatés au niveau des deux sites, à la suite de nos observations personnelles sur terrain, ainsi que des discussions avec les agriculteurs, sont liés directement aux aléas climatiques, alors que d'autres non, ce qui rend le diagnostic parfois difficile.

#### **5.4. Résultats des enquêtes des deux sites**

Durant notre enquête on a pu constater que les principales cultures les plus consommatrices de pesticides sont les cultures maraichères, ceci est lié au degré élevé d'attaques par les agents phytopathogènes affectant ces cultures et d'une part, à l'importance économique de ces dernières. C'est le cas de la tomate, la courgette, la pastèque, la menthe, et d'autres produits qui sont considérés comme des produits à large consommation dans la région, ce qui pousse aux agriculteurs désirant avoir une récolte en qualité et en quantité à augmenter au maximum le nombre de traitements avec parfois des doses excessives. De tels comportements vont sûrement avoir un impact sur la santé des agriculteurs, des consommateurs, ainsi que sur l'environnement.

Selon les agriculteurs, les ravageurs biotiques des palmiers dattiers sont représentés par 3 principaux ravageurs, à savoir le boufaroua, la cochenille blanche et la pyrale des dattes dont le boufaroua, classé en première position avec un taux très important.

En ce qui concerne la céréaliculture dans la zone de Remtha selon les agriculteurs, les mauvaises herbes constituent le principal problème phytosanitaire à cause de l'important envahissement des pivots par les mauvaises herbes d'une part et leur résistance aux herbicides d'autre part. Pour les cultures maraichères, la zone de Remtha se caractérise par une diversité de cultures. Par contre la zone d'El-Hjira, la plupart des serres sont cultivées en pastèques. Dans les deux zones nous avons constaté la présence de pucerons et de mildiou chez les agriculteurs enquêtés. Ces ravageurs peuvent détruire toute la production. Les noctuelles peuvent également provoquer d'importants dégâts sur les cultures maraichères (tableau8).

Malgré la disponibilité des eaux, nous avons remarqué une mauvaise répartition entre les cultures, ce qui agit négativement sur le rendement. Les causes de la mauvaise répartition sont différentes et dépendent des techniques d'irrigation utilisées. Concernant l'irrigation par submersion, on remarque une forte dose en début des planches et faible dose à la fin des planches. Cette faiblesse de dose est due aux grandes pertes en eau par infiltration. Pour l'irrigation par pivot, selon **Attalah (2000)**, les pertes en eau sont accentuées par l'évaporation sous l'influence des facteurs climatiques.

**Tableau 8:** Différents bioagresseurs et pesticides utilisés dans les sites (Remtha) et (EL-Hdjira)

Station	Situation	Superficie agricole	Type de culture	Les maladies	Traitement phyto-sanitaires	Matière active	dose	remarque
Ramtha	Sud-ouest de la commune de Rouissat	398,4 ha	- Palmier dattier	- Boufaroua	Mélange 1/3 soufre et 2/3 chaux ou plâtre-  vapcomic	/	/	Ancienne technique  /
				Cochinille blanche	Ovipron	ABAMECTINE 1.8% EC Huile de pétrole 97 %EO	50 ml/h 1 h/l	insecticides
			- Culture maraichères (tomate, courgette ,poivre..).	- Pucerons	Reldan 40 E	- CHLORPYRIPHOS-METHYL		insecticides
				- Botrytis	Priori-opti	-- ABAMECTINE 1.8% EC		insecticides
				- Mildiou				
				Rouille...				
				- Aleurode	Reldan 40 E	-CHLORPYRIPHOS-METHYL		insecticides
				Les champignons (mildiou, pythium )	Alette flash	-FOSETYLE-ALUMINIUM 8 %	250 g/h	fongicides
			Nématodes	Mocap 10 C	-ETHPROCHOS 10 %	3*50 kg/ha		
			- Culture plein champs (blé dur, mais)	mauvaises herbes	Désherber et arracher			
- Arboriculture	Mauvaises herbes	Désherber et arracher						
	100 km au Nord de Ouargla	3699 km2	Palmier dattier	-Boufaroua	Mélange 1/3 soufre et 2/3 chaux ou plâtre  vapcomic			

El-Hjira (El-gadachi)						ABAMECTINE 1.8% EC	50 ml/h		
				Cochenille blanche	Ovipron	Huile de pétrole 97 %EO	1 h/l	Insecticides	
			-Cultures sous serres (pastèque)	-Mouche blanche, l'alternariose				-	Insecticides
				-noctuelle	-Métonate	METHOMYLE 25 %			
				-puceron					
				- puceron	- Karaté	- Pyréthrinoides	-	-	
				Les aleurodes					
				- puceron	- Décis	- Pyréthrinoides	-	-	
	mildiou	- Al gasmar	-	-		Herbicides			
		- pulsar 25 EC	lambdacyhalothrine 25g/l	-		Insecticides			

#### **5.4.1. Le nettoyage et la destruction des résidus des précédents culturaux**

Les résidus des cultures, notamment les mauvaises herbes ainsi que les fruits malades sont utilisés pour l'alimentation des animaux. Cette situation peut constituer un risque de conservation des ennemis dans le sol, comme les graines des mauvaises herbes et des œufs des ravageurs.

#### **5.4.2. La pratique de lutte chimique**

Malgré les inconvénients de la lutte chimique, elle est souvent l'un des procédés les plus utilisés pour lutter contre les ennemis des cultures.

Les enquêtes ont montré qu'au niveau du site de Remtha, 40 % des agriculteurs pratiquent la lutte chimique alors que dans le site d'El-Hdjira, 80 % des agriculteurs pratiquent la lutte chimique. Le choix des pesticides par les agriculteurs dépend des critères suivants:

a- Le prix du produit.

b- La formulation : type granulé et poudre sont les plus utilisés.

c- L'efficacité : les produits polyvalents sont les plus utilisés.

d- L'emballage : les agricultures préfèrent les emballages de petite taille, car les superficies des cultures sont limitées.

Les produits les plus utilisés sont les insecticides.

Dans la zone de Remtha nous citerons: RELDAN, MOCAP, PRIORI OPTI et fongicides comme ALIETT FLACHE.....

Dans la zone de El-Hjira: METONATE, KARATE, DECIS et comme herbicides PULSAR.....voir Annexe1.

Selon quelques agriculteurs, l'efficacité de ces produits est mauvaise, cette situation peut être due aux mauvaises conditions de stockage d'une part et la constitution d'une résistance chez les ennemis aux pesticides, due probablement à l'utilisation répétée de ces pesticides par les agriculteurs.

Pour la dose : les applications des doses par les agriculteurs sont généralement différentes des normes.

## 6. Facteurs influençant le choix des produits phytosanitaires

Plusieurs paramètres en relation avec les produits phytosanitaires vont orienter l'agriculteur avant d'effectuer le traitement. Le tableau 9 reprend l'ensemble des facteurs qui peuvent déterminer ce choix.

**Tableau 9:** Facteurs influençant le choix d'un produit

Facteurs déterminants	% d'agriculteurs
Prix d'achat	52,53%
Toxicité pour l'utilisateur	04,16%
Impact sur l'environnement	02,50%
Possibilité d'association	13,33%
Spectre d'action	19,16%
Délai avant récolte	01,66%
Durée d'action	06,66%
Phytotoxicité	00,00%
TOTAL	100%

Certains agriculteurs affirment que le choix d'un pesticide est parfois délicat d'autant plus qu'il existe sur le marché des appellations multiples pour des produits dont le principe actif ou le mode d'action est le même. Il ressort des résultats présentés dans le tableau 8 que pour presque la moitié des producteurs le principale critère qui détermine le choix d'un produit est le prix d'achat, le spectre d'action et la possibilité d'association, avec respectivement 19,16% et 13,33% ; Quant au délai imposé entre l'application et la récolte, seul 6,66 % des agriculteurs en tiennent compte.

### 6.1. La pratique et le mode de stockage des pesticides dans les sites enquêtés

La pratique de la lutte chimique est effectuée par l'agriculteur lui même avec des appareils anciens et des doses de pesticides élevées, surtout au niveau d'El-Hjira. Ils utilisent fréquemment différents pesticides sans tenir compte des modes d'utilisation mentionnés sur l'étiquette, ce qui constitue un risque sur la santé de l'utilisateur.

Au cours de notre présence au niveau des exploitations, nous avons noté des emballages vides restés sur terrain, constituant ainsi un danger pour les enfants et les animaux domestiques (**annexe 01**).

Enfin, des risques d'absorption de pesticides ne sont pas exclu si des végétaux traités sont consommés peu après l'application; c'est pourquoi il convient de respecter les délais d'emplois entre le dernier traitement et la récolte.

## **6.2. Conclusion des résultats des enquêtes réalisées dans les deux sites agricoles**

Mis à part les problèmes phytosanitaires et la mauvaise gestion de l'utilisation des pesticides, d'autres aspects socio-économiques sont à citer:

- La faiblesse de niveau d'instruction;
- L'absence de la vulgarisation agricole;
- Manque de moyens financiers.

La pratique chimique non raisonnée peut entraîner des conséquences graves sur l'environnement, les cultures et l'Homme par:

- L'effet négatif des pesticides sur les auxiliaires et l'apparition de nouveaux ravageurs des cultures.
- La pollution de l'environnement (eau, sol et air) à long terme;
- La phytotoxicité des plantes cultivées;
- Résidus toxiques des pesticides sur le consommateur.

### **Conclusion**

L'objectif de ce travail est d'établir un diagnostic sur l'utilisation des pesticides dans la région de Ouargla, en matière de pratiques phytosanitaires et des produits utilisés dans la lutte contre les différents ravageurs des cultures. Lors de nos prospections dans plusieurs sites agricoles, nous avons choisi deux sites différents pour l'enquête : Remtha et El-Hjira.

A la lumière des enquêtes réalisées lors de nos prospections, nous pouvons conclure comme suit : les sites enquêtés se caractérisent par divers problèmes phytosanitaires dus à des facteurs, biotiques et abiotiques, signalés par des symptômes sur les cultures. Les deux sites agricoles utilisent des pesticides, mais la zone d'Elgadachi (El-Hdjira) beaucoup plus par rapport à la zone de Remtha, (site nouvellement installé), malgré la présence d'une monoculture (pastèque). Toutefois, les agriculteurs utilisent intensivement les pesticides, sans tenir compte de la dose ou des conditions d'utilisation; ce qui constitue un danger pour l'agriculteur, le consommateur et l'environnement.

Nous avons constaté que 80 % des produits phytosanitaires sont des insecticides pour la lutte contre les ennemis des cultures maraichères et l'arboriculture fruitière dans les deux zones. L'étude des moyens et techniques de lutte permet de dire que, malgré les moyens financiers plus au moins stables des agriculteurs, la protection de leurs cultures est mal contrôlée.

A cet effet, nous recommandons ce qui suit :

La vulgarisation ; elle est indispensable car la pratique de la protection phytosanitaire nécessite des connaissances spécifiques sur les ennemis des cultures, les produits à utiliser et le mode d'utilisation en tenant compte des mesures à prendre (utilisation de masques, gants.etc...). La vulgarisation peut être effectuée de différentes manières, à savoir des visites répétées au niveau des exploitations agricoles, assurées par des agents de la protection des végétaux. Ceci permettra de mettre en évidence les risques d'utilisation anarchique des pesticides, notamment sur la santé humaine (les agriculteurs et les consommateurs), sur les plantes elles mêmes et sur l'environnement. Les moyens de télécommunication tels que la radio et la télévision peuvent également contribuer de manière significative à la vulgarisation agricole.

*Extraction de quelques pesticides utilisés dans  
le domaine de l'agriculture saharienne d'El-  
Hjira (DASE) wilaya de Ouargla*



## Introduction

Les pesticides sont communément associés à des adjuvants au sein des spécialités/formulations commerciales. Ces adjuvants permettent de solubiliser et de stabiliser sur de longues périodes la substance active mais aussi d'augmenter son efficacité, notamment en favorisant sa pénétration et sa diffusion dans la plante. Les adjuvants les plus répandus sont les surfactants, les huiles végétales et minérales, les polymères naturels ou synthétiques, les humectants, les sels organiques, les solutions tampons, les solvants, etc. (Luiz *et al.*, 2013). Une formulation typique contient moins de 50% de substance active (Mullin *et al.*, 2015). Il faut également savoir que certains adjuvants sont ajoutés juste avant épandage (*tank mix adjuvants*) (Nobels *et al.*, 2011).

La présence d'autres pesticides peut également influencer la mobilité d'un composé, en modifiant notamment ses capacités d'adsorption aux particules du sol. Il a ainsi été montré que les deux herbicides amétryne et glyphosate étaient plus fortement adsorbés sur les particules de sol quand ils étaient appliqués simultanément en comparaison de leur application individuelle (Alves, 2012).

la persistance et la biodisponibilité des pesticides peuvent être influencées par des adjuvants (Rodríguez-Cruz *et al.*, 2007; Kucharski and Sadowski, 2009; Cabrera *et al.*, 2010; Kucharski *et al.*, 2011). Des temps de demi-vie plus grands ont ainsi été reportés pour l'atrazine et le coumaphos en présence de surfactants non-ioniques (Mata-Sandoval *et al.*, 2001). Il a également été montré une plus grande persistance de la protéine Cry de *Bacillus thuringiensis* dans le sol quand elle est épandue sous forme de biopesticide formulé, par rapport à la protéine pure, montrant un effet protecteur des adjuvants (Hung *et al.*, 2016).

Enfin, la persistance des pesticides dans les sols peut aussi être influencée par la présence d'autres substances actives, les effets étant variables selon les molécules. Les temps de demi-vie dans le sol peuvent en effet être réduits (Alves, 2012).

Le lessivage des pesticides dans le sol et le transport des matières actives par le vent dans les zones parfois même inaccessibles en sont des exemples concrets et très inquiétants, leur degré de concentration reste en fonction des conditions physico-chimiques et topographiques du terrain, ainsi que d'autres considérations telles que la nature et la composition du sol ainsi que le climat (Busson, 1971). Des effets secondaires indésirables peuvent alors se produire sur certaines espèces, sur les communautés ou sur l'écosystème (Hayo *et al.*, 1996).

## **1. Principe d'étude**

Les pesticides peuvent être très nocifs, ils peuvent endommager l'environnement et s'accumuler dans les écosystèmes ; comme ils possèdent le potentiel de causer toute une gamme d'effets toxiques envers la santé humaine, indépendamment de la dose appliquée, parmi lesquels le cancer, les dysfonctions des systèmes reproductifs, des systèmes endocriniens et immunitaires, l'atteinte aiguë et chronique du système nerveux et l'endommagement des poumons (**Chubilleau et al., 2011**). L'exposition aux pesticides peut être de nature très variée : professionnelle ou non ; conduisant à une contamination par diverses voies (Digestive, respiratoire, cutanée, muqueuse) ; associant ou non des pesticides, susceptibles de présenter alors des effets synergiques (**Chubilleau et al., 2011**).

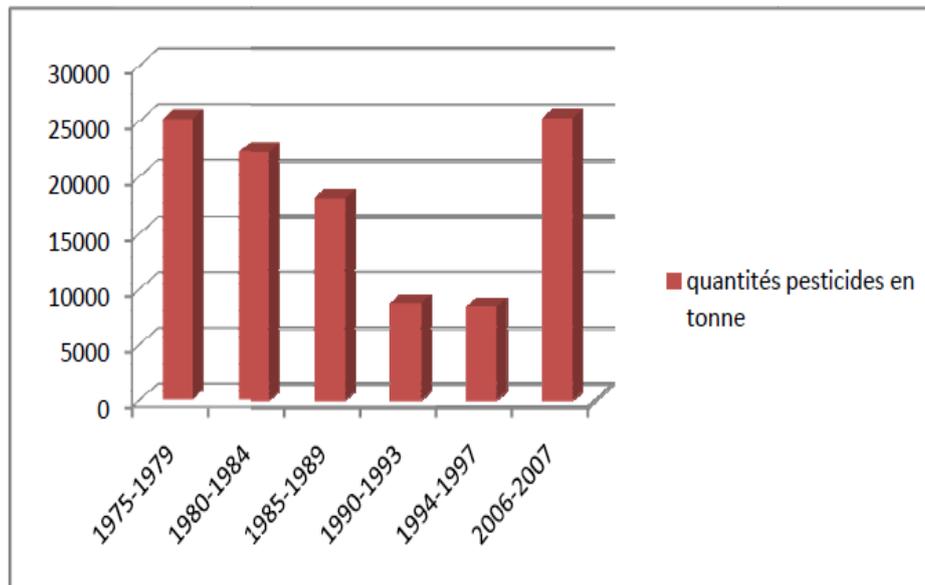
La diversité des produits et des pratiques et l'évolution des matières actives entraînent des difficultés méthodologiques considérables qui limitent l'estimation de l'exposition aux pesticides (**Zeljezic et al., 2006**).

Le contrôle des produits phytosanitaires s'est établi peu à peu en fonction de la politique de développement prônée par le pays et par la disponibilité des moyens. En Algérie, ce contrôle a connu une évolution dans le temps. La promulgation de la loi n° 87-17 du 01.08.1987 relative à la protection phytosanitaire a permis d'édicter les mesures relatives à la fabrication, l'étiquetage, l'entreposage, la distribution, la commercialisation et l'utilisation des produits phytosanitaires à usage agricole. Au terme de la loi, aucun produit phytosanitaire ne peut être commercialisé, importé ou fabriqué s'il n'a pas fait l'objet d'une homologation. L'homologation des produits phytosanitaires a été instituée en Algérie par les décrets exécutifs suivants qui fixent les mesures applicables lors de l'importation et l'exportation des produits phytosanitaires à usage agricole (**Journal Officiel de la République Algérienne, 2010**).

-n° 95-405 du 02 décembre 1995.

-n° 10-69 du 31 janvier 2010.

## **2. Quantité des pesticides importée en Algérie entre l'année 1975 à 2007, (voir figure 9).**



**Figure 9:** Quantité des pesticides importés en algérie en tonnes de 1975 à 2007 (ssda, 2010).

## 2. Quelques données sur la région

La zone d'EL-Hdjira est située dans le prolongement du grand bassin de la partie Nord Est du Sahara Algérien. Le climat est aride, avec une pluviométrie moyenne à faible, et une évaporation potentielle très élevée. Les régions des dépressions sahariennes souffrent depuis longtemps d'un excès d'eau, dont l'origine est la remontée des eaux de la nappe phréatique (**Cornet, 1964; Busson, 1971**).

### 2.1. Situation géographique de la région d'étude

La région d'El-Hdjira est située au Nord de Ouargla (chef-lieu de wilaya). Son territoire s'étend entre les latitudes 32' 25' et 32' 59' Nord et entre les longitudes 5' 20' et 6' 07' Est.

Implantée entre le chef-lieu de wilaya et le chef-lieu de la daïra de Touggourt, respectivement à 140Km et 100Km, elle occupe une superficie de 2429 Km<sup>2</sup>.

El-Hjira est chef-lieu de daïra depuis 1985 et fut fondée en 1960 sous le nom de la commune d'Ouled Sayeh, puis comme d'El-Hjira en 1963, officialisée par décret 65- 246 du 30 septembre 1965 et maintenue par la réforme administrative de 1974 ; ordonnance 74-69 du 02 juillet 19 (**Eress, 1972**).

### 2.2. Synthèse climatique

Du fait que les éléments climatiques n'agissent jamais indépendamment les uns des autres, les nombreux utilisateurs, notamment les écologues et les climatologues, ont cherché à présenter le climat par des formules intégrant ses principales variables. Les formules les plus utilisées combinent les précipitations et la température.

### 2.2.1. Etude des paramètres climatiques

Après l'emplacement de Q3 = sur le Climagramme pluviométrique d'Emberger, (Figure 10), El-Hedjira est située dans l'étage bioclimatique saharien à hiver doux ; mais aussi, la faible altitude tend encore à accentuer les conditions xériques des chotts.

### 2.2.2. Données brutes

Le tableau 10, indique les données climatiques brutes de la région d'Ouargla durant la période (2007-2017).

**Tableau 10:** Données climatiques de la région d'ouargla (o.n.m., 2017)

Paramètre	T <sub>max</sub> (°C)	T <sub>min</sub> (°C)	T <sub>moy</sub> (°C)	P (mm)	Insolation (heures par mois)	Vent (m/s)	Evap (mm)	H (%)
Mois								
Janvier	<b>18,95</b>	<b>5,07</b>	<b>12,01</b>	<b>13,06</b>	<b>231,75</b>	<b>2,7</b>	<b>96,19</b>	<b>60,38</b>
Février	20,48	6 ,48	13,14	1,35	239,41	3,1	126,65	52,22
Mars	25 ,66	10,28	19,97	4,4	264,72	3,6	198,07	43,16
Avril	31,22	15	23,11	4,24	282,53	4,2	262,05	36,88
Mai	34,53	19,65	27,09	1,15	288,04	4,2	316,89	32,5
Juin	39,52	24,84	32,67	0,39	291,24	4,3	401,55	27,22
Juillet	39,52	27,86	35,12	0,62	314,03	3,9	453,70	24,88
Août	43,66	27,24	35,45	2,63	309	3,5	416,87	27,72
Septembre	42,85	23,49	33,17	5,77	244,32	3,5	300,72	37,66
Octobre	37,70	17,43	27,56	9,54	246,68	3,1	226,88	45,88
Novembre	31 ,72	10 ,14	20,93	5,46	219,11	2,6	204,93	55,61
Décembre	24,07	5,87	14,97	8,53	186,59	2,5	90,51	60,55

### 2.2.3. Les précipitations

Selon **Dubief (1953)** in **Chehma (2005)**, les précipitations ont pratiquement toujours lieu sous forme de pluies. Ces dernières sont caractérisées par leur faible importance quantitative et les pluies torrentielles sont rares.

### 2.2.4. Le vent

Le vent est un phénomène très fréquent dans le désert, où il joue un rôle considérable en provoquant une érosion intense grâce aux particules des sables qu'il transporte. En contrepartie une sédimentation également importante se traduit par la formation de dunes (**Ozenda, 1977**).

### 2.2.5. L'évaporation

L'évaporation est un phénomène physique qui augmente avec la température, la sécheresse de l'air et son agitation. Dans le Sahara algérien on a pu mesurer une tranche d'eau évaporée

annuellement de l'ordre de 3 à 5 mètres environ. Le tableau 10 montre que l'évaporation est très importante à Ouargla, le maximum est de l'ordre de 453,70 mm enregistré au mois de juillet. Le minimum est marqué au mois de décembre avec 90,51mm.

### 2.2.6. L'insolation

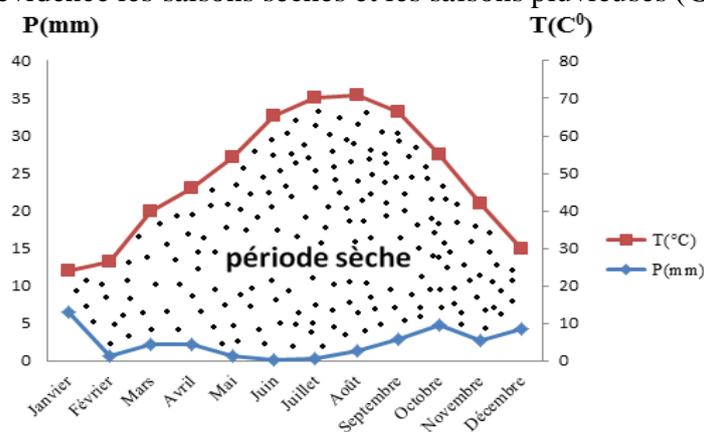
Le Sahara recèle une quantité de lumière solaire relativement très forte. Le nombre d'heures annuelles de soleil est de l'ordre de 3000 à 3500 heures (**Ozenda, 1977**). Les valeurs de l'insolation maximum exprimées dans le tableau 10 sont de 314,03 heures en juillet. Le minimum étant de 186,59 heures en décembre.

### 2.2.7. L'humidité de l'air

L'humidité relative au Sahara est faible, elle est inférieure à 20 % (**Monod, 1992**), le tableau 10 donne les valeurs d'humidité relative moyenne, observées en 10 ans d'observation (2017).

### 2.2.8. Diagramme ombrothermique de Gausson

Pour Gausson un mois est « sec » si le quotient des précipitations mensuelles « P » exprimé en (mm), par la température moyenne « T » exprimé en (°C) est inférieur à deux (02). La représentation sur un même graphique de la température et des précipitations moyennes mensuelles, avec en abscisse les mois, permet d'obtenir le diagramme Ombrothermique mettant immédiatement en évidence les saisons sèches et les saisons pluvieuses (**Gerard, 1999**).



**Figure 10:** Diagramme ombrothermique de la région de Ouargla (2007-2017)

### 2.3.1. Climatogramme d'Emberger

Le quotient pluviométrique d'Emberger (Q3) élaboré en 1990 est spécifique au climat méditerranéen, il tient compte des précipitations et des températures, et nous révèle l'étage bioclimatique.

La formule établit par Stewart (1979) est comme suit :

$$Q_3 = 3,43 \frac{P}{M - m}$$

Avec :

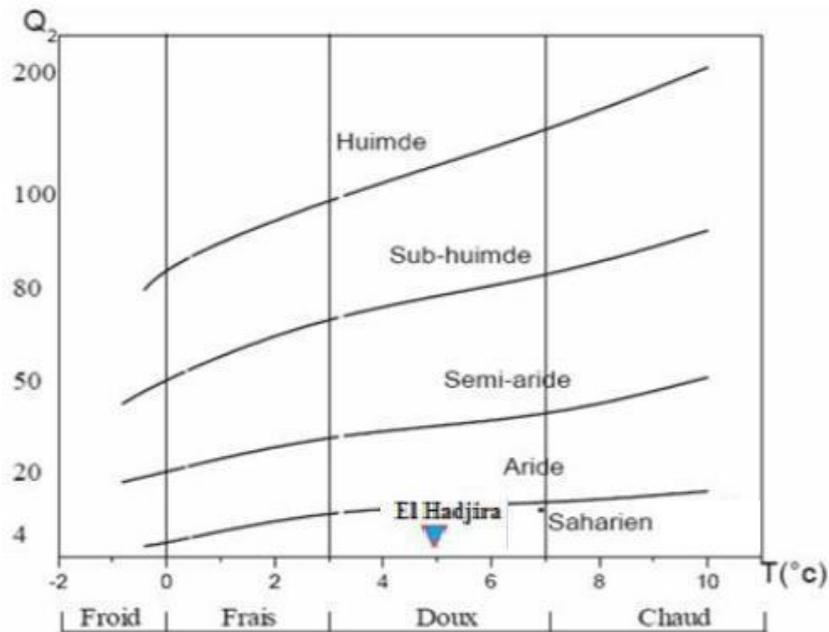
Q3 : Le quotient pluviométrique d'Emberger.

P : la pluviométrie annuelle en mm

M : la température maximale moyenne du mois le plus chaud en °C.

m : la température minimale moyenne du mois le plus froid en °C.

Après l'emplacement de Q<sub>3</sub> = sur le Climatogramme pluviométrique d'Emberger, (Figure 11), El-Hjira est située dans l'étage bioclimatique saharien à hiver doux ; mais aussi, la faible altitude tend encore à accentuer les conditions xériques des chotts.



**Figure 11:** Localisation de la région d'El-Hjira sur le climatogramme d'Emberger.

Pour la période considérée (1996-2013), l'indice d'aridité de Demartone de Ouargla est de 0.19 traduisant un climat aride. Selon **Hamdi Aissa, (2004)** le climat de Ouargla est aride à hyperaride tableau 11. Ce qui est conforme à cet indice d'aridité de Demartone très faible.

- Indice d'aridité de Demartone

La formule est donnée comme suit :

$$I = P/T + 10 \dots \dots \dots \text{Demartone, (1925)}$$

Avec :

P : la pluviométrie annuelle moyenne en (mm)

T : la température moyenne annuelle en (°C)

10 : chiffre ajouté afin de ne pas avoir un indice négatif.

Le classement des régions se fait selon les limites suivantes :

**Tableau 11:** Indice d'aridité de demartonne

	<b>Ia&lt;10</b>	<b>10&lt;Ia&lt;20</b>	<b>25&lt; Ia&lt;35</b>	<b>Ia&lt;35</b>
Climat	Aride	Semi-aride	Sub humide	Humide

### **3. Paramètres édaphiques**

La texture du sol de la région de Ouargla : selon **Hamdi-Aissa et Girard (2000)**, il s'agit d'un pédo-paysage sableux à sable grossier et graviers, avec du calcaire.

### **4. Matériels et Méthodes**

L'analyse des résidus de pesticides dans les sols comprend différentes étapes dont chacune a une incidence déterminante sur le résultat. Chacune des étapes doit faire l'objet d'attentions particulières s'exprimant sous formes de procédures et consignes spécifiques. Ces étapes sont les suivantes :

- L'échantillonnage ;
- Le stockage et le transport des échantillons d'eau ;
- L'extraction des substances contenues dans le sol ;
- La concentration des extraits avant analyse ;
- L'identification des substances détectées.

#### **4.1. L'échantillonnage**

L'échantillonnage a été effectué le 10/12/2017 à 9h du matin, dans le domaine de l'agriculture saharienne d'El-Hjira (DASE), où nous avons prélevé notre échantillonnage à différentes profondeurs, (20cm, 40 cm, 60 cm, et 100cm) et sous différentes cultures : Cultures maraichères, céréalicultures (cultures en plein champs), la culture des olives et le palmier dattier. Il est à noter que la température ambiante était entre 12°C et 16°C. Après avoir effectué l'échantillonnage des sols et ceux des pesticides ces derniers ont été transférés immédiatement au laboratoire.

#### **4.2. Analyses physico-chimiques**

Ces analyses ont porté sur :

##### **4.2.1. La teneur en eau (l'humidité)**

Nous avons procédé à la détermination de la teneur pondérale en eau du sol par la méthode gravimétrique qui consiste à dessécher l'échantillon du sol à 105°C pendant 24 heures.

#### **4.2.2. Le potentiel d'hydrogène**

Selon AFNOR (1999) ; Soltner (2005), la mesure du pH s'effectue au pH mètre sur une suspension de terre fine, le rapport masse/volume étant en général de 1/5.

#### **4.2.3. La conductivité électrique**

La conductivité électrique est mesurée à l'aide d'un conductimètre sur l'extrait de sol dilué au 1/5. Elle est exprimée en déci siemens par mètre (dS/m) (Baize, 2000).

#### **4.2.4. La matière organique**

Le carbone organique de l'échantillon de sol est oxydé par le bichromate de potassium en milieu sulfurique. Le bichromate doit être en excès, la quantité réduite est en principe proportionnelle à la teneur en carbone organique (Aubert, 1978).

Le taux de matière organique étant obtenu par la formule :

Matière organique = carbone organique (%) × 1,72.

#### **4.2.5. Le calcaire total**

Le dosage du calcaire total est réalisé par la méthode acidimétrique grâce au calcimètre de Bernard (Aubert, 1978).

### **5. L'extraction des pesticides**

Le soxhlet permet l'extraction des solides de toutes tailles avec des solvants en phase liquide cette technique permet d'obtenir des résultats satisfaisants Topan (2005), Savadogo et al. (2006).

La matrice solide est introduite dans une cartouche de cellulose fixée sur un réservoir de solvant qui est surmonté d'un réfrigérant (annexe 02). Le solvant chauffé est vaporisé et condensé au niveau du réservoir et reste en contact avec le solide. Quand le volume du solvant condensé du réservoir atteint un certain niveau le solvant repart dans le chauffe-ballon par phénomène de siphon pour être à nouveau condensé tout en entraînant les composés d'intérêt dans le ballon où ils seront concentrés après plusieurs cycles d'extractions. 50g de sol séché et tamisé à 2mm, sont introduits dans une cartouche en cellulose. 200ml de dichlorméthane pure est introduit dans le ballon à une température égale à 40°C (température d'ébullition du solvant). L'extraction des pesticides a duré entre 15mn et 17mn et cinq cycles pour chaque échantillon. La concentration des extraits de pesticides est réalisée à l'aide d'un rota vapeur, et récupéré dans un flacon en verre, conservé au frais à une température de 4°C.

## **6. L'Analyse qualitative des pesticides**

### **6.1. Méthode chromatographique sur couches minces CCM**

La chromatographie sur couche mince est la plus simple des méthodes chromatographiques. Elle consiste à placer sur une feuille (papier, silice ou autre) une tache et de la laisser éluer en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé éluant), l'éluant diffuse le long du support. La tache migre sur la feuille plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support et de l'éluant.

### **6.2. Réalisation d'une CCM**

Cette méthode très facile à mettre en œuvre est une des principales utilisées dans les laboratoires. Elle présente l'avantage de ne nécessiter que peu de matériel et donner des résultats facilement interprétables mais pas toujours très reproductibles. La CCM se déroule en trois étapes : préparation de la cuve, préparation de la plaque, et l'élution.

### **6.3. Les étapes de la réalisation de la chromatographie sur couche mince**

#### **a-choix de la phase mobile**

Le choix de l'éluant est essentiel, il n'est pas toujours fourni avec le mode opératoire et il est important de savoir le choisir. L'éluant est souvent un solvant ou un mélange de plusieurs (2 ou 3) solvants par caractère polaire croissant.

1-Ethanol 100 %      —————>      pas de séparation à cause de la forte polarité

2-Ethanol 50%    hexane 50%————>      pas de séparation à cause de la faible polarité de l'hexane

3-Dichlorométhane+ quelques gouttes d'éthanol —————> séparation

#### **b-Dépôt de l'échantillon sur la plaque**

On a prélevé environ 0,5 µl de la solution en un point situé à 1 cm de l'extrémité inférieure de la plaque ; le diamètre de la tache doit être d'environ 2mm pour la disposition de plusieurs produits. La première goutte de l'extrait de sol et l'autre goutte des pesticides. Sur la ligne de dépôt, on a placé une petite goutte de chaque étalon à cette chromatographie

#### **c-Préparation de la cuve**

Préparer l'éluant en respectant les proportions du mode opératoire. On a placé 5 mm dans le fond de la cuve puis on a fermé le couvercle (annexes 02).

#### **d- Préparation de la plaque**

On a découpé une plaque aux dimensions raisonnables 8 cm/5 cm.

On a tracé au crayon un trait à 1 cm du bas de la plaque.

Sur ce trait on a tracé des petits points de 1 cm de distance où seront déposées les taches.

Ensuite on a déposé à l'aide d'une micropipette (ou pipette Pasteur) les solutions sur chaque point.

Les gouttes doivent être les plus petites possibles (annexes 02).

#### **e. Elution**

On a placé la plaque dans la cuve et on a laissé l'éluant diffuser (annexes 02).

Placer la plaque dans la cuve, fermer et laisser l'éluant diffuser (annexes 02).

Lorsque le front d'éluant est arrivé à 1 cm du haut de la plaque on a arrêté la CCM (cette opération prend environ 15 min, ça dépend du support et de l'éluant).

On trace au crayon le front de l'éluant et enfin on sèche la plaque au pistolet ou à la chaleur d'une plaque chauffante.

#### **f. Révélation UV**

Si la plaque est fluorescente, sous une lampe UV, toute la plaque apparaît verte sauf là où sont les taches que l'on entoure au crayon.

Les dérivés aromatiques absorbent dans l'UV. Placer la plaque sous une lampe UV et entourer les taches colorées.

#### **g. Calculs et interprétation**

La position finale de la tache (ou spot) est caractéristique de la molécule. On lui attribue une valeur, le  $R_f$  (Retention factor) en anglais qui a été fort habilement traduit comme Rapport frontal. Ce  $R_f$  est le rapport de la distance parcourue par le composé divisé par la distance parcourue par l'éluant.

Le  $R_f$  vaut :  $R_f = h_s / H_e$

- $h_s$  = hauteur atteinte par l'espèce étudiée.

- $H_e$  = hauteur atteinte par l'éluant.

Le  $R_f$  est caractéristique d'une molécule pour un éluant et un support donné.

### **7. La Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)**

La chromatographie est l'instrument de base de tout laboratoire, c'est une technique d'analyse qualitative et quantitative de la chimie analytique dans laquelle l'échantillon contenant un ou plusieurs composés est adsorbé sur une phase stationnaire (papier, gélatine, silice, polymère, silice greffée), puis est désorbé par une phase mobile (liquide). Les différents composés de l'échantillon sont séparés en fonction de leurs vitesses d'adsorption-désorption (**Stok et Rice, 1994**).

### **7.1. Principe de l'HPLC**

L'HPLC la chromatographie liquide à haute performance est un moyen très flexible et simple pour isoler et identifier les différents composés d'un mélange. L'HPLC peut être assez largement décrite par une théorie commune. Dans ce cas, un fluide appelé phase mobile traverse une colonne qui contient une phase solide (silice, silice fondue, silice greffée). A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il est entraîné par la phase mobile. Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange ayant des temps de rétentions différents sont séparés par élution (**François Nsemi Muanda, 2010**).

Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplée à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme.

### **7.2. Description du système d'HPLC**

La chaîne HPLC est constituée de divers éléments. La phase mobile alimente le chromatographe en permanence : elle est délivrée dans le système par une pompe dont le débit est modulable. Les composés à séparer, en suspension dans un solvant, sont prélevés grâce à une seringue puis chargés dans le chromatographe par l'injecteur au niveau de la boucle d'injection. Les molécules sont entraînées par la phase mobile vers la colonne chromatographique contenant la phase stationnaire (**Xiang, 2006**).

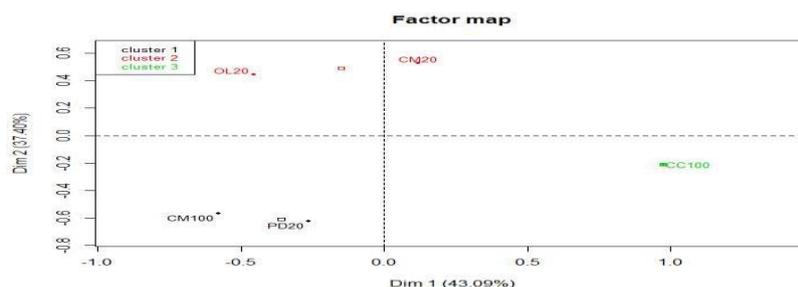
L'affinité des composés pour la phase stationnaire déterminera leur rétention. Un détecteur fluorimétrique suit en permanence l'élution du composé et le signal obtenu est enregistré au niveau de l'ordinateur. Une bonne séparation des composés d'intérêt, grâce à l'utilisation de phases mobiles et stationnaires adaptées à ceux-ci, permettra d'observer au niveau de l'intégrateur un pic isolé, fin et symétrique dont la surface est fonction de la concentration de la solution analysée en ce composé. L'enregistrement et l'analyse des chromatogrammes sont effectués par un logiciel adapté (Normasoft) (**Xiang, 2006**). Les analyses ont été réalisées de cette étude à l'aide d'un chromatographe HPLC-RPC18.

Les différentes parties constituant l'appareil sont décrites ci-dessous :

- Pompe : un système de deux pompes LC 20AL pour déplacer la phase mobile à haute pression (plusieurs dizaines de bars) ;
- Injecteur : c'est une vanne d'injection qui porte une boucle d'échantillonnage portant un volume d'injection : 20  $\mu$ l.
- Colonne : d'une longueur de 125 mm et d'un diamètre interne de 4,6 mm contenant la phase stationnaire apolaire (phase inverse), cette dernière est constituée de silice modifiée chimiquement par greffage de résidus (C-18), ces colonnes en phase inverse permettent la séparation des composés polaires, solubles dans l'eau ou dans les mélanges hydroalcooliques; elle contient la phase stationnaire qui définit le type de chromatographie, soit en phase normale soit en phase inverse, et l'éluant utilisé est constitué de deux compositions constante (H<sub>2</sub>O-acide acétique ,acéto-nitrile).
- Détecteur : un détecteur monochrome UV SPD-20A à longueur d'onde variable (190-400 nm) qui permet de détecter les différents composés contenus dans l'échantillon à analyser. Notons qu'il est important que les produits à détecter portent un chromophore qui absorbe dans cette plage de longueur d'onde. Four : CTO 20A.

## 8. L'analyse statistique

Une analyse multidimensionnelle a été effectuée en utilisant le logiciel R.3.5.2. Une analyse factorielle des correspondances (AFC) a été aussi réalisée pour les variables qualitatives catégorielles après les avoir codées. AFC : la réduction des données génère un taux d'inertie global de 80,49 % ce qui reflète une bonne représentation des variables et des individus sur le plan factoriel. La classification hiérarchique issue de l'AFC a donné 03 groupes de profils (figure 12,13 et 14).

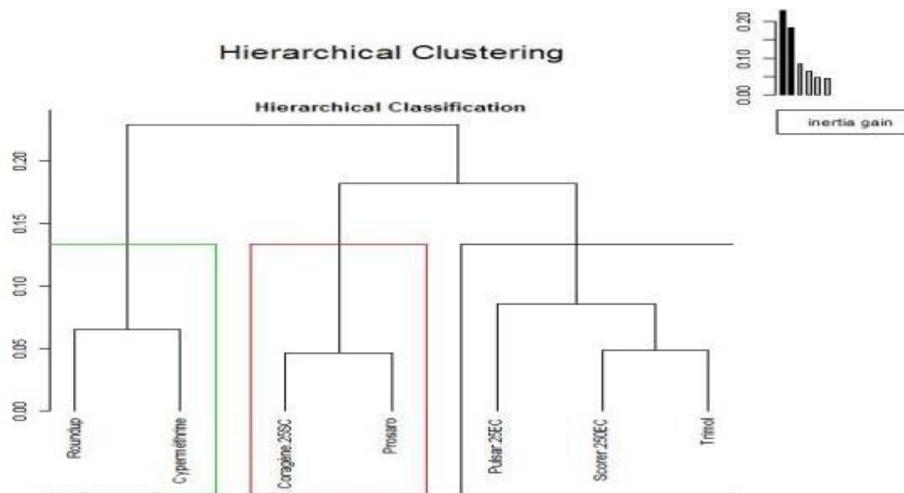


**Figure 12:** Profil représentant les différentes cultures en fonction de la profondeur

**Groupe 1 :** CM100 : Cultures maraichères profondeur 100cm et le Palmier dattier profondeur 20cm

**Groupe 2 :** Cultures maraichères profondeur 20cm et les cultures des olives profondeurs 20 cm

**Groupe 3:** Cultures céréalières profondeur 100cm



**Figure 13:** Les différents groupes de pesticides des sols cultivés.

**Groupe 1 :** Prosaro et le coragène 25SC (un fongicide et un insecticide respectivement)

**Groupe 2 :** Score 25EC et le Trimol (un fongicide et un insecticide respectivement)

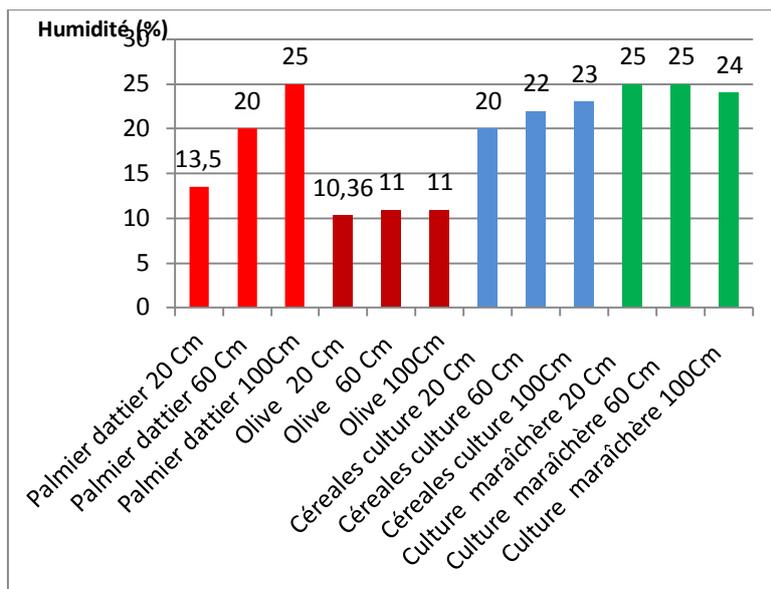
**Groupe 3 :** Roundup et la cyperméthrine (un herbicide et un insecticide respectivement)

## 9. Résultats et Discussion

### 9.1. Résultats des analyses physico chimiques

#### 9.1.1. L'humidité

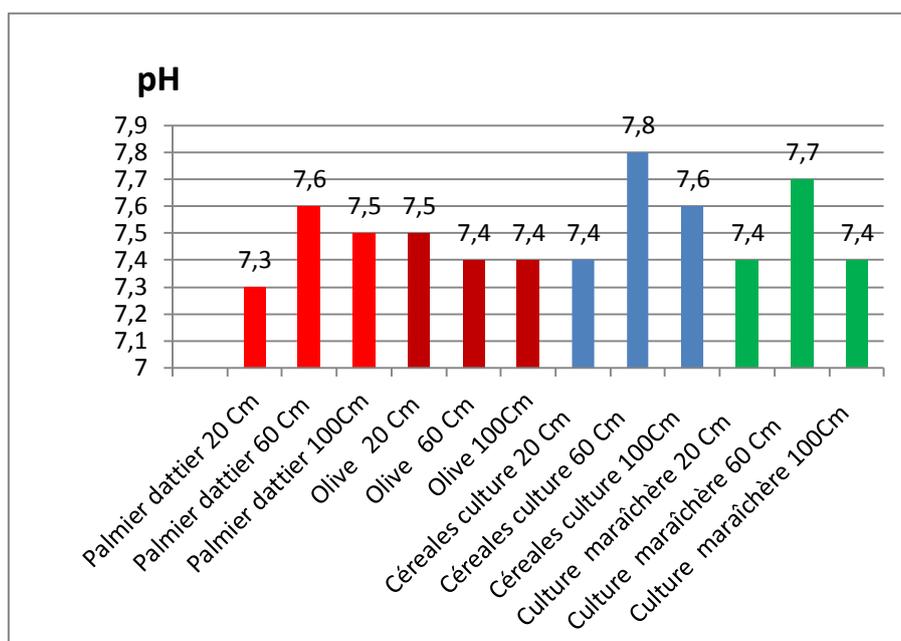
L'humidité est un paramètre important dans le processus de la dégradation des molécules. L'humidité varie entre 11% pour la culture des olives et 25% pour les cultures maraichères, ceci peut être expliqué par la demande en eau des cultures maraichères qui est plus importante que les autres cultures et les sols sont souvent irrigués (figure 15).



**Figure 14:** Variation de l'humidité dans les sols d'El-Hjira

### 9.1.2. Le pH

L'échantillon du sol prélevé à différentes profondeurs et sous différentes cultures présente un pH légèrement alcalin (figure 16), il varie entre 7.3 et 7,8. D'après **Daoud et Halitim (1994)**, les sols des régions arides sont caractérisés généralement par un pH légèrement alcalin à alcalin ( $7,5 < \text{pH} < 8,5$ ).



**Figure 15:** Variation du pH dans les sols cultivés d'El-Hjira.

### 9.1.3. Conductivité électrique

Les résultats de l'analyse de la conductivité électrique sont représentés dans la figure 17. Les valeurs de la conductivité électrique (CE) de nos échantillons sont comprises entre 1,85 dS/m, et 2,77 dS /m ce qui lui confère la classe de sol salé (Aubert, 1978).

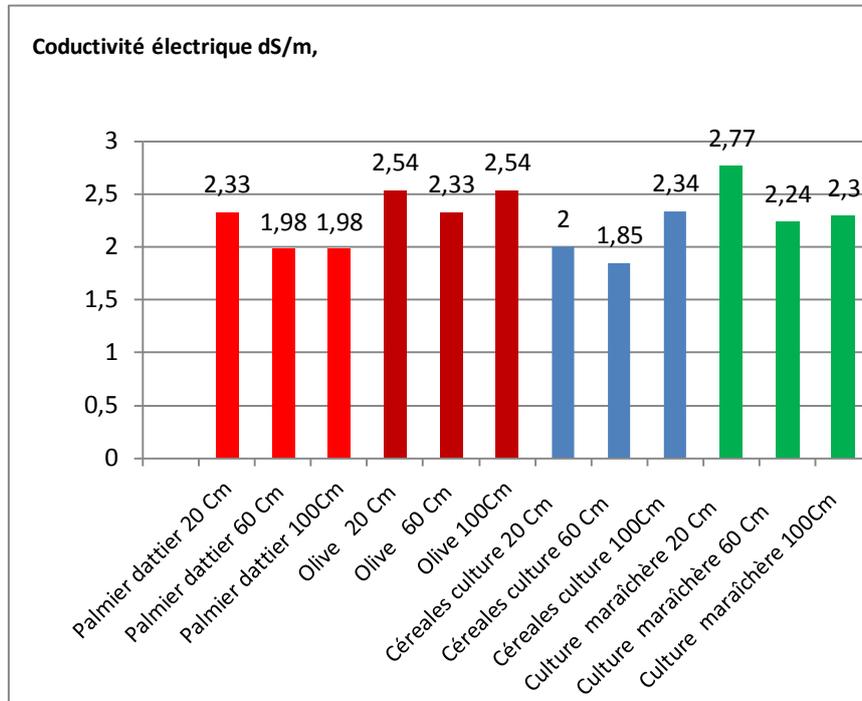
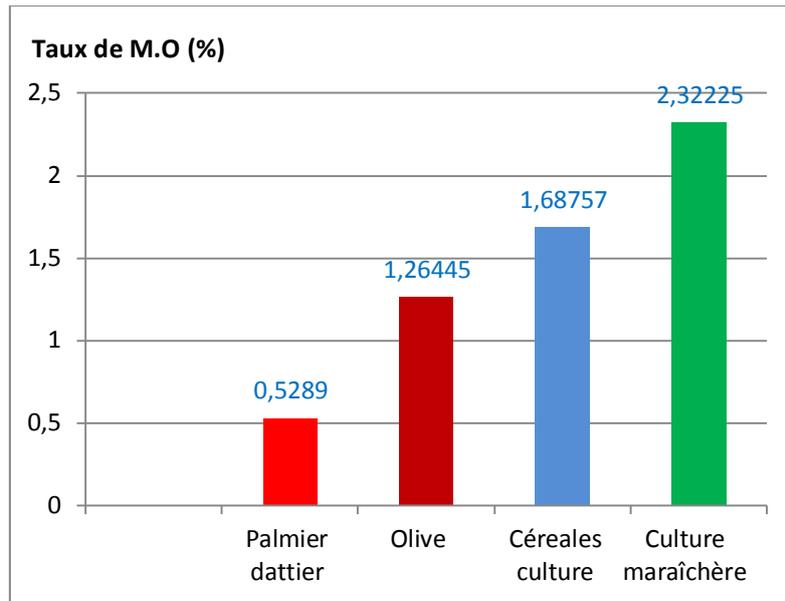


Figure 16: Variation de la CE dans les sols cultivés d'El-Hjira.

### 9.1.4. Teneur en matière organique

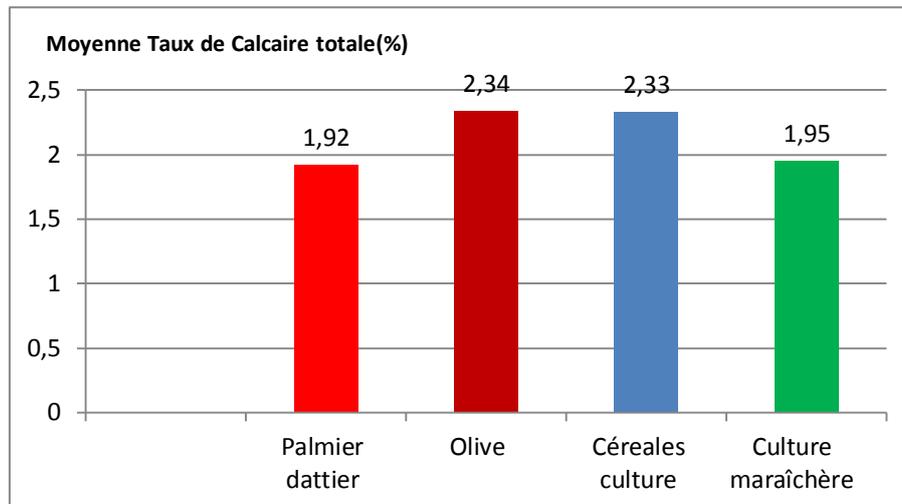
Nos résultats pour la teneur en matière organique (MO) des échantillons des sols varient selon la culture. Dans les sols de palmier dattier et la culture des olives le taux de la matière organique est relativement faible, pour les sols des cultures maraîchères et des céréalières le taux de la matière organique varie entre 1,68 % et 2,32% (figure 18). Donc, la teneur du sol est moyennement riche en matière organique.



**Figure 17:** Variation de la MO dans les sols cultivés d'El-Hjira.

#### 9.1.5. Taux de calcaire total

Les résultats de l'analyse du calcaire total exprimant un taux d'environ 2%, sont présentés dans la figure 19.



**Figure 18:** Moyenne de taux de calcaire total (%) dans les sols cultivés d'El-Hjira.

D'après la classification des sols les résultats montrent que le sol de notre site d'étude est faible en calcaire total,  $\text{CaCO}_3 \leq 5\%$  sol faible en calcaire.

#### 10. Liste des pesticides utilisée dans le domaine de l'agriculture saharienne d'El-Hjira

Les pesticides utilisés pour la protection des cultures au niveau de la DASE sont variés, et on trouve les insecticides ; viennent en deuxième position les fongicides et enfin les herbicides voir (tableau 12).

**Tableau 12:**Liste des pesticides utilisés par les agriculteurs à El-Hjira (la DASE).

**Insecticides**

Nom commercial	Matière active	Concentration	Dose d'emploi
Trimol (rodenticide)	Difenacoum	0,005%	50 à 100 g par point d'appâtage.
Coragen 20 SC	Chlorantraniliprole	200 G/L	150 ml/Ha
Cyperméthrine 25/ Cyper	Pyréthrinoïdes	271 g/l	12-20 ml/hl
Pulsar 25SC	Carbamates.	25 g/litre.	500 ml/ha

**Fongicides**

Prosaro	Tébuconazole	125 g/l
Score 250 EC	Score®250 EC difénoconazole	250 g/l

**Herbicide**

Roundup	Glyphosate, sel d'iso-propylamine	65%	10 à 12 g/L à 20 °C
---------	-----------------------------------	-----	---------------------

**10.1. Caractéristiques physico-chimiques des pesticides utilisés au niveau de la DASE en 2018.**

- *Le trimol (Difenacoum)*

Formule chimique :  $C_{31}H_{24}O_3$

Forme : liquide, suspension

Couleur : blanc

Odeur : d'alcool

pH : 6,5

Substance oxydante : Le produit n'est pas oxydant.

Densité spécifique : 1.08 - 1.10

Hydrosolubilité : dispersable

Solubilité(s) : légèrement soluble

Viscosité : 400 - 800 mPa.s

- *Coragen 25 SC (Chlorantraniliprole).*

Formule chimique :  $C_{18}H_{14}BrCl_2N_5O_2$

Substance active : chlorantraniliprole

Une concentration de substance active : 200 g / L

Masse moléculaire : 483,15 g / mole

Solubilité dans l'eau Modérée : 0.880 mg / l (20 ° C, pH 7)

Pression de vapeur basse :  $6.3 \times 10^{-12}$  Pa (20 ° C)

Constante de Henry Faible :  $3,2 \times 10^{-9}$  Pa m<sup>3</sup> / mol

Log Pow Medium : 2,86 (20 ° C, pH 7)

pKa : 10.88

DT<sub>50</sub> allant de 63 à 247 jours

- *La Cyperméthrine (pyréthrinoïdes)*

Formule brute: C22H19Cl2NO3.

T° fusion 60 à 80 °C

T° ébullition (décomposition) : 220 °C

Solubilité dans l'eau : nulle

Les caractéristiques physico-chimiques dont l'ordre de grandeur est indiqué ci-après, influencent les risques de transfert de cette substance active vers les eaux, et le risque de pollution des eaux :

Hydrolyse à pH 7 : stable,

Solubilité : 0,2 mg·L<sup>-1</sup>,

Coefficient de partage carbone organique-eau :  $> 2\,000 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ . Ce paramètre, noté Koc, représente le potentiel de rétention de cette substance active sur la matière organique du sol. La mobilité de la matière active est réduite par son absorption sur les particules du sol.

Durée de demi-vie : 30 jours. Ce paramètre, noté DT<sub>50</sub>, représente le potentiel de dégradation de cette substance active, et sa vitesse de dégradation dans le sol.

Coefficient de partage octanol-eau : 6,3. Ce paramètre, noté log Kow

- *Pulsar25SC Carbamates.*

- *Le Prosaro (Tébuconazole)*

Formule brute : C16H22ClN3O

Les caractéristiques physico-chimiques dont l'ordre de grandeur est indiqué ci-après, influence les risques de transfert de cette substance active vers les eaux, et le risque de pollution des eaux :

Hydrolyse à pH 7 : stable

Solubilité eau : 36 mg·l<sup>-1</sup>

Coefficient de partage carbone organique-eau :  $992 \text{ ml}\cdot\text{g}^{-1}$ . Ce paramètre, noté  $K_{oc}$ , représente le potentiel de rétention de cette substance active sur la matière organique du sol. La mobilité de la matière active est réduite par son absorption sur les particules du sol.

Coefficient de partage octanol-eau : 3,7.

Durée de demi-vie : 62 jours. Ce paramètre, noté  $DT_{50}$ , représente le potentiel de dégradation de cette substance active, et sa vitesse de dégradation dans le sol.

- *Le Score®250 EC difénoconazole*

Formule chimique :  $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$

Solubilité dans l'eau : 15mg/L

Poids moléculaire : 406.3 g/mol

Log du coefficient de partage octanol-eau (log  $K_{ow}$ ) : 4.36

Constante de Henry :

Constante de dissociation (pKa) : 1.07

Coefficient de partage carbone organique-eau ( $K_{oc}$ ) : L/kg

Biodégradabilité : non facilement biodégradable

- *Le Glyphosate (roundup)*

Formule chimique :  $C_3H_8NO_5P$  (Worthing et Hance, 2000)

Non chimique : N-(phosphonométhyl) glycine

Forme : Cristal

Couleur : Blanc

Odeur : Inodore

Masse moléculaire (g/mole) : 169.1

Densité (g/mole) : 1.74

Point de fusion (°C) 200 n)

Coefficient d'adsorption (K) 16.5

## **11. Résultats de l'identification qualitative des pesticides par chromatographie sur couche mince (CCM)**

Après la réalisation de l'extraction des pesticides par la méthode de soxhlet (solide/liquide) Nous avons effectué la chromatographie sur couche mince afin d'identifier qualitativement nos produits et nous avons par la suite calculé le rapport frontal ( $R_f$ ) de chaque produit.

L'analyse par chromatographie sur couches minces a révélé différents facteurs de rétention (Rf) pour le même extrait. Les pesticides ont été en partie identifiés sur la base des facteurs de rétention des composés de pesticides commerciaux. Ils sont présentés dans les tableaux 13, 14, 15 et 16. Sur la base des résultats obtenus, On peut dire que l'extrait de sol des cultures céréalières (profondeur 100 cm) contient des résidus de trimol et quelques traces de Coragen 20 SC, Pulsar 25SC et de Roundup. De même, l'extrait de sol de culture d'olivier (100 cm) contient des résidus de Cypermethrine et quelques traces de Pulsar 25SC, tandis que l'extrait du sol de culture de palmiers (100 cm) contient des résidus de Trimol, de Cypermethrine, de Pulsar 25EC, de Score 250EC ainsi que du Roundup.

**Tableau 13:** Rf de l'extrait des sols des cultures maraichères profondeur 100cm.

Echantillon	Trimol®	Coragen 20 SC®	Cypermethrine®	Pulsar25SC®	Prosaro®	Score 250 EC®	Roundup®
spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs
(CM profondeur 100cm)							
0.3	0,8	0.3	0.2	0,8	0,9	0.5	0.5
0.8	0,9		0.65				0,8
0,9	0,9		0.7				

**Tableau 14:** Rf de l'extrait des sols des cultures de l'olives profondeur 100 cm

Echantillon	Trimol®	Coragen 20 SC®	Cypermethrine®	Pulsar25SC®	Prosaro®	Score 250 EC®	Roundup®
spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs
(oliv C profondeur 100cm)							
0.45	0.75	0.75	0.45	0.35	0.45	0.45	0.8
0.85	0.88	0.99	0.85	0.85	0.98	0.98	
0,98	0.9		0,98	0,98			

**Tableau 15:**Rf de l'extrait des sols des cultures céréalières profondeur100cm

Echantillon	Trimol®	Coragen 20 SC®	Cyperméthrine®	Pulsar25SC®	Prosaro®	Score 250 EC®	Roundup®
spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs
(CC profondeur 100cm)							
0.18	0.75	0.75	0.45	0.35	0.83	0.18	0.18
0.5	0.88	0.99	0.85	0.5	0.5	0.67	0.67
0,67	0,9	0,8	0.98	0,67	0,67		

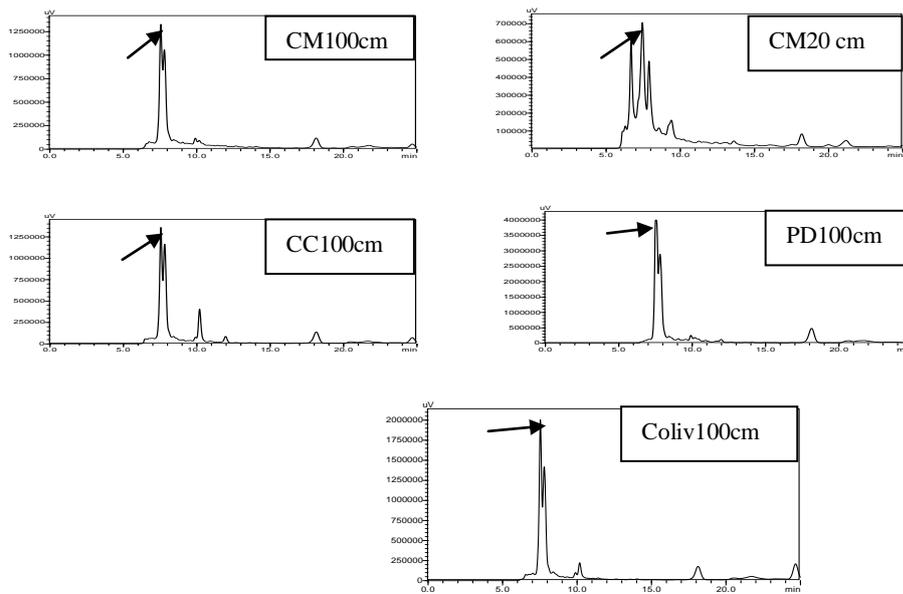
**Tableau 16:**RF de l'extrait des sols des palmiers dattiers profondeur 100CM

Echantillon	Trimol®	Coragen 20 SC®	Cyperméthrine®	Pulsar25SC®	Prosaro®	Score 250 EC®	Roundup®
spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs	spot's RFs
(CC profondeur 100cm)							
0.5	0.83	1	0.30 0.83	1	0.20	0.98	0.83
0.83	0,98		0.99	0.5			0,67
0,98				0,67			

## 12. Résultats de la chromatographie liquide à haute performance

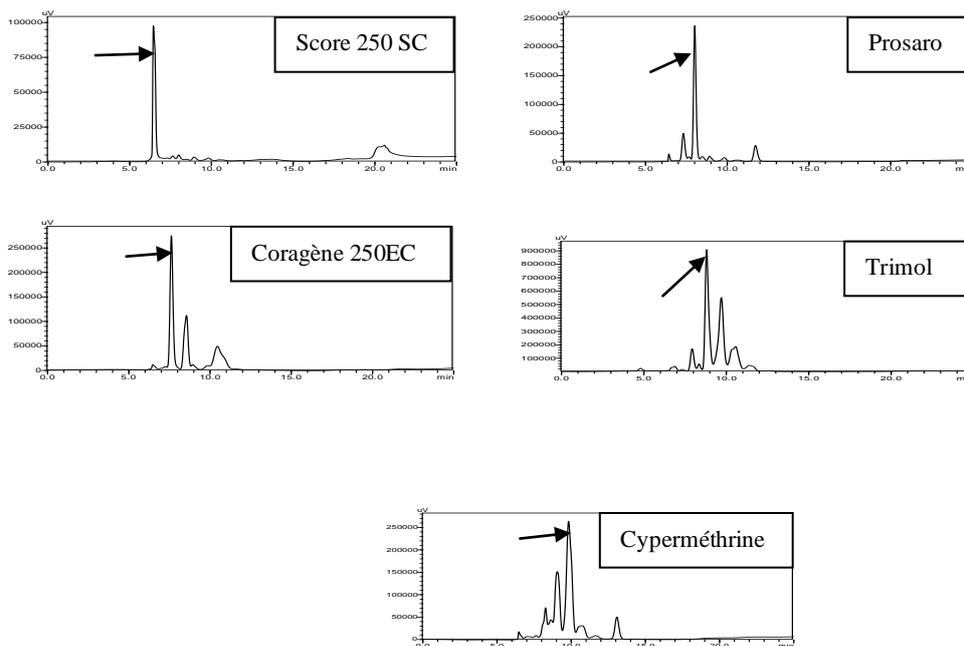
Les pesticides sont extraits des échantillons avec le dichlorométhane. Les extraits sont réduits à un petit volume et ensuite concentrés. Les pesticides sont analysés par chromatographie liquide à haute performance. Les analyses de cette étude ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe HPLC-RPC18.

Notons qu'il est important que les produits à détecter portent un chromophore qui absorbe dans cette plage de longueur d'onde. Les chromatogrammes obtenus sont représentés dans les figures 20 et 21 respectivement.



**Figure 19:** Chromatogrammes des extraits de sols cultivés

CM : Cultures maraichères, CC : Cultures Céréalières, C oliv : cultures des olives, PD : Palmiers dattiers



**Figure 20:** Chromatogrammes des pesticides commerciaux utilisés par les agriculteurs

CM : Cultures maraichères, CC : Cultures Céréalières, C oliv : cultures des olives, PD : Palmiers dattiers

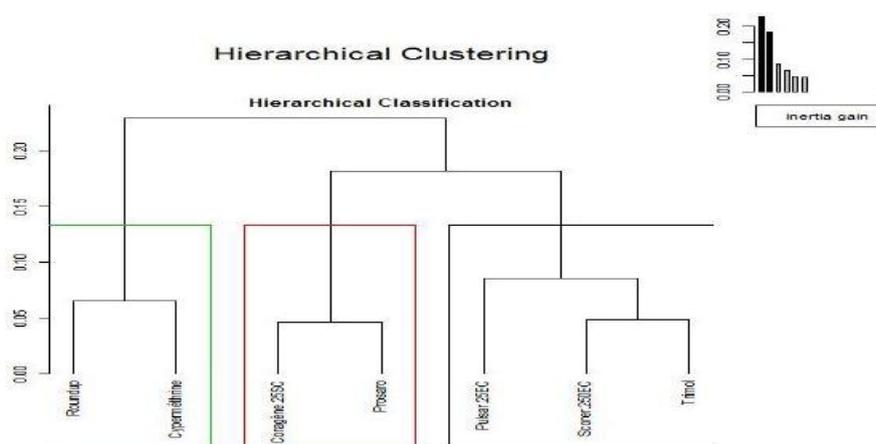
Les chromatogrammes obtenus représentent les molécules retrouvées dans les extraits des sols cultivés entre autres les cultures maraichères, la céréaliculture, la culture des olives et le pal-

mier dattier, nous constatons que certains résidus sont présents dans la majorité de nos extraits, il s'agit de la matière active.

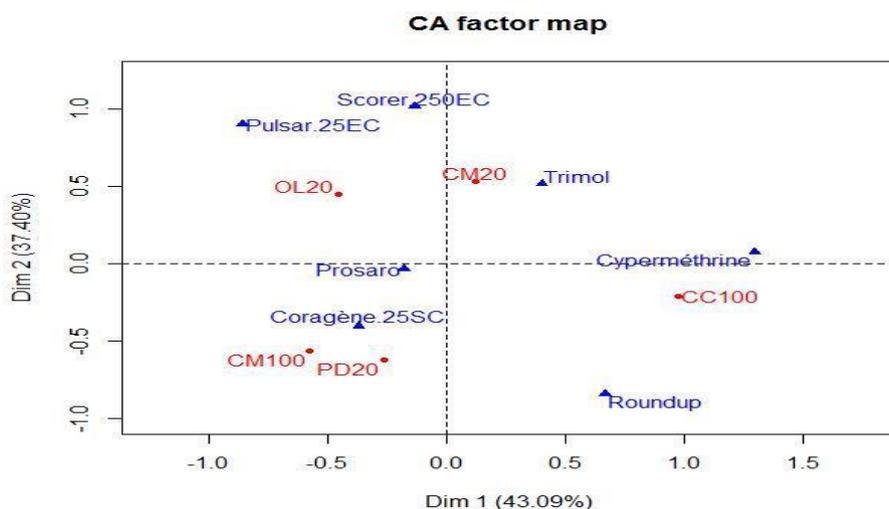
Sur un plan très général, les pesticides représentent un groupe de molécules chimiques très différentes d'une classe à l'autre avec des caractéristiques physico-chimiques (volatilité, pKa, thermostabilité, polarité, solubilité dans les solvants, etc.) qui vont nécessiter la mise au point de techniques de dosage variées et par voie de conséquence un équipement analytique très diversifié, ce qui peut être d'ailleurs un handicap pour de nombreux laboratoires. Par ailleurs la mise au point de ces méthodes requiert l'obtention d'étalons de référence purs et de matrices certifiées difficilement accessibles sur le marché actuellement.

### 13. Résultats de l'analyse statistique

D'après l'analyse statistique on constate qu'il ya des molécules de pesticides telles que le methomylyle 2% , par ailleurs, la deltaméthrine et les pyréthrinoïdes sont inexistantes dans nos extraits figure 22, cela peut être expliqué par la dégradation chimique ou abiotique qui se produit par des réactions incluant l'hydrolyse, l'oxydoréduction et l'ionisation (**Beltran et al., 2001**). Les réactions d'hydrolyse sont catalysées par la présence d'hydrogène ou d'ion hydroxyde, d'où un taux de réaction fortement dépendant du pH (**Gavrilescu, 2005**). Généralement, la dégradation biologique est quantitativement plus importante que les transformations abiotiques, mais ces dernières peuvent être déterminantes pour certains pesticides particulièrement récalcitrants à la biodégradation.



**Figure 21:**AFC représentant le profil des groupes pesticides



**Figure 22:** AFC représentant la répartition des pesticides en fonction des cultures.

OL20=Olive 20cm, CM=cultures maraichères100cm, CC=cultures céréalières100cm, PD= palmier dattier20cm

D'après l'analyse statistique les molécules des pesticides sont classées en fonction des cultures et leur profondeur figure 23. En fonction de cette répartition, de la nature des surfaces mises en jeu, de l'activité biologique et des propriétés physico-chimiques, diverses réactions chimiques et/ou biochimiques peuvent intervenir et conduire à la transformation, voire à la minéralisation du pesticide, ces dégradations d'origine chimique et/ou photochimique sont le plus souvent considérées comme mineures (**Beestman et Deming, 1974**).

un autre paramètre qu'il faut prendre en considération, les temps de demi-vie décrits dans la littérature varient suivant les conditions environnementales (**Aslam et al., 2015; Wu et al., 2015**), le type de sol et les pratiques agricoles (**Zemolin et al., 2014**). Ces facteurs peuvent être dépendants les uns des autres, puisque les propriétés du sol peuvent varier en fonction des pratiques agricoles, et de ce fait influencer la dissipation de la molécule dans le sol. Ainsi, certaines pratiques agricoles limitant le labour tendent à enrichir la couche superficielle de sol en matière organique (**Alletto et al., 2011**), augmentant ainsi l'adsorption de certains pesticides dans les premiers centimètres de sol (**Si et al., 2009**).

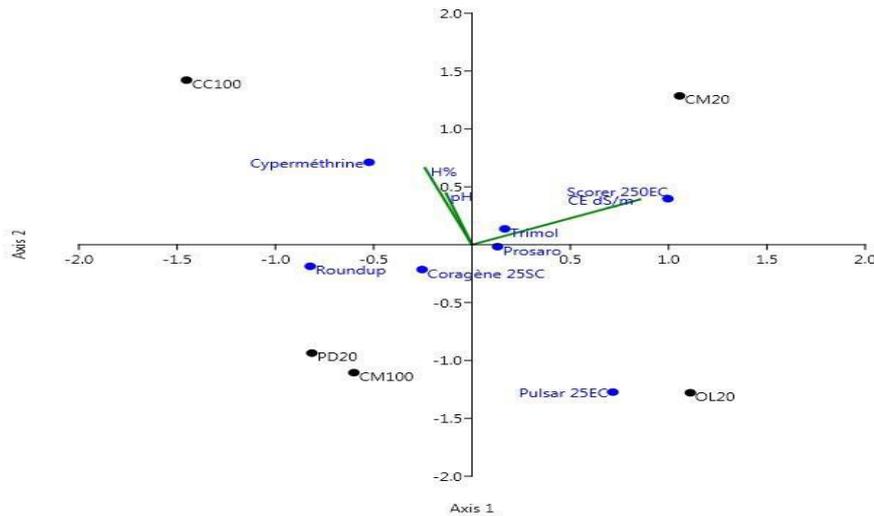
Il faut noter aussi que la présence de plusieurs molécules actives lors d'un épandage peut également influencer le comportement de chacune d'elles sur les plantes. Ainsi, la persistance de certains pesticides telle que l'endosulfan au niveau des tomates est augmentée d'un facteur 2 et celle de la cyperméthrine diminuée d'un facteur 1,5 quand ces deux insecticides sont associés par rapport à leur application individuelle (**Banshtu et al., 2015**).

De même, la persistance est la résultante d'un ensemble de processus de dissipation physico-chimiques et biologiques qui font diminuer la concentration du polluant en fonction de cinétiques caractéristiques du polluant et du milieu (**Fournier et al., 1996 ; Soulas, 1996**). Dès leur arrivée au sol les polluants organiques se distribuent dans les trois phases : solide, liquide et vapeur selon des constantes d'équilibre, d'adsorption de désorption et de volatilisation. Ces constantes sont caractéristiques de chaque produit mais elles sont modifiées en fonction des conditions pédoclimatiques. Ainsi la concentration des polluants dans chacune des phases n'est pas figée dans le temps elle évolue dans le temps en fonction des conditions physico-chimiques (température, humidité, pH.....) et en fonction des transformations du polluant et de l'évolution des interactions avec les constituants du sol.

D'après la figure 23 on remarque qu'il existe des résidus de pesticides dans des lieux hors leurs points d'application, le cas de Pulsar et du Score 250EC, la présence de ces résidus en dehors de leurs champs de cultures a été expliqué par des travaux de recherches qui tendraient à montrer que leur dépôt à proximité des zones traitées peut atteindre des niveaux du même ordre de grandeur que les dépôts par dérive, voire être supérieur dans certaines conditions (**Raupach et al., 2001; Asman et al., 2003**). Comme cela peut être interprété par l'utilisation de granulés, micro-granulés ou semences traitées qui peuvent également engendrer l'émission de fines particules vers l'atmosphère qui vont pouvoir se déposer (ou non) en proximité de parcelle. En Allemagne un important travail de référence (**Ganzelmeir, 2003**) a permis de construire des tables de dépôts des gouttes en fonction de la distance sous le vent de la parcelle, et une méthode de classification des équipements permettant de limiter cette "dérive" (**Rautmann, 2004**). Ces données expliquent la présence de ces pesticides en dehors de leurs milieux de cultures. Lors du traitement, une partie du produit entre en contact avec la surface des constituants du sol, tandis qu'une autre partie peut rester dans la solution du sol.

#### **14. Résultat de l'analyse canonique**

L'analyse canonique est réalisée dans le but de montrer qu'il existe une corrélation entre les différents paramètres pédoclimatiques et les molécules des pesticides. On remarque que l'humidité, le pH et la conductivité peuvent jouer un rôle dans la dissipation, la rétention et la dégradation de pesticides c'est le cas de la cyperméthrine, le trimol et le score 250EC figure 24.



**Figure 23:** L'influence des paramètres pédoclimatiques sur la dissipation des pesticides.

Le pH de nos échantillons est compris entre 7,3 et 7,8 ; les valeurs de la conductivité électrique de nos échantillons sont comprises entre 1,85dS/m, et 2,77 dS /m ce qui lui confère la classe de sol salé (**Aubert, 1978**). Une diminution des quantités retenues de pesticides ionisables est observée quand le pH augmente (**Kah et Brown, 2007**). Ainsi, pour les pesticides à caractère acide, leur dissociation en anions avec l'augmentation du pH résulte en une réduction de leur rétention par les sols figure 24. Ceci a été constaté pour différentes molécules cas du glyphosate (**De Jonge et De Jonge, 1999**), le bentazone (**Thorstensen et al., 2001 ; Boivin et al., 2005**).

D'après la littérature on trouve des relations entre les coefficients d'adsorption des pesticides et certaines propriétés des sols : teneurs en carbone, en argiles ou en oxydes, pH, ... (**Barriuso et Calvet, 1992 ; Coquet et Barriuso, 2002 ; Weber et al., 2004 ; Calvet et al., 2005**).

La région d'El-Hjira est connue par des fortes températures qui peuvent dépasser les 43°C durant l'été, il faut noter aussi que la pluviométrie reste très faible durant toute l'année (13,06 mm janvier). L'humidité varie entre 11% pour la culture des olives et 25% pour les cultures maraichères, ceci peut être expliqué par la demande en eau des cultures maraichères qui est plus importante. L'humidité du sol a un effet sur la concentration des pesticides dans le sol, sur leur durée de demi-vie  $DT_{50}$ , plus le sol est humide moins le produit est persistant est par conséquent sa capacité de rétention est élevée et plus le sol est humide plus la concentration est élevée d'après **Bear (1996)**.

Les résultats de la teneur en matière organique de nos échantillons des sols révèle un taux de 2,32 % pour les sols des cultures maraichères, d'après des recherches scientifiques, une corrélation positive très générale existe entre la rétention et la teneur en matière organique des sols avec la plupart de pesticides, (**Walker et Crawford, 1968 ; Hassett et al., 1981 ; Barriuso et Calvet, 1992 ; Coquet et Barriuso, 2002 ; Weber et al., 2004**). Par ailleurs, l'adsorption des pesticides sur de la matière organique est dépendante de la polarité des surfaces qui est le cas de nos molécules qui sont majoritairement polaires. Cette polarité est fixée par l'abondance relative des groupes polaires (groupes fonctionnels azotés et oxygénés) et apolaires (groupes fonctionnels carbonés) (**Xing et al., 1994 ; Hu et al., 1995**).

### *Conclusion*

En conclusion, il pourrait être suggéré que la compréhension du comportement des produits phytosanitaires dans le sol est essentielle pour l'évaluation des risques de leur transfert dans différents compartiments de l'environnement. Cette compréhension permettra de mettre en œuvre une utilisation raisonnable et durable de ces produits sans remettre en cause la durabilité économique de ces activités.

Ainsi, dans ce chapitre, notre objectif était l'évaluation des molécules de pesticides dans les sols agricoles de la région d'El-Hjira. Les résultats permettent de déduire que les molécules des produits phytosanitaires les plus utilisés par les agriculteurs telles que la Cyperméthrine, le Trimol et le glyphosate, subissent des transformations ou des dégradations résultant d'un ensemble de processus tels que la dissipation, les processus physico-chimiques et biologiques, qui réduisent la concentration du pesticide en fonction des caractéristiques cinétiques du pesticide.

*Biodégradation du chlorpyrifos éthyle par des bactéries isolées du site agricole d'Aïn Moussa.*

## *Introduction*

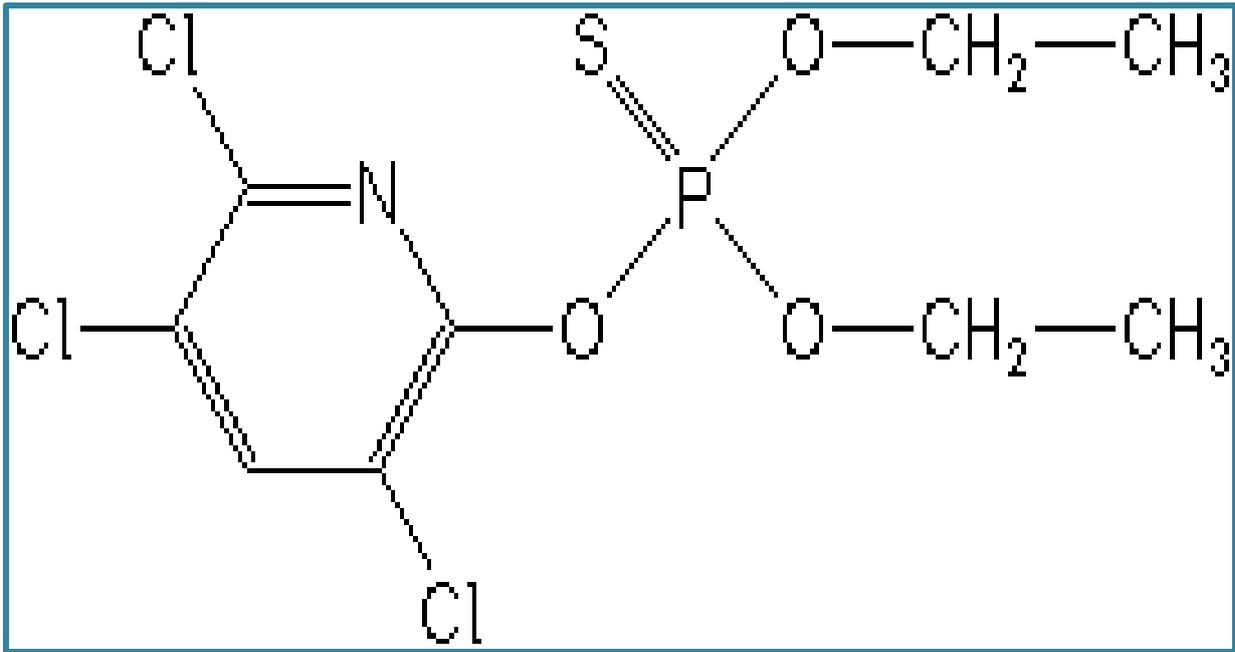
Les composés organiques présents dans les différentes sphères de l'environnement ont des origines différentes. L'impact de ces composés sur différents écosystèmes dépend fortement de leurs interactions avec le milieu environnant. Parmi les contaminants organiques impliqués dans la pollution chimique, les xénobiotiques ou les composés phytosanitaires, ils sont introduits dans l'environnement par l'activité anthropique, principalement l'agriculture, afin d'améliorer les rendements de la production agricole.

L'utilisation de pesticides a deux aspects dont les conséquences sont complètement opposées. En effet, le pesticide, tout en réduisant les dommages causés aux cultures par les ravageurs, contribue à la dégradation de la qualité des eaux de surface et des eaux souterraines et à la contamination du sol et de l'atmosphère. L'utilisation des pesticides est confrontée à plusieurs problèmes liés à la pollution de l'environnement et à la santé humaine.

La biodégradation dépend du nombre et du niveau d'activité des bactéries présentes dans le sol et ayant une capacité enzymatique adéquate. Dans des conditions naturelles, la biodégradation n'est généralement pas liée à une seule espèce microbienne, mais à un consortium (**Amalric et al., 2003**). La composition et la taille de la biomasse microbienne varient considérablement en fonction de la nature du sol, du pH, de la teneur en carbone organique et des minéraux argileux (**Raoul et al., 2005**).

La capacité des pesticides à être dégradés par les microorganismes du sol est un concept important tant du point de vue agronomique que environnemental (**Soulas, 1985; Càceres et al., 2007**). L'un de ces pesticides est le chlorpyrifos éthyle, un insecticide organophosphoré, toxique mais toujours largement utilisé dans la protection des plantes (**Rani et al., 2008**).

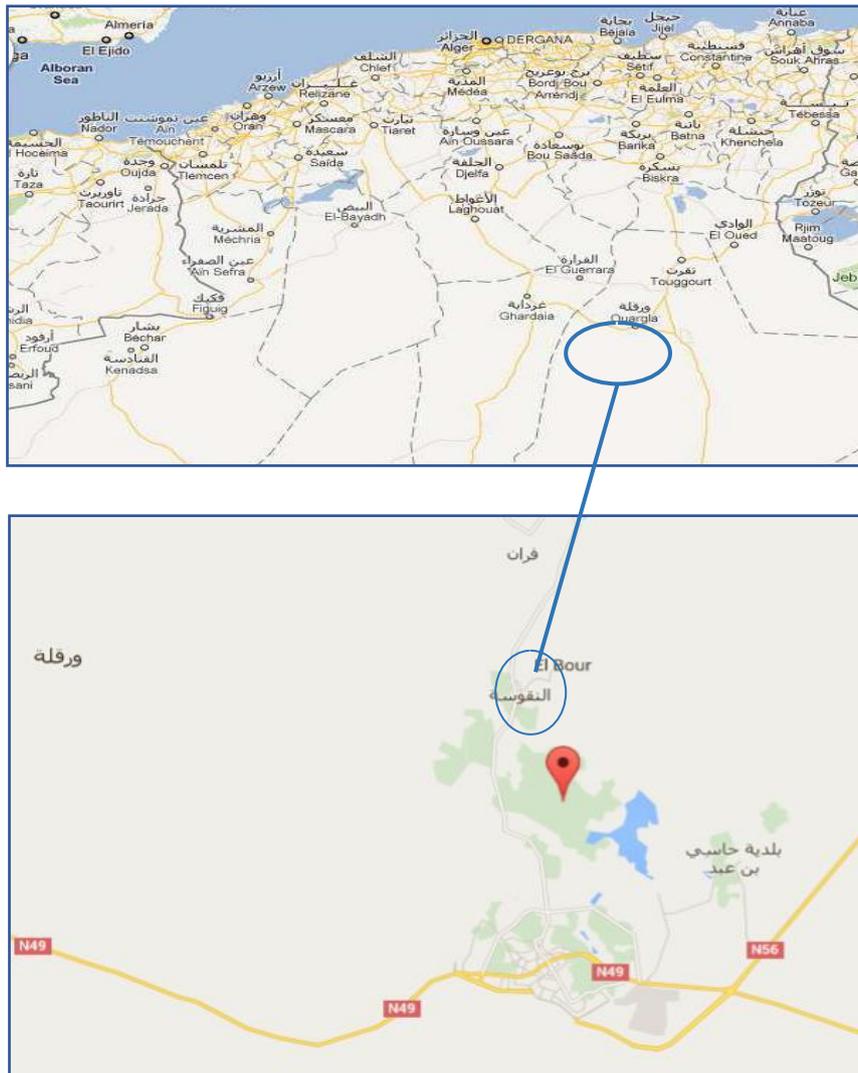
Le but de ce travail est l'isolement et l'identification de certaines souches bactériennes qui possèdent la capacité de dégrader le chlorpyrifos éthyle figure 24; c'est un pesticide de la famille des organophosphorés retrouvé dans les sols agricoles de la région de Ouargla pour une application possible en bioremédiation.



**Figure 24:** chlorpyrifos éthyle (o,o-diéthyl-o-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate) (raoul et al., 2005).

### 1.1. Echantillonnage

L'échantillonnage a été effectué le 10/12/2015 dans une exploitation agricole à Ain moussa (figure 25), où on a mélangé 3 prélèvements de sol d'une profondeur de 20 cm de points différents pour en fin avoir un échantillon représentatif de 500g de sol. Il est à noter que la température ambiante était entre 25 et 28 C°. L'échantillonnage est par la suite transféré immédiatement au laboratoire et conservé au réfrigérateur (environ 4°C) en attendant les analyses. Au laboratoire, cet échantillon est tamisé à 5 mm puis à 2 mm pour éliminer les éléments grossiers et les débris organiques.



**Figure 25:** Localisation des sites d'étude (google maps, 2016).

## 1. Caractéristiques du sol

### 1.1. Teneur en eau (humidité)

Nous avons procédé à la détermination de la teneur pondérale en eau du sol par la méthode gravimétrique qui consiste à dessécher l'échantillon du sol à 105°C pendant 24 heures. La perte de poids après séchage est égale à la teneur d'eau du sol. Les valeurs obtenues peuvent être exprimées en pourcentage par rapport au poids de l'échantillon sec ou humide (ITA, 1975).

$$(Masse\ humide) - (Masse\ seche)$$

$$\% \text{ Humidité du sol} = \frac{\quad}{\quad} \times 100$$

## Masse sèche

### 1.2. Potentiel hydrogène (pH)

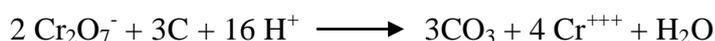
Selon **AFNOR (1999)** et **Soltner (2005)**, la mesure du pH s'effectue au pH mètre sur une suspension de terre fine, le rapport masse/volume étant en général de 1/5.

### 1.3. Conductivité électrique (CE)

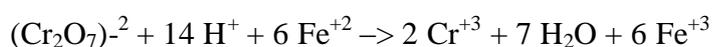
La conductivité électrique est mesurée à l'aide d'un conductimètre sur l'extrait de sol dilué au 1/5. Elle est exprimée en déci siemens par mètre (ds/m) (**Baize, 2000**).

### 1.4. Dosage du carbone organique

Le carbone organique de l'échantillon de sol est oxydé par le bichromate de potassium en milieu sulfurique. Le bichromate doit être en excès, la quantité réduite est en principe proportionnelle à la teneur en carbone organique.



L'excès de bichromate de potassium est titré par une solution de sel de Mohr, en présence de diphenylamine dont la couleur passe du bleu foncé au bleu vert (**Aubert, 1978**).



Le taux de matière organique étant obtenu par la formule :

$$\text{Matière organique} = \text{carbone organique (\%)} \times 1,72$$

## 2. Analyses microbiologiques

### 2.1. Dénombrement de la microflore bactérienne

Cette approche nous permet de mettre en évidence la microflore présente dans l'échantillon du sol contaminé par le CP. Pour ce faire on a suivie les étapes suivantes :

### 2.2. Préparation de la solution mère et de la série des dilutions

A partir d'un échantillon de sol destiné à l'analyse microbiologique, 1 g de sol est introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique (**Annexe 03**) préalablement autoclavée. Le tube est ensuite agité énergiquement pendant 2 minutes. Le contenu du tube représente la solution mère.

Dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, est ajouté 1 ml de la solution mère. Le mélange bien agité représente la dilution à  $10^{-1}$ . 1 ml de cette dilution mélangé à 9

ml d'eau physiologique, correspondra à la dilution  $10^{-2}$ . On continue ainsi jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-6}$ .

### **2.2.1. Ensemencement**

Afin de dénombrer la microflore bactérienne existant dans l'échantillon et voir l'effet du chlorpyrifos éthyle, nous avons effectué un ensemencement sur milieu de gélose nutritive (**annexe 03**), ainsi qu'un autre avec addition d'une concentration de 60 g/L de chlorpyrifos éthyle.

La méthode utilisée est celle de l'ensemencement en surface par étalement de 0,1 ml de chaque dilution sur milieu gélosé. Le dénombrement après culture concerne, évidemment les cellules viables de l'échantillon, autrement dit les cellules capables de croître et former une colonie visible à l'œil nu. Après 24h d'incubation à 30°C, les colonies développées sont dénombrées à l'aide d'un compteur de colonies de type Stuart. Le nombre de germes par gramme de sol est déterminé en calculant la moyenne arithmétique des résultats obtenus et en tenant compte des facteurs de dilution, selon la formule:

$$N = n / d.v \text{ (Marchal et Bourdon, 1982)}$$

Où :

**N**: nombre des microorganismes en UFC/ ml.

**n**: nombre de colonies dénombrées.

**v**: volume prélevé (0.1ml).

**d**: Dilution.

### **2.3. Isolement des bactéries dégradant le chlorpyrifos éthyle**

Cette étape nous permet de mettre en évidence la microflore bactérienne dégradant le chlorpyrifos éthyle présent dans l'échantillon de sol qui est par la suite enrichi de ce même pesticide et séché à l'air libre pendant 3 à 4 semaines. Après une série de dilutions allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  de la solution mère, on a procédé à l'étalement des boîtes de Pétri coulées avec le milieu minimum solide (**annexe 03**), contenant 30ml/L de chlorpyrifos éthyle. L'incubation a été effectuée à 30°C pour une durée de 24 à 48h.

### **2.4. Purification et conservation des bactéries**

#### **2.4.1. Purification**

Dans cette étape, nous avons effectué la purification des souches qui se sont développées sur milieu minimum additionné du pesticide (**annexes 03**). La sélection des colonies est basée sur leur aspect macroscopique, à savoir la couleur, la forme, le diamètre, l'opacité. Chaque type

de colonie est prélevé et ensuite purifié par repiquages successifs par la méthode des stries sur milieu GN contenant 60ml/L de chlorpyrifos éthyle.

#### **2.4.2. Conservation des souches purifiées**

Les souches isolées sont conservées dans le glycérol 15% et dans des tubes à essai contenant le milieu gélose nutritif (GN) incliné. Dans ce cas les souches sont ensemencées en stries sur la pente des tubes, puis incubées à 30°C pendant 24 heures. Les tubes dans lesquels il y a eu une croissance seront conservés à une température de 4°C pour une durée de 4 à 6 semaines. Afin de pouvoir toujours disposer de souches viables, la réactivation doit se faire tous les mois (**Martineau, 1996**).

### **3. Pré-Identification des souches**

La pré-identification comporte une série d'étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé. Elle est réalisée en se basant sur des techniques microbiologiques standards tels que l'analyse morphologique et biochimique (la coloration de Gram, la catalase et l'oxydase) et enfin par l'utilisation d'un système d'identification API 20 E (**annexe 03**).

#### **3.1. Etude morphologique**

##### **4.1.1. Aspect macroscopique**

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

D'après **Singleton (1999)**, les éléments d'identifications macroscopiques sont:

La forme des colonies : rondes, irrégulières,... etc.

La taille des colonies par la mesure du diamètre.

La chromogénèse: couleur de la colonie.

L'élévation: convexe, concave, plate.

L'opacité: opaque, translucide ou transparente.

La surface: lisse, rugueuse, sèche, dentelée,... etc.

##### **4.1.2. Aspect microscopique**

L'observation microscopique consiste en une observation des cellules bactériennes à l'état frais et une coloration de Gram.

###### **4.1.2.1. Etat frais**

Ce test permet de déterminer la forme, l'arrangement et la mobilité des bactéries. Il consiste en l'observation d'une goutte de suspension bactérienne, préparée avec de l'eau physiologique et placée entre lame et lamelle. L'observation se fait au Microscope photonique à grossissement X 100 (**Singleton, 1999**) (**annexe 03**).

#### **4.1.2.2. Coloration de Gram**

C'est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet. Celles qui possèdent une couche de peptidoglycane mince sont décolorées lors du lavage à l'éthanol (Gram -), alors que celles qui possèdent une couche de peptidoglycane épaisse vont retenir le colorant (Gram +). La consistance et la valeur de la coloration de Gram correspond à des différences biochimiques entre la paroi des bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif (**Marchal et Bourdon, 1982**).

### **4.2. Etude biochimique**

L'étude biochimique nous oriente sur le métabolisme suivi par les microorganismes étudiés et les enzymes qu'ils possèdent. Ces tests ont été réalisés en utilisant la galerie biochimique pour les souches microbiennes (**annexe 03**). Les épreuves biochimiques permettent en général de distinguer les espèces, même étroitement apparentées entre elles (**Tortora et al., 2003**).

#### **4.2.1. Etudes des enzymes respiratoires**

##### **4.2.1.1. Recherche de la catalase**

La catalase (Ferro porphyrine, de poids moléculaire élevé) a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène. C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne.

On prend une goutte d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 10 volumes qu'on dépose sur une lame avec une colonie bien distincte de culture jeune de 24h. Le dégagement immédiat de bulles d'oxygène exprime la présence d'une catalase (**Garnier et Denis, 2007**).



##### **4.2.1.2. Recherche de l'oxydase**

Ce test permet la détection de la phénylène-diamine-oxydase ou la cytochrome-oxydase; enzyme entrant dans divers couples d'oxydoréduction. Agissant sur un substrat incolore, cette

enzyme entraîne la formation d'une semi-quinone rouge. Cette dernière, très instable, s'oxyde rapidement pour donner un composé noirâtre. Pour réaliser ce test, un disque d'oxydase contenant de l'oxalate N- diméthylparanitrophénylène- diamine, qui aura été préalablement imbibé d'une goutte d'eau distillée stérile est déposé sur une lame et mis en contact avec une colonie bactérienne fraîchement cultivée. L'apparition d'une coloration violette immédiatement indique que le test est positif (**Singleton, 1999**).

#### 4.2.2. Métabolisme glucidique

Étude de la voie d'attaque des glucides

L'étude de la voie d'attaque des glucides permet de distinguer les bactéries à métabolisme oxydatif ou fermentatif ou les deux à la fois (**Tortora et al., 2003**).

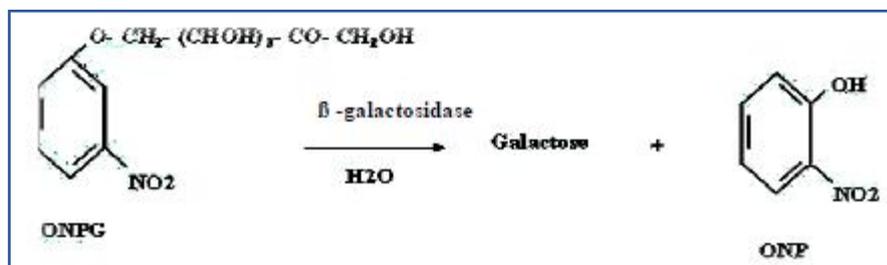
Étude des différentes voies fermentatives intermédiaires

L'étude des différentes voies fermentatives intermédiaires permet d'effectuer une différenciation entre la fermentation des acides mixtes (réaction rouge de méthyle : RM) et butylène glycolique (réaction Voges Proskauer: VP) (**Singleton, 1999**).

##### 4.2.2.1. Recherche de la $\beta$ -galactosidase ou ONPG - hydrolase

Pour dégrader activement le lactose, les microorganismes doivent posséder deux enzymes; la perméase et la  $\beta$ -galactosidase. L'ONPG soit  $\beta$ - galactoside possède une structure analogue au lactose. Le lactose est formé de molécules de glucose et de galactose, tandis que l'ONPG est composée d'une molécule d'orthonitrophényl liée à un galactose.

L'hydrolyse de l'ONPG (composé incolore) libère l'orthonitrophényl qui est responsable de la coloration jaunâtre du milieu. La réaction se déroule comme suite:



**Figure 26:** Réaction d'hydrolyse de l'onpg (marchal et bourdon, 1982).

Cette méthode permet de mettre en évidence d'une part, la fermentation du glucose (avec ou sans dégagement de gaz), du lactose, du saccharose et d'autre part, la production d'hydrogène de sulfate (H<sub>2</sub>S). C'est un milieu incliné dont le glucose présent dans le culot, est attaqué par voie fermentative entraînant une acidification du milieu avec production ou non de gaz. Sur la pente, le lactose et le saccharose seront alors oxydés et fermentés. La production de H<sub>2</sub>S se manifeste par un noircissement du culot (**Marchal et Bourdon, 1982**). La pente du milieu TSI estensemencée par stries et le culot par pique centrale, après, une incubation à 37°C pendant 18 heures.

Le virage du culot au jaune traduit la fermentation du glucose ;

La présence de bulles de gaz signifie la fermentation avec production de gaz ;

Le virage de la pente au jaune traduit l'utilisation du lactose ou saccharose ou les deux à la fois ;

Une coloration noire, signifie la production d'hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S).

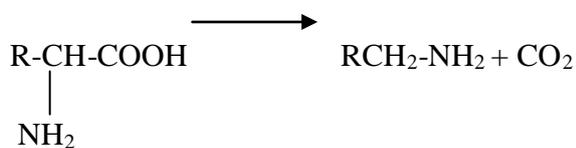
#### 4.2.3. Recherche de la citrate perméase

Le milieu utilisé ne contient que le citrate comme seule source de carbone. Seules les bactéries possédant une citrate perméase seront donc capables de se développer sur ce milieu en provoquant la libération des OH qui alcalinisent le milieu, donc il y aura virage au bleu (**Singleton, 1999**).

### 3.4. Etude du métabolisme protéique

#### 3.4.1. Recherche des décarboxylases (ODC, LDC, ADH)

Les décarboxylases scindent les acides aminés entraînant la formation de l'amine correspondant avec la libération de CO<sub>2</sub> selon la réaction suivante.

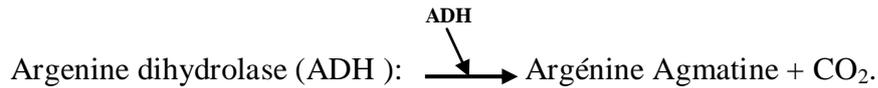
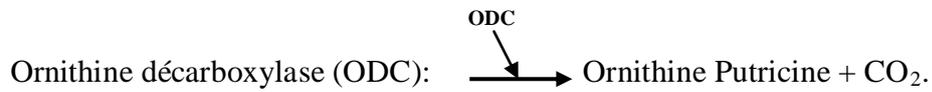
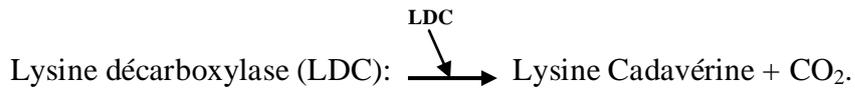


Acide aminé

amine

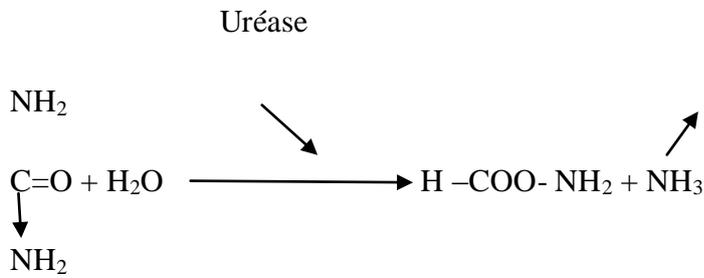
Il s'agit d'enzymes induites dont la synthèse est favorisée par un pH acide (pH entre 3.5 et 5.5) et des conditions d'anaérobiose (**Marchal et Bourdon, 1982**).

Les décarboxylases sont:

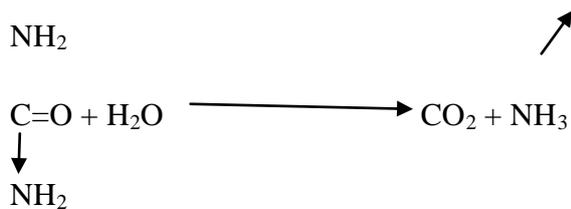


### 3.4.2. Recherche de l'uréase

Selon **Singleton (1999)**, toutes les bactéries hydrolysent l'urée grâce à la réaction suivante:



Seule, une uréase très active aboutit finalement à la réaction :



Le CO<sub>2</sub> et le NH<sub>3</sub> en présence d'eau se combinent en donnant le carbonate d'ammonium selon la réaction:



#### 3.4.2.1. Production d'indole

La production d'indole est mise en évidence par utilisation de tryptophane exempt d'indole (**Joffin et Leyral, 2006**).

### **3.4.2.2. Recherche de la tryptophane-désaminase (TDA)**

La désaminase agit sur le L- tryptophane en donnant l'acide pyruvique. Ce dernier donne avec le perchlorure de fer une coloration brune (**Singleton, 1999**).

## **4.5. Etude de la biodégradation des souches bactériennes**

### **4.5.1. Isolement des bactéries dégradant le chlorpyrifos éthyle**

Cette étape nous permet de mettre en évidence la microflore bactérienne dégradant le chlorpyrifos éthyle présente dans l'échantillon de sol qui est par la suite enrichi de ce même pesticide et séché à l'air libre pendant 3 à 4 semaines.

Après une série de dilutions allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  de la solution mère, on a procédé à l'étalement des boîtes de pétri coulées avec le milieu minimum solide (**annexe 03**), contenant 30ml/l de chlorpyrifos éthyle. L'incubation a été effectuée à 30°C pour une durée de 24 à 48h.

### **4.5.2. Préparation de l'inoculum pour les études de dégradation**

Les souches ont été pré-cultivées pendant 18h dans un milieu BN dont la composition est donnée en (**annexe 03**), puis recueillies par centrifugation à 4000g pendant 10 min à 4 °C. Les culots cellulaires ont été lavés deux fois avec l'eau distillée stérile. Les études de dégradation ont été effectuées dans des Erlenmeyer de 50 ml, contenant 2ml de suspension bactérienne et 18 ml de milieu de sels minéraux MSM stérile annexe 03. Chaque souche possède deux Erlenmeyer, le premier contient 2 ml de chlorpyrifos éthyle à 35mg/l et le deuxième contient 2 ml de glucose à 1g/l (témoin).

Tous les échantillons ont été mis en incubation sur un agitateur rotatif (120 tours par minute) dans une chambre thermostatique obscurcie, maintenue à 30°C. Des échantillons de MSM ont été périodiquement prélevés de manière aseptique pour déterminer le taux de croissance bactérienne. La croissance des souches a été enregistrée par spectrophotométrie, en mesurant la DO à 660 nm en utilisant un spectrophotomètre ultraviolet-visible durant 5 jours.

L'échantillon de sol a un pH légèrement alcalin de 7,6. Selon **Daoud et Halitim (1994)**, les sols des régions arides sont généralement caractérisés par un pH alcalin ( $7,5 < \text{pH} < 8,5$ ). La valeur de la conductivité électrique de l'échantillon est de l'ordre de 2,1 dS / m, ce qui lui donne la classe saline (**Aubert, 1978**). De plus, le résultat a révélé que le sol contenait 0,02% de matière organique. Donc, le sol est pauvre en matière organique.

## 5. Résultats et discussion

### 5.1. Analyses physico-chimiques du sol

Les caractéristiques physiques et chimiques du sol étudié sont présentées dans le tableau 17. L'humidité est un paramètre important du processus de biodégradation, car l'eau est un élément essentiel du développement des bactéries. Dans notre cas, l'échantillon de sol étudié est caractérisé par une humidité de 20% (Tableau 17). Cependant, il convient de noter qu'une faible humidité peut avoir un effet négatif sur l'activité microbienne en limitant le contact entre le microorganisme / polluant et en inhibant le processus de dégradation enzymatique (Lecomte, 1995).

**Tableau 17:** Résultats de la caractérisation physico-chimique du sol.

Parametres	Résultats
Humidité (%)	0,93
CE $\mu\text{S} / \text{cm}$	887
pH (1/5)	7,2 et 7,7
Calcaire Total %	6,17
Calcaire actif%	25
Matière organique (%)	0,02
Carbone organique %	0,09
D'azote total %	2,2

### 5.2. Analyse microbiologique

#### 5.2.1. Dénombrement de la biomasse bactérienne

Le dénombrement a été effectué après 24h -48h d'incubation, les résultats sont mentionnés dans le tableau 02.

**Tableau 18:** Dénombrement des colonies.

	SM	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$
gélose nutritive	Tapis bactériens	Tapis bactériens	96	44	22	16	7
gélose nutritive avec chlorpyrifos éthyle	275	69	9	0	0	0	0

Les résultats montrent qu'en présence de gélose nutritive, le nombre des bactéries est très élevé est de  $1.85 \times 10^9$  UFC/g de sol, Par contre, sur gélose nutritive avec chlorpyrifos, le nombre des bactéries est en moyenne de  $3.53 \times 10^5$  UFC/g de sol tableau 18. Les résultats montrent que le chlorpyrifos éthyle joue un rôle d'inhibition sur la croissance bactérienne.

Selon **ALI-HAIMOUD (1980)**, le sol sous végétation est beaucoup plus riche en microorganismes qu'un sol nu. Divers chercheurs ont signalé que les populations microbiennes ont une densité dix fois plus grande dans la rhizosphère que dans un sol dépourvu de racines. A proximité de la rhizosphère, certains microorganismes sont stimulés par la fixation d'azote atmosphérique (la culture de Fabacée) et les apports de carbone et d'énergie d'origine végétale et par les composés sécrétés par les racines, Ceci pourrait expliquer la présence des bactéries indénombrables sur la gélose nutritive sans chlorpyrifos éthyle.

Le sol est un environnement extrêmement riche qui abrite une multitude de microorganismes. Parmi ces microorganismes, les bactéries sont de loin les plus abondantes à la fois en termes de biomasse et de diversité taxonomique (BUCKLEY et SCHMIDT, 2002).

### **5.3. Isolement et identification des bactéries**

#### **5.3.1. Etude morphologique**

Au cours de cette partie du travail, nous n'avons traité que les souches issues de l'ensemencement en présence de l'insecticide. L'observation macroscopique des cellules bactériennes a été effectuée après 24 à 48h d'incubation à 37 °C. Nous avons isolé et identifié neuf souches présentant des aspects différents (annexe 03).

**Tableau 19:** Caracteristiques morphologiques des souches bacteriennes isolées.

Critère souche	Taille	Couleur	forme	élévation	contour	opacité	surface	consistance
S1	Petite	Jaunâtre	Ronde	Convexe (bombée)	régulier	opaque	lisse	crémeuse
S2	Moyenne	beige	Ronde	Convexe (bombée)	régulier	opaques	lisse	crémeuse
S3	Moyenne	beige	Ronde	plate	régulier	opaque	lisse	crémeuse
S4	Petite	Jaune	Ronde	plate	régulier	opaque	lisse	crémeuse
S5	Moyenne	Jaune	Ronde	plate	régulier	opaque	rigoureuse	crémeuse
S6	Moyenne	beige	Ronde	plate	régulier	opaque	lisse	crémeuse
S7	Petite	Jaune	Ronde	Convexe (bombée)	régulier	opaque	lisse	crémeuse
S8	Petite	beige	Ronde	plate	régulier	opaque	lisse	crémeuse
S9	Moyenne	beige	Ronde	plate	régulier	opaque	lisse	crémeuse

## 5.4. Etude Biochimique

### 5.4.1. Coloration de Gram

L'observation microscopique après coloration de Gram a révélé que les neuf souches apparaissent sous forme de bacilles colorés en rose. Ce sont des bactéries à Gram négatifs à paroi perméable à l'alcool, qui ont été décolorées, puis recolorées par la fuchsine (**annexe 03**). Plusieurs souches microbiennes capables de transformer le chlorpyrifos ont été isolées et la majorité d'entre elles sont des organismes à Gram négatif (**TOPP et al., 2000**).

### 5.4.2. Test de catalase

Les résultats du test catalase montrent qu'il y a parmi les neuf souches isolées des bactéries à catalase positive et d'autres à catalase négative.

### 5.4.3. Test de l'oxydase

Les résultats du test oxydase (**annexe 03**) montrent l'existence parmi les neuf souches isolées des bactéries à oxydase positive et d'autres à oxydase négative.

### 5.4.4. Test de fermentation des glucides

Le milieu TSI a montré deux types de métabolismes glucidiques, une souche fermentaire (S1) où le culot du tube et la pente apparaissent en jaune (**annexe 03**) et des souches non fermentaires où la couleur du tube n'a pas changé.

Selon les moyens d'investigation en notre possession, nous avons pu identifier uniquement une seule espèce bactérienne (S1) parmi les neuf souches trouvées et une identification au rang du genre des autres souches isolées.

Pour la souche S1, l'observation à l'état frais a montré qu'elle est mobile. Un test catalase a montré qu'elle possède une catalase positive.

Le test d'oxydase a montré que la souche (S1) a une oxydase négative. L'ensemencement de la S1 sur le milieu TSI Agar (Triple Sugar Iron) a montré qu'elle fermente les glucides (Lac +) avec une production de gaz.

Pour l'étude des caractères biochimiques, une galerie Api 20 E est inoculée avec une suspension bactérienne de la souche S1.

#### ➤ Caractères biochimiques de la souche bactérienne (S1)

Le test d'ONPG montre que la souche (S1) possède de la B- galactosidase (enzyme de métabolisme du lactose), elle produit l'indole, fermente le glucose, le saccharose et assimile le mannitol mais pas le citrate. Une réponse positive est obtenue pour la lysine décarboxylase (LDC), d'ornithine décarboxylase (ODC), et une réponse négative pour l'uréase, le tryptophane désaminase (TDA) et l'arginine dihydrolase (ADH).

Les résultats de l'identification biochimique sont résumés dans le tableau 20.

**Tableau 20:** Résultats des tests biochimiques pour la souche (S1).

Tests biochimiques	S1
Gram	<b>Bacille Gram -</b>
Catalase	+
Oxydase	-
Mobilité	<b>Mobile</b>
ONPG/PNPG	+
Uréase	-
Indole	+
ADH	-
Citrate	-
Glucose	+
Gélatine	-
Mannitol	+
Arabinose	+
Mannose	+
Saccharose	+
H <sub>2</sub> S	-
LDC	+
ODC	+
VP	-
TDA	-

En comparant les résultats de l'API ( **photo 08**) avec les Genres bactériens publiés dans la 8 ème édition du << Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, on peut assimiler la souche S1 au genre *Escherichia*, précisément l'espèce *Escherichia coli* (**JOHN et al., 1994**) , Les résultats obtenus dans cette étude sont en accord avec de précédents travaux qui indiquaient l'implication des différentes espèces des *Enterobacteriaceae* dans la dégradation des composés organophosphorés des insecticides tels que le chlorpyrifos (**SINGH et al., 2004**).

➤ Caractères biochimiques des souches bactériennes S2, S4, S6, S8 et S9

Pour les souches S2, S4, S6, S8 et S9, l'observation à l'état frais a montré que ces souches sont mobiles. Un test catalase a montré que les souches S2 et S4 ont une catalase positive et les souches S6, S8 et S9 ont une catalase négative.

Le test d'oxydase a révélé que les souches S2, S4, S6, S8 et S9 possèdent une oxydase positive. L'ensemencement des Cinq souches sur le milieu TSI Agar (Triple Sugar Iron) a montré que sont des Lactose (-) c'est-à-dire qu'elles ne fermentent pas les glucides. Pour connaître les caractères biochimiques des quatre souches citées, une galerie API 20 E est inoculée avec une suspension bactérienne pour chacune des cinq souches (S2, S4, S6, S8 et S9).

En comparant les résultats des galeries API (**tab. 05**) avec les genres bactériens publiés dans la 8ème édition du << Bergey's Manual of Determinative Bacteriology >>, on peut assimiler les souches bactériennes S2, S4, S6, S8, S9 au Genre *Pseudomonas* (**JOHN et al., 1994**). (**BHAGOBATY et MALIK, 2008**) ont isolé quatre bactéries du sol qui ont été en mesure de croître dans 1600 mg/l de chlorpyrifos éthyle. Des tests morphologiques et biochimiques indiquent qu'elles pourraient appartenir à *Pseudomonas sp*. Une étude a montré que l'isolat bactérien de *Pseudomonas sp* a pu causer 100% de biodégradation du CP par rapport à d'autres espèces (**MAYA et al., 2011**).

**Tableau 21:** Résultats des tests biochimiques pour les souches S2, S4, S6, S8 et S9.

Tests biochimiques	S2	S4	S6	S8	S9
Gram	Bacille Gram <sup>-</sup>	Bacille Gram <sup>-</sup>	Bacille Gram -	Bacille Gram -	Bacilles Gram -
Catalase	+	+	-	-	-
Oxydase	+	+	+	+	+
Mobilité	Mobile	Mobile	Mobile	Mobile	Mobile
ONPG	-	-	-	-	-
Uréase	-	-	+	-	-
Indole	-	-	-	-	-
ADH	-	+	+	+	+
Citrate	+	+	-	+	+
Glucose	-	-	-	-	-
Gélatine	-	-	-	-	-
Saccharose	-	-	/	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	/	-	-
LDC	-	-	/	-	-
ODC	-	-	/	-	-
VP	-	-	/	-	-
TDA	-	-	/	+	-

➤ Caractères biochimiques des souches bactériennes S3, S5 et S7 :

Pour les souches S3, S5 et S7, l'observation à l'état frais a montré que la souche S5 est mobile mais les souches S3 et S7 sont non mobiles. Un test catalase a montré que la souche S5 et S7 ont une catalase positive et la souche S3 possède une catalase négative.

Le test d'oxydase a montré que les souches S3 et S5 ont une oxydase positive et la souche S7 a une oxydase négative. L'ensemencement des trois souches sur le milieu TSI Agar (Triple Sugar Iron) a montré qu'elles appartiennent au groupe des non-fermentaires. Après la comparaison des résultats des galeries API 20E (**tab. 06**) avec les genres bactériens publiés dans la 8ème édition du << Bergey's Manual of Determinative Bacteriology >> on

peut assimiler la souche S7 au genre *Acinetobacter* (**JOHN et al., 1994 ; BLOCH et al., 1997**).

**ZHAO et al, (2013)** ont identifiés des bactéries dégradantes le chlorpyrifos éthyle appartenant au Genre *Acinetobacter*. Ces bactéries produisent des différents types d'agents tensioactifs biologiques comme Glycolipides, phospholipides, lipopeptides, lipopolysaccharides, sophorolipides...etc., qui lui aident à la biodégradation des pesticides (**DHANYA, 2014**).

Nous pouvons également assimiler les souche S3 et S5 au genre *Moraxella* ou *Bordetella*. Une bactérie identifiée comme *Moraxella sp* a été isolé à partir des sédiments après l'enrichissement montre sa capacité de dégrader facilement des pesticides organophosphorés tels que le Parathion méthyl et le malathion, comme source de carbone et d'énergie (**WALKER, 1978**). Des études ont montré la dégradation des pesticides et des composés organochlorés (1,2,4-trichlorobenzene) par *Bordetella sp* (**ASHTON ACTON , 2011**). Une autre étude plus récente a montré la biodégradation à 80% de l'endosulfan qui est un insecticide de la famille des organochloré par *Bordetella sp* (**GREESHMA et al., 2012**)

**Tableau 22** : Résultats des tests biochimiques pour les souches S3, S5 et S7.

Tests biochimiques	S3	S5	S7
Gram	<b>Bacille Gram<sup>-</sup></b>	<b>Bacille Gram<sup>-</sup></b>	<b>Bacille Gram<sup>-</sup></b>
Catalase	-	+	+
Oxydase	+	+	-
Mobilité	<b>Immobile</b>	<b>Mobile</b>	<b>Immobile</b>
ONPG	-	-	-
Uréase	-	-	-
Indole	-	-	-
ADH	+	-	-
Citrate	+	-	-
Glucose	-	-	-
Gélatine	-	-	-
Saccharose	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-
LDC	-	-	-
ODC	-	-	-
VP	-	-	-
TDA	-	-	-

### **5.5. Mesure de la densité optique en présence de chlorpyrifos éthyle**

Neuf souches bactériennes ont été comptées et observées morphologiquement sur le milieu minéral en gélose contenant de chlorpyrifos éthyle (tableau 18). Le résultat de la réponse de croissance bactérienne en présence de chlorpyrifos a montré que les neuf souches sont toutes capables de se développer dans le milieu en présence d'éthyl chlorpyrifos à une concentration de 35 mg / L comme seule source de carbone et d'énergie, en comparant cette croissance avec le témoin (Figure 28). Ces bactéries sont dotées d'une résistance / tolérance au chlorpyrifos éthyle. Le taux de croissance de certaines souches est encore plus élevé en présence de ce produit toxique.

La capacité des neuf souches à croître dans le MMS en présence d'éthyl chlorpyrifos comme seule source de carbone indique que ces bactéries sont capables de résister et de l'utiliser comme nutriment. Ils sont alors probablement capables de le métaboliser via un système enzymatique capable d'hydrolyser le chlorpyrifos et de l'utiliser comme source d'énergie. La base moléculaire de la dégradation de certains composés organophosphorés a été largement étudiée (Serdar et al., 1982; Mulbry et al., 1986; Horne et al., 2013). Un gène de dégradation des pesticides organophosphorés largement répandu, OPD (Organophosphate Degrada-tion), a été isolé d'espèces géographiquement et biologiquement différentes dans le temps (Se-thunathan et al., 1973). Le chlorpyrifos pourrait également être dégradé métaboliquement

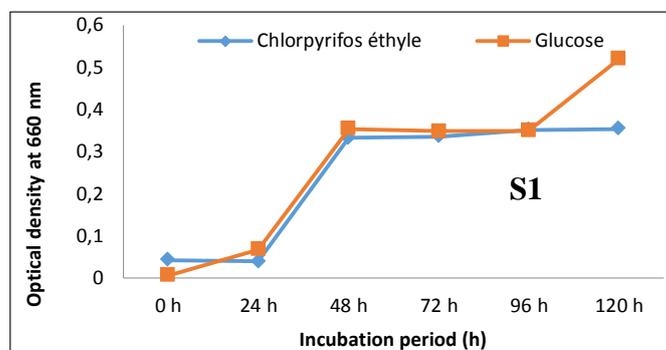
dans un milieu liquide par *Flavobacterium* sp. et par *Escherichia coli* doté du gène OPD (Richnis et al., 1997; Mallick et al., 1999; Wang et al., 2002).

La variabilité de la cinétique de croissance observée pour les neuf souches peut être liée au système enzymatique des différents genres bactériens identifiés et aux voies de dégradation. Les premières études ont montré que les conditions environnementales dans lesquelles les isolats sont enrichis sont cruciales pour la sélection de souches avec les systèmes enzymatiques de dégradation souhaités, mais aussi avec des mécanismes de régulation spécifiques pour les voies de dégradation (Kertesz et al., 1994). Zhao et al. (2013) ont identifié certaines bactéries de dégradation du chlorpyrifos éthyle appartenant au genre *Acinetobacter*. Cependant, l'existence de systèmes enzymatiques potentiellement efficaces dans la cellule microbienne n'entraîne pas nécessairement une dégradation. En effet, la synthèse de nombreuses voies cataboliques des enzymes dépend étroitement de la concentration en substrat (également appelé inducteur) qui détermine le niveau de production. Mais la capacité d'un produit "étranger" à être accepté comme substrat auxiliaire n'est pas nécessairement une double capacité à induire la synthèse d'enzymes appropriées, en particulier lorsque ces enzymes sont empruntées à différentes voies métaboliques, donc régulées séparément (Soulas, 1985).

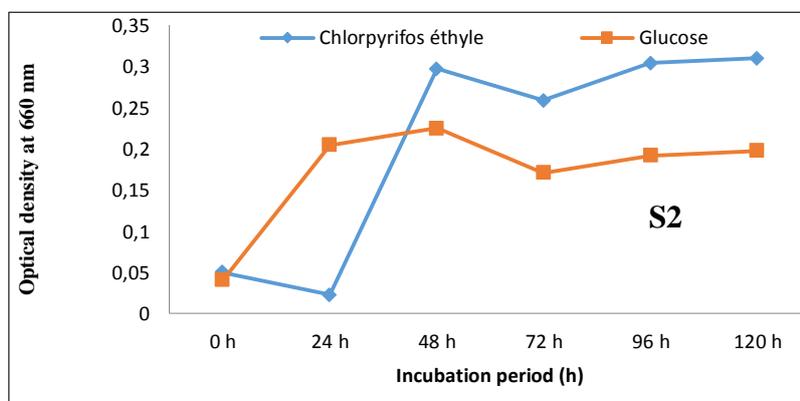
**Tableau 23:** Résultats de la caractérisation morphologique et biochimique des isolats

Numéro d'isolat	Genre
S1	<i>Escherichia</i>
S2	<i>Pseudomonas</i> sp.
S3	<i>Moraxella</i> sp.
S4	<i>Pseudomonas</i> sp.
S5	<i>Bordetella</i> sp.
S6	<i>Pseudomonas</i> sp.
S7	<i>Acinetobacter</i> sp.
S8	<i>Pseudomonas</i> sp.
S9	<i>Pseudomonas</i> sp.

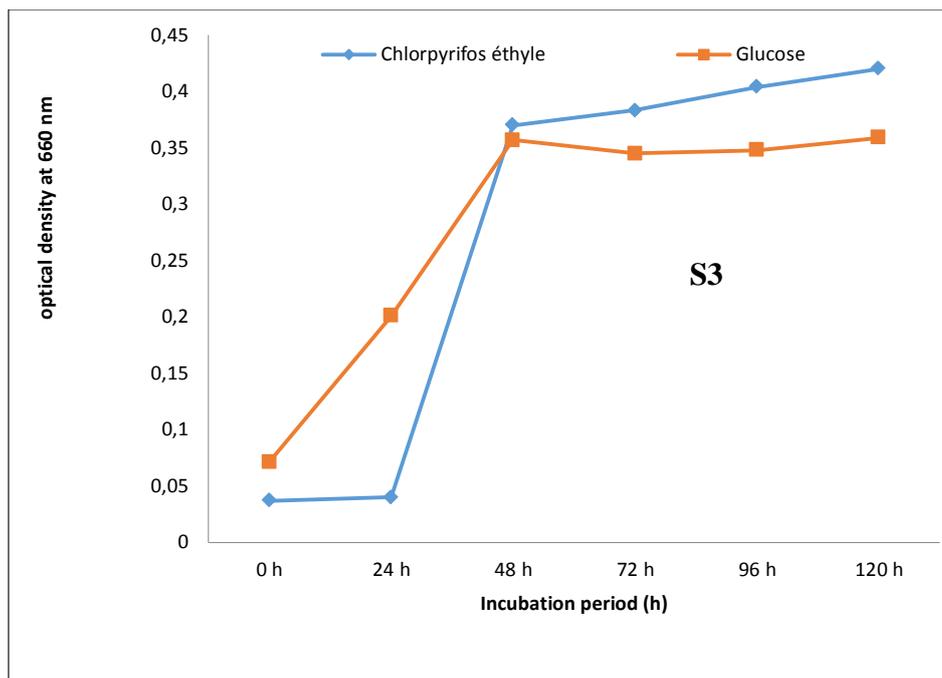
Le suivi de la croissance en présence de chlorpyrifos a montré que les neuf isolats étaient capables de se développer dans le milieu MSM en présence de chlorpyrifos à une concentration de 35 mg / l en tant que source unique de carbone et d'énergie, par rapport à leur croissance en contrôle, contenant 1 g / L de glucose.



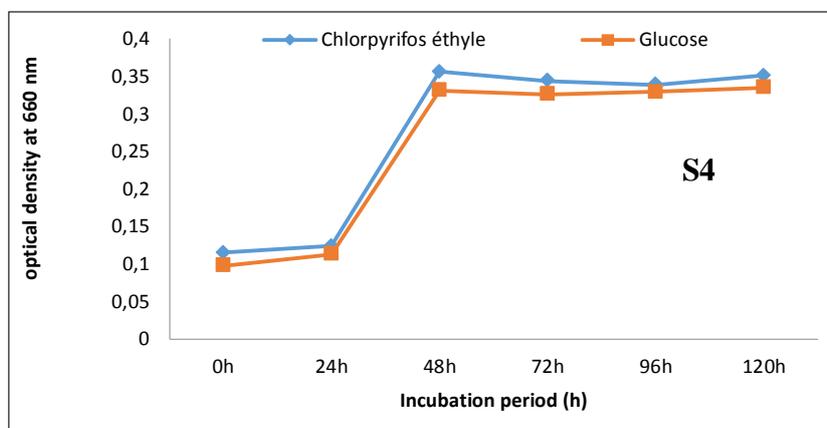
**Figure 27:** Surveillance de la croissance de l'isolat N°1 en présence de chlorpyrifos ou de glucose.



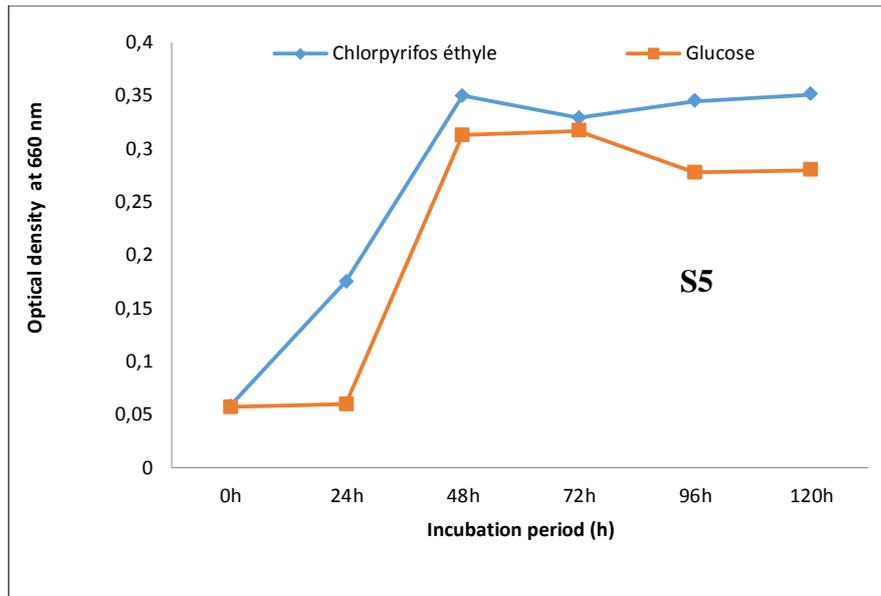
**Figure 28:** surveillance de la croissance de l'isolat N°2 en présence de chlorpyrifos ou de glucose.



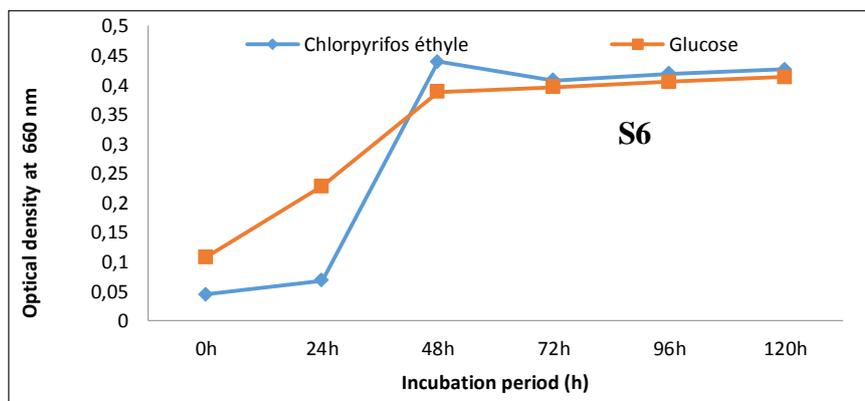
**Figure 29** : Surveillance de la croissance de l'isolat N°3 en présence de chlorpyrifos ou de glucose.



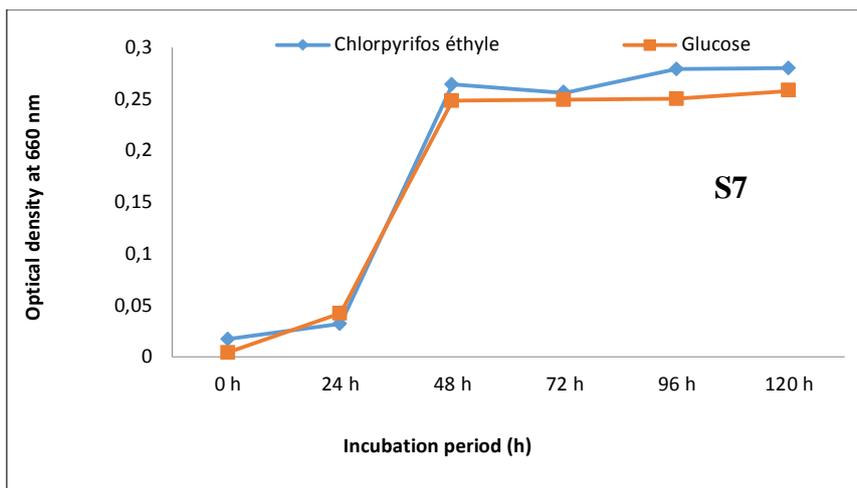
**Figure 30**: Surveillance de la croissance de l'isolat N°4 en présence de chlorpyrifos ou de glucose.



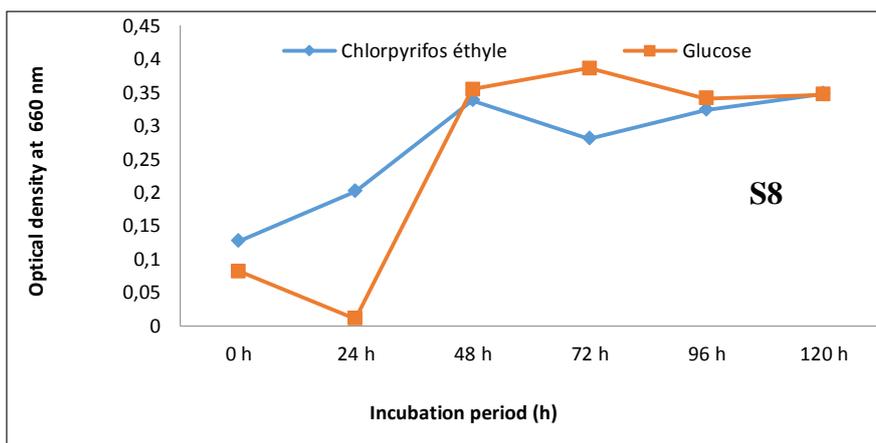
**Figure 31:** Surveillance de la croissance de l'isolat N°5 en présence de chlorpyrifos ou de glucose.



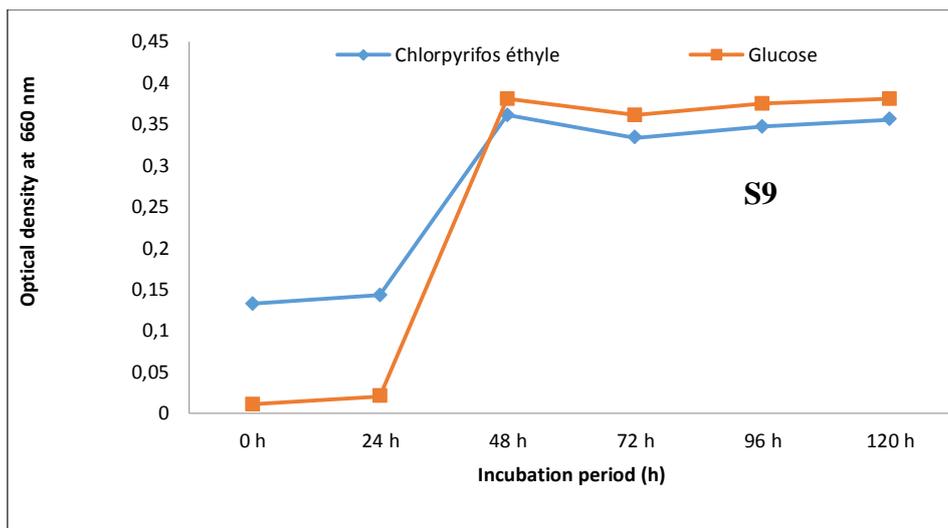
**Figure 32:** Surveillance de la croissance de l'isolat N°6 en présence de chlorpyrifos ou de glucose.



**Figure 33:** Surveillance de la croissance de l'isolat N°7 en présence de chlorpyrifos ou de glucose.

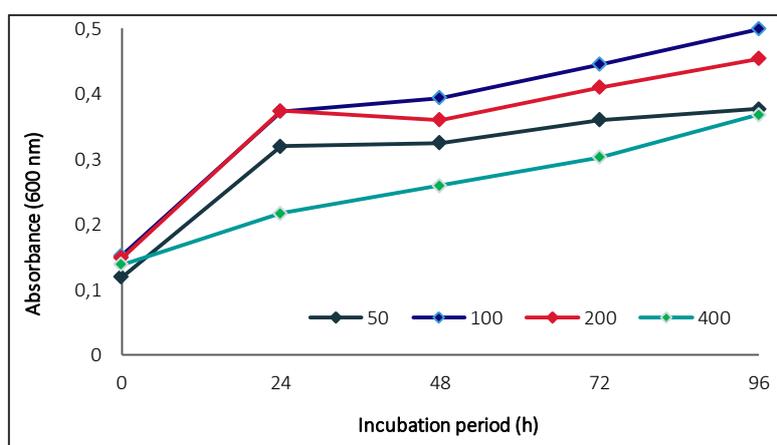


**Figure 34 :** Surveillance de la croissance de l'isolat N°8 en présence de chlorpyrifos ou de glucose.

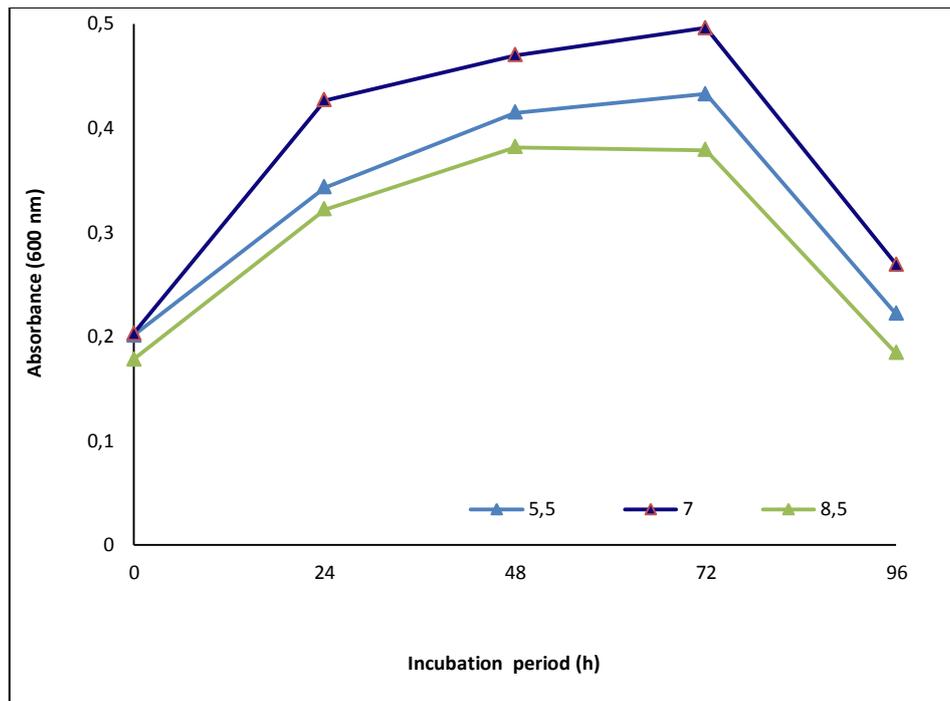


**Figure 35:** Surveillance de la croissance de l'isolat N°9 en présence de chlorpyrifos ou de glucose.

La variabilité de la cinétique de croissance observée pour les neuf isolats peut être liée au système enzymatique des différents genres bactériens ainsi qu'à la voie de dégradation. Les premières études ont montré que les conditions environnementales dans lesquelles les isolats sont enrichis sont essentielles pour la sélection des souches, non seulement avec les systèmes de dégradation des enzymes souhaités, mais également avec des mécanismes de régulation spécifiques pour la dégradation.



**Figure 36:** Effet de la concentration en pesticide sur la croissance de l'isolat S6



**Figure 37:** Effet du pH sur la croissance de l'isolat S6 en présence de 100 mg / l de chlorpyriphos-éthyle.

L'effet de différentes concentrations plus élevées du pesticide (50, 100, 200 et 400 mg / L) sur la croissance de l'isolat S6 a été testé, les résultats présentés (Figure 29) ont montré que les taux de croissance les plus élevés ont été obtenus à 100 et 200 mg / L du pesticide, ce qui indique que l'isolat pourrait tolérer des concentrations importantes dans l'environnement. D'autre part, à pH 7, une croissance maximale a été observée, tandis que des taux plus faibles ont été enregistrés pour les pH 5,5 et 8,5 (Figure 30). Plusieurs chercheurs ont signalé une biodégradation optimale du chlorpyriphos à pH neutre (**Singh et al., 2003**).

## ***Conclusion***

L'isolement et La pré-identification des microorganismes du sol, nous ont permis de dresser un inventaire d'une flore variée indiquant leur adaptation aux conditions difficiles ; il s'agit de neuf souches isolées et préidentifiées qui apparaissent sous forme de bacilles à Gram négatif, appartenant aux Genres suivants : *Escherichia* (S1), *Pseudomonas* (S2, S4, S6, S8 et S9), *Acinetobacter* (S7), *Moraxella* et/ou *Bordetella* (S3, S5).

La mesure de la densité optique montre une cinétique de croissance variable entre les souches isolées, celle des souches S1, S4, S6 et S7 montre une similitude avec celle du témoin. Par contre et jusqu'à 48h, la cinétique des souches S2, S3 et S5 est de la même allure que celle du témoin, qui augmente par la suite. Les souches S8 et S9 ont présentés une cinétique moins importante que celle du témoin.

La variabilité de la cinétique de croissance chez les bactéries isolées indique un développement important des souches testées, traduisant une bonne tolérance du pesticide dans le milieu. Ces résultats sont précurseurs d'une transformation du pesticide par ces souches dans le milieu.

*Conclusion*

*Générale*

### *Conclusion générale*

Ce travail de recherche fait écho aux problèmes de contamination des sols par les pesticides dont l'utilisation fréquente et généralisée en agriculture dans la région de Ouargla au Sud-Est de l'Algérie. Ces xénobiotiques ont conduit à des pollutions diffuses dans tous les compartiments des écosystèmes.

Dans le premier chapitre, il ressort de l'enquête réalisée au niveau des deux stations que les dangers des pesticides sont d'autant plus importants sur la population que sur les différents compartiments de l'environnement. Nous avons constaté que 80 % des produits phytosanitaires sont des insecticides pour la lutte contre les ennemis des cultures maraichères et l'arboriculture, nous soulevons l'insouciance des agriculteurs qui ont des comportements à haut risque, absence d'équipement de protection lors de pulvérisation des cultures, le non respect des doses et des consignes de traitement, le non respect des délais avant la récolte....etc. Les molécules de pesticides collectées dans la station d'El-Hjira ont été regroupées dans deux groupes d'usage suivant : Groupe des insecticides, metonate, karaté, Decis et comme herbicide le Pulsar.

Un aperçu sur la présence des pesticides et leurs distributions dans les sols cultivés de la région d'El-Hjira et la corrélation avec les propriétés du sol nous a incité à faire un échantillonnage de sol et de pesticides, les analyses physico-chimiques nous ont révélé un pH qui varie entre 7,3 et 7,8, l'humidité qui se révèle faible, 25%, une conductivité électrique entre 1,85 et 2,77 qui classe nos sols parmi les sols salés, un taux de matière organique moyen qui ne dépasse pas 2,32% et un faible taux de calcaire total égale à 2,34%. Afin de pouvoir identifier les molécules des pesticides récoltés dans la station, une extraction solide/liquide des échantillons a été réalisée en utilisant le dichlorométhane comme solvant. Une analyse qualitative des pesticides s'est portée sur la chromatographie sur couche mince (CCM), les résultats ont démontré que certains spots de pesticides sont apparents dans les extraits des sols cultivés, le cas des cultures maraichères et des cultures des olives, les extraits des sols de la céréaliculture et la culture du palmier dattier sont presque dépourvus de résidus de pesticides.

Ainsi, dans ce chapitre, notre objectif était l'évaluation des molécules de pesticides dans les sols agricoles de la région d'El-Hjira. Les résultats permettent de déduire que les molécules des produits phytosanitaires subissent des transformations ou des dégradations résultant d'un ensemble de processus tels que la dissipation, les processus physico-chimiques et biologiques.

HPLC nous a révélé des chromatogrammes représentant les pics des résidus de pesticides qui ont été extraits à partir des sols cultivés (CM, CC, Coliv et PD) et les chromatogrammes des composés de pesticides commerciaux, respectivement. Il a été constaté que la plupart des extraits analysés contiennent des résidus correspondant à la matière active, ce qui confirme leur forte rétention dans le sol. Il est important de noter que nos pesticides standards ne sont pas des produits purs, ce qui rend la comparaison difficile. Selon l'analyse statistique, il a été constaté que les molécules de pesticides telles que le méthomyl 25%, la deltaméthrine et les pyréthroïdes sont inexistantes dans nos extraits. Cela peut s'expliquer par la dégradation chimique ou abiotique provoquée par des réactions comprenant l'hydrolyse, le rédox et l'ionisation. D'autres résidus de pesticides ont été retrouvés à l'extérieur de leurs sites d'application. C'est le cas de Pulsar et de Score 250EC. Leur présence en dehors de leurs champs a été expliquée par des travaux de recherche qui tendent à montrer que leurs dépôts près des zones traitées peuvent atteindre des niveaux du même ordre de grandeur que les dépôts à la dérive, voire même être plus élevé dans certaines conditions.

L'analyse canonique a été réalisée dans le but de montrer qu'il existe une corrélation entre les différents paramètres pédoclimatiques et la présence des molécules de pesticides. Nous avons remarqué que l'humidité, le pH et la conductivité peuvent jouer un rôle dans la dissipation, la rétention et la dégradation des pesticides dans le cas de la cyperméthrine, trimol et Score250EC. Le pH de nos échantillons est compris entre 7,3 et 7,8; les valeurs de conductivité électrique sont comprises entre 1,85 dS / m et 2,77 dS / m donnant la classe saline. Une diminution de la quantité de pesticides retenus ionisables est observée avec l'augmentation du pH.

Le troisième chapitre porte sur un essai de la dégradation du chlorpyrifos éthyle par des bactéries isolées dans les sols agricoles de Ain moussa, l'isolement et une pré-identification de neuf souches qui pourraient dégrader le chlorpirifos éthyle en utilisant le carbone comme seule source d'énergie.

Nos travaux nous ont permis d'établir un lien entre la qualité du sol (contaminé au chlorpyrifos) et les bactéries pour leur capacité à tolérer ce pesticide. Les analyses physico-chimiques (pH, CE, OM, H%) ont permis de distinguer que l'échantillon de sol étudié était alcalin, salin et moyennement riche en matière organique. Sur la base des résultats obtenus, on pourrait conclure que les neuf bactéries isolées pourraient tolérer des niveaux élevés de chlorpyrifos comme source unique de carbone et d'énergie, ce qui donnerait à penser qu'elles sont ca-

pables de le biodégrader partiellement ou totalement. En outre, ces isolats pourraient être utilisés avec succès dans la bioremédiation *in situ* de sols agricoles contaminés par le chlorpyrifos.

Cependant, des analyses plus approfondies sont nécessaires pour déterminer la concentration des pesticides résiduels présents dans les sols agricoles, nous permettant de mieux évaluer les risques pour la santé qui y sont liés.

En finalité, il pourrait être suggéré que la compréhension du comportement des produits phytosanitaires dans le sol est essentielle pour l'évaluation des risques de leur transfert dans différents compartiments de l'environnement. Cette compréhension permettra de mettre en œuvre une utilisation raisonnable et durable de ces produits sans remettre en cause la durabilité économique de ces activités.

Des études approfondies sont encore nécessaires pour évaluer des mécanismes possibles de la biodégradation des pesticides par les différentes souches isolées

*Références*  
*Bibliographique*

## *Références bibliographiques*

ACTA. (2002). Index phytosanitaire, Association De Coordination Technique Agricole 194 rue de Bercy, 75595 Paris.

ACTA. (2006). Index phytosanitaire, Association De Coordination Technique Agricole, 194rue de Bercy, 75595 Paris.

Agences de l'Eau (2000). Système d'évaluation de la qualité des cours d'eau : SEQ EAU, principes généraux. Etudes des Agences de l'Eau n°64.

AGRITOX. 2004. "Base de données sur les produits phytosanitaires.

A.Hayo; M.G. Van der Werf, J. (1996) : Ecosystems and Environment. 60: 81-96

Ahuja, L.R., 1986. Characterization and modeling of chemical transfer to runoff Adv. Soil Science, 4, 149-188

Ahuja, L.R., O.R. Lehman, 1983. The extend and nature of rainfall-soil interaction in the release of solubles chemicals to runoff. J. Environ. Qual., 12, 34-40

Alexander, M. (1981). Biodegradation of chemicals of environmental concern. Science 211. 9: 132-138.

ALI-HAIMOUD D., 1980- Contribution à l'étude des sols alfatiers : fixation d'azote symbiotique: effet du paillage sur cette activité. Thèse magister USTHB Alger: 112p.

Alexander, M. 2000. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. Environmental Science & Technology, 34 : 4259-4265

Alves, P.A.T. (2012) Behavior of ametryn and glyphosate herbicides applied in association in soil of cultivation of sugar cane. Thesis, Universidade de Sao Paulo, Piracicaba.

Amalric L., Baran N., Jeannot R., Martin J.C, Mouvet C., 2003- les mécanismes de transfert des produits phytosanitaires du sol vers les nappes et les methods d'analyse des produits phytosanitaires dans les eaux.BRGM/RP-51590-FR, 116 p., 31 fig., 18 tabl.1 ann.

Amand, J. et Jacobsen, O.S. (2001). Sorption and degradation of glyphosate and dichlobenilin fractured clay. BCPC Symposium Preceedings n° 78: Pesticide Behaviour in Soil and Water. 55: 205-210.

Amy P.S., Schulke J.W., Frazier L.M. et Seidler R.J., 1985. Characterization of aquatic bacteria and cloning of genes specifying partial degradation of 2,4- dichlorophenoxyacetic acid. Appl. Environ. Microbiol., 49 : 1237-1245.

ANAT. 1995. Maîtrise de la croissance urbaine de la métropole de Ouargla. Réhabilitation de l'écosystème de la Vallée de l'Oued Mya, 43p.

Andreux F., J-M. Portal, M. Schiavon, G. Bertin, 1992. The binding of atrazine and its dealkylated derivatives to humic-like polymers derived from catechol. *Science of the Total Environment*, 117/118, 207-217

Anne Alix (INRA), Enrique Barriuso (INRA), Carole Bedos (INRA), Bernard Bonicelli (Cemagref), Thierry Caquet (INRA), Igor Dubus (BRGM).

A.Tor; M.Emin Aydin; S.Ozcan, J. (2006): *Analytica Chimica Acta* 559) 173–180

ASHTON ACTON Q., 2011- Issues in environmental research and application, chap 18, environmental research. Scholarly Editions. ISBN 978-1-4649-6363-6. P 1295.

Assink and Van den Brink, 1986. Soil Protection Research as a Priority Area of Dutch Science Policy Contaminated Soil, Pages 17-17

Asman, W., Jorgensen, A. and Jensen, P.K., 2003. Dry deposition and spray drift of pesticides to nearby water bodies. 87-7972-946, Danish Environmental Protection Agency.

Aslam, S., Iqbal, A., Deschamps, M., Recous, S., Garnier, P., and Benoit, P. (2015) Effect of rainfall regimes and mulch decomposition on the dissipation and leaching of S-metolachlor and glyphosate: a soil column experiment. *Pest Manag. Sci.* **71**: 278–291.

Aubert G, Méthodes d'analyses des sols. Ed. C.R.D.P., Marseille, 191p, 1978.

Aub Daoud Y. Et Halitim A., 1994- Irrigation et salinisation au Sahara Algérien. *Sécheresse*. 5(3). pp151-160.

Audus L.J., 1964. Herbicide behavior in the soil : II. Interactions with soil microorganisms. In : The physiology and biochemistry of herbicides, 163-206, Audus L.J. (ed.) Academic Press, New York

Baer U., 1996- Comportement des pesticides dans le sol : Evaluation et simulation de la dissipation au champ. Thèse Institut National Agronomique Paris-Grigno, 155p.

Bailly R. et Dubois G., 1977. Index phytosanitaire: produits insecticides, fongicides herbicides. 14ème édition. 400 p.

Bakry, F.A., W.S. Hasheesh and S.A.H. Hamdi, 2011. Biological, biochemical, and molecular parameters of *Helisoma duryi* snails exposed to the pesticides malathion and deltamethrin. *Pesticide Biochem. Physiol.*, 101: 86-92

Barriuso, E., Clavet, R., Schiavon, M. et Soulas, G. (1996). Les pesticides et les polluants organiques des sols transformation et dissipation. Le sol un patrimoine menacé ? Paris 24 octobre 1996.

Barriuso E., Koskinen W.C., Sadowsky M.J. - 2004 - Solvent extraction characterization of bioavailability of atrazine residues in soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6552-6556.

Barriuso E., Calvet R., Schiavon M. et Soulas G. (1996). Les pesticides et les polluants organiques des sols : Transformations et dissipation. *Etude et Gestion des Sols*, 3-4, 279-296

Barriuso & Calvet, 1992 ; Schiavon M., Soulas G., 1996- Les pesticides et les polluants organiques des sols : Transformation et dissipation. *Etude et Gestion des sols*, 3,4, 279-296.

Barriuso E., Feller Ch., Calvet R., Cerri C. (1992). Sorption of atrazine, terbutryn and 2,4-D herbicides in two Brazilian Oxisols. *Geoderma*, 53, 155-167.

Barriuso E., Calvet R. 1992. Soil Type and Herbicide Adsorption. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, no. 46:117-128.

Barriuso E., Benoit p., Charnay M.P., Coquet Y., Louchart X., Schiavon M., Aurousseau p. - 2005 - Pollutions organiques diffuses : mobilité et persistance des polluants organiques dans les sols. In: "Sols et Environnement", Girard M.C., Walter C., Rémy J.C., Berthelin J., Morel J.L. (eds.), Dunod, Paris, chap. 18. <http://www.dunod.com/documents/45520/chapitre18.zip> ou <http://www.inra.fr/Internet/Hebergement/afes/>

Baum, E. J. 1998. Chemical Properties Estimation-theory and application. Edited by . Boca Raton, Boston, London, New York, Washington, D.C.: Lewis Publishers

Bedos, C., Cellier, P., Calvet, R., Barriuso, E. and Gabrielle, G., 2002. Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. *Agronomie*, 22: 21-33.

Beernaerts, S., P. Debongnie, L. Pussemier, and M. Guns, System for the Evaluation of Pesticide Transport to Waters septwa version 2.3.description et manuel d'utilisation. 2003, VAR: Tervuren. 59pp.

Beernaerts, S. and L. Pussemier, Estimation des pertes en produits phytosanitaires vers les eaux superficielles et souterraines dans les différents bassins hydrographiques belges. 1995, CERVA: Tervuren, Belgique. 19pp.

Beestman G.B., J.M. Deming, 1974. Dissipation of acetanilide herbicides from soils. *Agronomy J.*, 66, 308-311

Beigel C., Charnay M.P., Barriuso E. - 1999 - Degradation of formulated and unformulated triticonazole fungicide in soil: effect of application rate. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 4, 525-534.

Beltran J., Hernandez F., Lopez F. J., Morell I., (2001). Study of sorption processes of selected pesticides on soils and ceramic porous cups used for soil solution sampling. *International journal of environmental analytical chemistry* 58,P: 287-303.

BHAGOBATY RK, MALIK A, 2008- Utilization of chlorpyrifos as a sole source of carbon by bacteria isolated from wastewater irrigated agricultural soils in an industrial area of western Uttar Pradesh. India. *Res. J. Microbiol.* 3: 230-293.

Bhat M. A., Tsuda M., Horiike K., Nozaki M., Vaidyanathan C.S., Nakazawa T., 1994. Identification and characterization of a new plasmid carrying genes for degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetate from *Pseudomonas cepacia* CSV90. *Applied and Environmental Microbiology* 60 : 307-312.

Blanchoud H., Garban B., Ollivon D., Chevreuil M., 2002. Herbicides and nitrogen in precipitation : progression from west to east and contribution to the Marne river (France). *Chemosphere*. 47(9): 1025-1031.

Bloch k. C., r. Nadarajah, and r. Jacobs., 1997- *Chryseobacterium meningosepticum*: an emerging pathogen among immunocompromised adults. *Medicine* 76:30-4.

Bean B.W., F.W. Roeth, A.R. Martin, R.G. Wilson, 1988. Influence of prior pesticide treatments on EPTC and butylate degradation? *Weed Sci.*, 36, 70-77  
Beestman G.B., J.M. Deming, 1974. Dissipation of acetanilide herbicides from soils. *Agronomy J.*, 66, 308-311

Belmonte V., A. Garrido F., Marting V.J.L. 2005. Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry, *analyticachimica, ACTA*, Vol 538: 117-127.

Ben oujji, 2012. Développement de biocapteurs enzymatiques associés à des polymères à empreinte moléculaire (MIPs) pour la détection sélective et sensible des organophosphorés utilisés en oléiculture. THÈSE Présentée pour obtenir le grade de docteur de l'Université Ibn Zohr d'Agadir et de l'Université via Domitia de Perpignan.

Bollag, J. M. and S. Y. Liu. 1990. Biological transformation processes of pesticides. In *Pesticides in the soil environment : processes, impacts, and modeling*, edited by Cheng, H. H. (Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America).

Benoit, P. (1994). Rôle de la nature des matières organiques dans la stabilisation des résidus de polluants organiques dans les sols. Thèse (docteur de l'institut National Agronomique Paris-Grignon). Chapitre 1 (p 209).

- Bérard A., Dorigo U., Humbert J.-F., Leboulanger C. & Seguin F. (2002). La méthode PICT (Pollution-Induced Community Tolerance) appliquée aux communautés algales: intérêt comme outil de diagnose et d'évaluation du risque écotoxicologique en milieu aquatique. *Annales de Limnologie*, 38, 247-26.
- BLOCH K. C., R. NADARAJAH, and R. JACOBS., 1997- *Chryseobacterium meningosepticum*: an emerging pathogen among immunocompromised adults. *Medicine* 76:30–4.
- Boesten J.J.T.I., van der Pas L.J.T. et Smelt J.H., 1989. Field test of a mathematical model for non-equilibrium transport of pesticides in soil. *Pesticide Science*, 25 : 187-203.
- Boivin, A., Cherrier, R. et Schiavon, M. 2005. A comparison of five pesticides adsorption and desorption processes in thirteen contrasting field soils. *Chemosphere*, 61, 668-676.
- Bonzi-coulibaly L.Y., 2006. Variation de la teneur en résidus de pesticides dans les sols de la zone cotonnière du Burkina Faso. Article publié dans le *Journal Africain des Sciences de l'Environnement*. Numéro 1,29-39. Pp 29-39.
- Bouammar B. et Bekhti B. 2008. Le Développement De L'économie Agricole Oasienne: Entre La Réhabilitation Des Anciennes ET L'aménagement Des Nouvelles Palmeraies. *Revue du chercheur* 6: 45-51.
- Boudemagh A., (2007). Isolement à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse doc en microbiologie appliqué: Université Mentouri Constantine. P: 23, 28, 62.
- Bounias 1983 - L'analyse biochimique quantitative par nanochromatographie en couche mince - Masson.
- Bouvier G., Blanchard O., Momas I., Seta n., 2006. Environmental and biological monitoring of exposure to organophosphorus pesticides: application to occupationally and non- occupationally exposed adult populations. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*. 16(5): 417-426.
- BRGM (2000). Guide méthodologique : gestion des sites potentiellement pollués, Version 2. BRGM Editions, Orléans.
- Briand, O. et al., 2003. Atmospheric concentrations and volatilisation fluxes of two herbicides applied on maize. *Fresenius Environmental Bulletin*, 12(7): 675-679.
- Brigg G.G. 1981. Theoretical and Experimental Relationships between Soil adsorption, Octanol-Water Partition Coefficients, Water Solubilities, Bioconcentration Factors, and the Parachor. *J. Agric. Food Chem.*, no. 29:1050-1059.

Brock TCM, Lahr J, Van den Brink, PJ (2000). Ecological risk assessment of pesticides in freshwater ecosystems. Part 1: Herbicides. Alterra-Report 088, Wageningen.

BUCKLEY DH, SCHMIDT TM., 2002- Exploring the diversity of soil - a microbial rainforest In Biodiversity of Microbial Life: Foundation of Earth's Biosphere, ed. AL Reysenbach. New York, New York, USA: Wiley.

Buol, S., 1995 - Sustainability of soil use. Annual review of ecology and systematics. 26, 25-44.

Buyts M., Guyot C., Barciot F., 1991. Comportement des produits agropharmaceutiques dans le sol: Comment l'étudier et le comprendre. Article de synthèse, 4 p.

Cáceres T., He W., Naidu R. & Megharaj M, Toxicity of chlorpyrifos and TCP alone and in combination to *Daphnia carinata*: the influence of microbial degradation in natural water. Water Res. 41, 4497-4503, 2007.

Calderbank, A. 1989. The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. Review of Environmental and Contamination Technology 108:69-103.

Calvet, R., M. Tercé, and J. C. Arvieu. 1980. Mise au point bibliographique-Adsorption des pesticides par les sols et leurs constituants- IV.Conséquences des phénomènes d'adsorption. Annales Agronomiques 31, no. 4:385-411.

Calvet, R., (2003). Le sol propriétés et fonctions, phénomènes physiques et chimiques et applications agronomiques et environnementales, institut national agronomique paris Grignon, France.

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

Cairns T., Sherma J.1996. Emerging strategies for pesticides analysis. CRC press, Boca Raton. Florida-USA. Vol 754: 125-135.

Chehama A, (2005) : Etude floristique et nutritive des parcours camelins, du Sahara septentrional Algérien cas des régions d'Ouargla et Ghardaïa .Ins. Biologie. Univer Annaba, thèse doctorat, 178 p.

Chaignon, V., Sanchez-neira, I., Herrmann, P., Jaillard, B., and Hinsinger, P., 2003. Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from a vine-growing area. *Environ Pollut.* 123(2); 229-238.

Chaussod, R., Nicolardot, B. et Catroux, G. (1986). Mesure en routine de la biomasse microbienne des sols par la méthode de fumigation au chloroforme. Science du Sol. 2 : 201-211.

Chubilleau C., Pubert M., Comte J., Giraud J., 2011. Pesticides et santé. Etude écologique du lien entre territoires et mortalité en Poitou-Charentes. Rapport 136, Paris, 222 p.

CEC (2002). Towards a Thematic Strategy for Soil Protection. Communication from the Commission to the Council, the European Parliament, the Economic and Social Committee and the Committee of the Regions.

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

Chantal Gascuel (INRA), Jean-Joël Gril (Cemagref), Marc Voltz (INRA) Expertise scientifique collective "Pesticides, agriculture et environnement" Chapitre 3 – 215.

Chaudray G.R. et Huang G.H. 1988. Isolation and characterization of a new plasmid from a *Flavobacterium* sp. which carries the genes for degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *J. Bacteriol.*, 170 : 3897-3902.

Chaussod, R., Nicolardot, B. et Catroux, G. (1986). Mesure en routine de la biomasse microbienne des sols par la méthode de fumigation au chloroforme. *Science du Sol*. 2 : 201-211.

Calderbank, A. 1989. The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. *Review of Environmental and Contamination Technology* 108:69-103.

Clavet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.-P., Coquet Y., 2005. Les pesticides dans le sol conséquences agronomiques et environnementales. *France Agricole*, Paris. 625 p.

Clement, M., Cann, C., Seux, R., Bordenave, P., 1999. Facteurs de transfert vers les eaux de surface de quelques phytosanitaires dans le contexte agricole breton. In *Pollutions diffuses : du bassin versant au littoral*. Editions Ifremer, 141-156.

Colin, F., 2000. Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires Cas de l'Atrazine dans le bassin versant de Sousson (Gers, France). Unité mixte Cemagref-ENGREF "Structure des systèmes spatiaux". 233.

Coquet, Y. and E. Barriuso. 2002. Spatial variability of pesticide adsorption within the topsoil of a small agricultural catchment. *Agronomie* 22:389-398.

Cornet A, (1964): Initiation à l'hydrogéologie Saharienne. Cours ronéoté destiné aux officiers du cours préparatoire aux Affaires Sahariennes. Service des études scientifiques. Birmandreis, Alger. 108 p.

Coudray J., Bouguerra M. L., 1994. Environnement en milieu tropical. *Actualité scientifique*, 195 p.

Cox, L., Koskinen, W.C. & Yen, P.Y. 1998. Changes in sorption of imidacloprid with incubation time. *Soil Science Society of America Journal*, 62, 342-347.

C.W. Thorstensen; O. Lode; O. M. Eklo; A. Christiansen. *J. Environmental Quality*. 30 (2001) 2046–2052.

Daoud Y. & Halitim A, *Irrigation et salinisation au Sahara Algérien. Sécheresse*. 5(3). pp151-160,1994.

Décret 65- 246 du 30 septembre 1965 et maintenue par la réforme administrative de 1974 ; ordonnance 74-69 du 02 juillet.

Dec J., Bollag J.-M. 1988. Microbial release and degradation of catechol and chlorophenols bound to synthetic humic acid. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52, 1366-1371.

DHANYA M.S., 2014- Advances in microbial biodegradation of chlorpyrifos, Centre for Environmental Science and Technology, Central University of Punjab, Bathinda, Punjab (INDIA). *Journal of Environmental Research And Development* Vol. 9 No. 01. p 235.

Directive 91/414/EC, CONSLEG: 1991L0414 — 01/01/2004, Office des publications officielles des Communautés européennes, 207pp.

Directive 98/8/CE du 16 février 1998, concernant la mise sur le marché des produits biocides, JOCE L123/1, 63 pp.

Directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. *Journal Officiel* n°L327, 22.12.2000, p.1

Devillers, J., Farret, R., Girardin, P., Rivière, J.L. et Soulas, G. (2005). Indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides, Lavoisier, Paris.

Dorobisz N., 2000, Transferts des produits phytosanitaires par ruissellement et réseau de drainage : La Jaillière 1993-1999, mémoire de DESS Ressources Naturelles et Environnement, Universités de Nancy et Metz, 37 p.

DPVCT ( Direction de Protection des Végétaux et du Contrôle Technique). 2011. Index des produits phytosanitaires à usage agricole. Alger, 204 p.

D.S.A, 2015. Direction des Services Agricoles Ouargla.

Dubief J, (1953) : Le climat du Sahara. *Mém. Inst, Rech, Saha*. Alger. Tome I, 298p.

Dutile D., 1971. Contribution à l'étude des sols et des palésols du sahara. Thèse DOC. Univ. Ouargla. 346p.

EEA (2003). Review of existing national soil monitoring systems – an update. Report of the European Topic centre on Terrestrial Environments, Copenhagen.

ERT G., 1978- Méthodes d'analyses des sols. Ed. C.R.D.P., Marseille, 191p.

FAO : Version novembre 2002

Faurie C., Erra C., Médorie P., Devane J., Remptime J.L. 2003. Ecologie, Scientifique. 5<sup>ème</sup> édition LAVOISIER. 823P.

Faostat, (2014). Algérie. URL: <http://faostat.fao.org>.

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

Flury M., 1996, Experimental evidence of transport of pesticides through field soils - a review, *Journal of Environmental Quality*, 25, p. 25- 45.

Fournier J-C, Soulas G., Pareth N., 1996 Main Microbial Mechanisms of pesticides Degradation in soil. In. *Ecotoxicology*, Cha. 4, CRC, Press Lewiss Publisher.

Fournier J., 1988. Chimie des pesticides. Technique et documentation-lavoisier. Paris. 344 p.

François Nsemi Muanda .2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat de l'université Paul Verlaine-metz, spécialité : chimie organique, p:116-118.

Fusi P., 1991. Adsorption et décomposition catalytique des pesticides sur les minéraux argileux. XXI Congrès du Groupe Français des Pesticides, Nancy 22-23 mai 1991. 31-44

Gaillardon, P. et Sabar, M. (1994). Changes in the concentration of isoproturon and its degradation products in soil and soil solution during incubation at two temperatures. *Weed Research*. 34: 243-251.

Galiulin R.V., Bashkin V.N., Galiulina R.A. & Kucharski R. (2002). Behavior of persistent organic pollutants in the airplant-soil system. *Water Air and Soil Pollution*, 37, 179-191

Gariido, F.A., Martinez, V.J.L., Lopez, T. et Cortes, A.S. (2004). Martinez Salvador I. *Journal of Chromatography*. 1048 : 199-206.

Garnier F. & DENIS F, Bactériologie médicale : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 .251, 254, 2007.

Gavrilescu, M. (2005). Fate of pesticides in the environment and in bioremediation. *Engineering in Life Sciences*. 5: 497-526.

Gil et Sinfort, 2005) Gavriescu, M. (2005). Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. *Engineering in Life Sciences*. 5: 497-526.

Gerard G, (1991) : Climatologie de l'environnement. Cours et exercices corrigés. INRA. Paris. 319 p.

Gerecke A.C., Scharer M., Singer H. P., Muller S.R., Schwarzenbach R.P., Sagesser M., Ochsenbein U., Popow G., 2002. Sources of pesticides in surface waters in Switzerland: pesticide load through waste water treatment plants-current situation and reduction potential. *Chemosphere*. 48(3): 307-315.

Gevao B, Jones K, Semple K, Craven A., Burauel P., 2003. Nonextractable pesticide residues in soil. *Environ. Sci. Technol.*, 37 : 138A-144A.

Gil, Y. et Sinfort, C. (2005). Emission of pesticides to air during sprayer application : A bibliographic review. *Atmospheric Environment*. 39: 5183-5193.

Goldsborough L.G. & Robinson, G.G.C. (1986). Changes in algal community structure as a consequence of short herbicide exposures. *Hydrobiologia*, 139, 177-192.

Gouy V., et Gril J. J., 2003- Diagnostic de la pollution diffuse par les produits phytosanitaires et sollection correctives. Communication- Groupe français des pesticides(GFP) : Transfert des produits phytosanitaires, diagnostic des pollution et solutions correctives. Lyon, France 15-17 mai 2001. Cemagref eddition BP22-92162 Antony cedex, France.

Gramatica, P., M. Corradi, and V. Consonni. 2000. Modelling and prediction of soil sorption coefficient of non-ionic organic pesticides by molecular descriptors. *Chemosphere* 41, no. 5:763-777.

Green, R. E. and S. W. Karickhoff. Estimating Pesticide Sorption Coefficient for Soils and Sediments. 1990. Washington DC, USDA Agriculture Research Service. ARS 80. of pesticide degradation on sorption: nonequilibrium model and application to soil reactor. *Journal of Contaminant*.

GREESHMA O, NAMASIVAYAM V., 2015- Biodegradation of endosulfan isomers and its metabolite endosulfate by two biosurfactant producing bacterial strains of *Bordetella petrii* : Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes. *Journal of environmental science and health* 2015 v.50 no.2 pp. 81-89.

Gurney S.E. & Robinson G.G.C. (1989). The influence of two triazine herbicides on the productivity, biomass, and community composition of freshwater marsh periphyton. *Aquatic Botany*, 36, 1-22.

Guo L., Nordmark C.E., Spurlock F.C., Johnson B.R., Li L., Marshall Lee J., Goh K.S., 2004: Characterizing dependence of pesticide load in surface water on precipitation and pesticide use for the Sacramento river watershed. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 3842-3852

Hamaker, J. W. and J. M. Thomson. 1972. Adsorption. In : *Organic chemicals in the soil environment-vol 1*, edited by Goring, C. A. J. and J. W. Hamaker (New York: Marcel Dekker).

Hamdi – aissa B. et Girard M.C.2000. utilisation de la télédétection en Régions Sahariennes, pour l'analyse et l'extrapolation spatiale des pédopaysages. *Sécheresse* 3: 179-188.

Hamdi Aissa, (2004)

Hamilton P.B., Jackson G.S., Kaushik N.K. & Solomon K.R. (1987). The impact of atrazine on lake periphyton communities, including carbon uptake dynamics using track autoradiography. *Environmental Pollution*, 46, 83-103.

Hamilton D.J., Ambrus A., Dieterle R.M., Jeslot A.S., Harris C.A., Holland P.T., Katayama A., Kurihara N., Linders J., Unsworth J. & Wong S.S. (2003). Regulatory limits for pesticide residues in water. *Pure and Applied Chemistry*, 75, 1123-1155.

Hercegovà A., dÖmÖtÖrova M., et Matisovà E. J., Chrom A., (2007). 1153 54-73.

Herman D., Kaushik N.K. & Solomon K.R. (1986). Impact of atrazine on periphyton in freshwater enclosures and some ecological consequences. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43, 1917-1925.

Hassett, J. J., W. L. Banwart, S. G. Wood, and J. C. Means. 1981. Sorption of a-naphtol: implication concerning the limit of hydrophobic sorption. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 45, no. 1:38-42.

Horne I., T. D. SUTHERLAND, R. L. HARCOURT, R. J. RUSSELL, & J. G. OAKESHOTT, Identification of an *opd* (organophosphate degradation) gene in an *Agrobacterium* isolate. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:3371–3376, 2013.

Horwat, R. S. 1972. Microbial co-metabolism and the degradation of organic compounds in nature. *Bacteriological Reviews* 36, no. 2:146-155.

Hu Q., X. Wang, and M. L. Brusseau. 1995. Quantitative structure-activity relationships for evaluating the influence of sorbate structure on sorption of organic compounds by soil. *Environ. Technol. Chem.* 14, no. 7:1133-1140.

Idder T., 1998. La dégradation de l'environnement urbain liée aux excédents hydriques au Sahara d'Algérie. Impact des rejets d'origine agricole et urbaine et techniques de remédiasions proposées. L'exemple d'Ouargla. Thèse de Doctorat. Université d'Angers UFR Sciences. Laboratoire des sciences de l'environnement et de l'aménagement, p 284.

Ineris, 2005. Détermination des pesticides à surveiller dans le compartiment aérien : approche par hiérarchisation. *Institut national de l'environnement industriel et des risques*. [http://www.ineris.fr/index.php?module=doc&action=getDoc&id\\_doc\\_object=2548](http://www.ineris.fr/index.php?module=doc&action=getDoc&id_doc_object=2548).

Ippolito A., Carolli M., Varolo E., Villa S., Vighi M., 2012. Evaluating pesticide effects on freshwater invertebrate communities in alpine environment: a model ecosystem experiment. *Ecotoxicology*. 21: 2051-2067.

Jensen P. K. S., Niels Henrik (2003). "Deposition of Pesticides on the Soil Surface." Danish Environmental Protection Agency Research no. 65: 59 pages.

Jilani S. and Khan M. A., 2004. Isolation, characterisation and growth response of pesticides degrading bacteria. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(1). Pp. 15-20.

JOFFIN J. N et LEYRAL G., 2006- Microbiologie technique, Tomel : Dictionnaire des techniques, 4 eme édition. Edition CRDP d'équitaire.P368.

Journal officiel de la république algérienne n°09 18 safar 1431 3 février2010.

Jury W.A., Focht D.D., Farmer W.J., 1987 - Evaluation of pesticide ground water pollution potential from standard indices of soil-chemical adsorption and biodegradation. *J. Environ. Qual.*, 16, 422-428.

Kah, M. et Brown, C.D. 2007. Prediction of the adsorption of ionizable pesticides in soils. *J Agric. Food Chem.*, 55, 2312-2322.

Kertesz Ma, Cook Am & Leisinger T, Microbial metabolism of sulfur and phosphorus-containing xenobiotics. *FEMS Microbiol. Rev.* 15: 195–215, 1994.

Khadhraoui A., 2007. Sols et hydraulique agricole dans les oasis algériennes. Caractérisation, contraintes et propositions d'aménagement, p 317.

K.M. Mousaoui ; R. Boussahel ; Y. Tchoulak ; O. Haouchine ; M. Benmami ; N. Delachi, école nationale polytechnique, Alger-2001 Service statistique, douane Algérienne 2010.

Kolpin D. W., Barbach J. E., Gillium R. J., (1998)- Occurrence of pesticides in shallow groundwater of the united states : Initial results from the national water-Quality of assessment Progr. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 558-566.

Koiv V., Marits R., Heinaru A. 1996. Sequence analysis of the 2,4-dichlorophenol hydroxylase gene *tfdB* and 3,5-dichlorocatechol 1,2 dioxygenase gene *tfdC* of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degrading plasmid pEST4011. *Gene*, 174 : 293-297.

Komboudry n., 1984. Etude de l'importance du parasitisme et des associations de produits insecticides en culture cotonnière.77 p.

Koskinen, W.C., Cox, L. & Yen, P.Y. 2001. Changes in sorption/bioavailability of imidacloprid metabolites in soil with incubation time. *Biology and Fertility of Soils*, 33, 546-550.

Kreuger, J. and H. Kylin, 2006 - Atmospheric transport and deposition of pesticides in Sweden. In: w. a. a. Pesticide behaviour in soils (Ed.), University of Warwick, UK.

Kreuger, J., M. Peterson and E. Lundgren, 1999. Agricultural inputs of pesticides residues to stream, pond sediments in a small catchment in Southern Sweden. *B. Environ. Contam. Toxicol.*, 62: 55-62

Kucharski, M. and Sadowski, J. (2009) Influence of adjuvants on behavior of phenmedipham in plant and soil environment. *Pol. J. Agron.* 1: 32–36.

Kucharski, M., Sadowski, J., Wujek, B., and Trajdos, J. (2011) Influence of adjuvants addition on lenacil residues in plant and soil. *Pol J Agron* 5: 39–49.

Lavelle, P. and A. V. Spain, 2001 - Soil Ecology, Kluwer academic publishers, Dordrecht, Netherlands.

Lavelle, P., C. Rouland, M. Diouf, F. Binet and A. Kersante, 2005 - Regulation of microbial activities in functional domains of roots and invertebrates. In: F. Buscot and A. Varma (Eds.), *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*, Vol. 3, Springer-Verlag, Berlin, pp. 291-305.

Larson, R. A. and E. J. Weber. 1994. Reaction mechanisms in environmental organic chemistry. Edited by . London, Tokyo: Lewis Publishers.

L.Clausen; Flarsen; H.Jalbrechtsen, J., 2004.*Environmental Science and Technology*. 38.4510-4518

Lecomte V., 1999. Transfert de produits phytosanitaires par le ruissellement et l'érosion de la parcelle au bassin versant. Thèse de l'ENGREF, Spécialité Science de l'eau, 212 p.

Lecomte P, Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. Édition Lavoisier, TEC & DOC, p. 198,1995.

Lehmann, R.G., Miller, J.R. & Laskowski, D.A. 1990. Fate of fluroxypyr: II. Desorption as a function of incubation time. *Weed Research*, 30,383-388.

Lennartz M., Louchart X., Voltz M., Andrieux P. (1997). Diuron and simazine losses to runoff water in mediterranean vineyards as related to agricultural practices. *Journal of Environmental Quality*, 26, 6, 1493-1502.

Leonard R. A., 1990a, Movement of pesticides into surface waters, in *Pesticides in the Soil Environment*, Cheng H.H. (ed.), Madison, p.303-349.

Leonard, R.A., 1990b - Movement of pesticides into surface waters. p. 303-350. In H. H. Cheng (ed.)- Pesticides in the soil environment: processes, impacts, and modeling. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin USA.

Levine S.G. 1990 - Identification of Unknowns by Melting Point and Thin-Layer Chromatography in Combination - J. Chem. Ed., 67, p. 972.

Louchar X., Voltz M., Andrieux V., Moussa R.,( 2001)- Herbicides transport to surface waters at field and watershed scales in mediterranean vineyard area. J. Environ Qual., 30, 982-991.

Lopez B. C., Gomez A.S., Rey G.M., Cancho GB., Simal GJ.2005. Détermination of carbonates and organophosphorus pesticides by SDME-GC in natural water, analytical and bioanalytical chemistry. Vol 383. (4): 557-561.

Luiz, V., Grossi, R., de Toledo Alves, P.A., Janice, E., and Henrique, S. (2013) Pesticide Tank Mixes: An Environmental Point of View. In, Price,A. (ed), Herbicides - Current Research and Case Studies in Use. InTech.

Mallick, B. K., A. Banerji, N. A. Shakil, & N. N. Sethunathan, Bacterial degradation of chlorpyrifos in pure culture and in soil. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 62:48–55, 1999.

Marcheterre, L., Choudhry, G., and Webster, G., 1988. Environmental Photochemistry of Herbicides. *Reviews of Environmental Contaminations and Toxicology*. 103(61-126.

Mast M.A., Campbell D.H., Ingersoll G.P., Foreman W.T. & Krabbenhoft D.P. (2003). Atmospheric deposition of nutrients, pesticides, and mercury in Rocky Mountain National Park, Colorado, 2002. US Department of the Interior, U.S. Geological Survey Water-Resources Investigations Report 03-4241.

Mansour, M., Schramm, K.W. et Kettrup, A. (1999). Determination of transformation products of agrochemicals in water and soil. Human and Environmental Exposure to Xenobiotics. 1:395-403.

Maya, K., Singh, R. S., Upadhyay, S. N., & Dubey, S. K, Kinetic analysis reveals bacterial efficacy for biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolyzing metabolite TCP. Process Biochem. 46(11), 2130-2136, 2011.

Meyer A., Chrisman J., Costa Moreira J., Koifman S., (2003). Environ. Res.,93: P: 264-271. Morère J.L. et Pujol R., 2003. Dictionnaire raisonné de biologie, éditions Frison Roche, Paris.

Mirsal, I. A., 2004 - Soil pollution. Origin, monitoring and remediation, Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Mohamed, A.M., M.A. El-Emam, G.Y. Osman, H. Abdel-Hamid and R.E. Ali, 2012. Effect of basudin, selecron and the phytoalkaloid colchicine (pesticides) on biological and molecular parameters of *Biomphalaria alexandrina* snails. *Pesticide Biochem. Physiol.*, 102: 68-78

Monod T, (1992) : du désert. Sécheresse. N°1.vol 3, pp 9-13.

Monod G. (1997). L'induction du cytochrome P4501A1. In : Lagadic L., Caquet Th., Amiard J.-C. & Ramade F. (Eds.), *Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects fondamentaux*. Masson, Paris, 33-51.

Mulbry W. W., J. S. Karns, P. C. Kearney, J. O. Nelson, C. S. Mcdaniel, & J. R. Wild, Identification of a plasmid-borne parathion hydrolase gene from *Flavobacterium* sp. by Southern hybridization with opd from *Pseudomonas diminuta*. *Appl. Environ. Microbiol.* 51:926–930, 1986.

Mullin, C.A., Chen, J., Fine, J.D., Frazier, M.T., and Frazier, J.L. (2015) The formulation makes the honey bee poison. *Pestic. Biochem. Physiol.* 120: 27–35.

Murphy K.J. & Barrett P.R.F. (1990). Chemical control of aquatic weeds. In : Pieterse A.H. & Murphy K.J. (Eds.), *Aquatic Weeds, the Ecology and Management of Nuisance Aquatic Vegetations*. Oxford University Press, Oxford, UK, 136-173.

Nemeth-Kanda., Fuleky G., Morovjan Gy., Cookan P., (2002)- Sorption behaviour of acetochlor, atrazine, carbendazin, diazinon, imidacloride and isoproturon on hungarian agricultural soil, *Chemosphere*, 48, 542-552.

Neumann M., Liess M., Schulz R., 2003. A qualitative sampling method for monitoring water quality in temporary channels or point sources and its application to pesticide contamination. *Chemosphere*. 51(6): 509-513.

Nobels, I., Spanoghe, P., Haesaert, G., Robbens, J., and Blust, R. (2011) Toxicity ranking and toxic mode of action evaluation of commonly used agricultural adjuvants on the basis of bacterial gene expression profiles. *Plos One* 6: e24139

Oerke, E., AND Dehne, H., 1997. Global crop production and the efficacy of crop production current situation and futures trends. *European Journal of Plant Pathology*. 103(203-215).

Ozenda P, (1977) : Flore du Sahara. 2<sup>ème</sup> Edition, Ed. C.N.R.S. France. 622p

Ozenda P, (1991) : Flore et végétation du Sahara. 3<sup>ème</sup> Edition, Ed. C.N.R.S. France. 662p.

Pal D., Weber J.P., Over Cash M.R., 1980-Fate of polychlorinated biphenyls (PCBs) in soil plant systems. In *residus Reviews*, F.A.Gunther, J.D.Gunther, E.D.Spring-verlag, Berlin, 45-98

PAN africa, 2003. *Les pesticides au Sénégal*. 2ème édition. Pp 16-21.

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

Peyron G. *Cultiver le palmier dattier*. Ed. Cirad, Montpellier. (2000), 109 p.

Pimentel D., 1995. Amount of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. In: Clavet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P., Coquet Y. (Eds). *Les pesticides dans le sol conséquences agronomiques et environnementales*. France Agricole. Paris.

Prové P., Ambrosi D., Barralis G., Cluzeau-Moulay S., Coutin R, Faivre-Amiot A., Muller B., DE LA Rocque B., 2007. *Répertoire terminologique en protection des plantes*. 5e édition. AFP-CEB (association française de protection des plantes, commission des essais biologique). Alfortville ( France), 94 p.

Prosser, J. I., 2002 - Molecular and functional diversity in soil micro-organisms. *Plant and Soil*. 244, 9-17.

Rani, M. S., Devi, K. V. L. P. S., Madhuri, R. J., Aruna, S., Jyothi, K., Narasimha, G., & Venkateswarlu, K. Isolation and characterization of a chlorpyrifos-degrading bacterium from agricultural soil and its growth response. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2(2), 26-31, 2008.

Raupach, M.R., Briggs, P.R., Ahmad, N. and Edge, V.E., 2001. Endosulfan transport II : Modelling airborne dispersal and deposition by spray and vapour. *Journal of Environmental Quality*, 30(3): 729-740.

Remde, A. et Traunspurger, W. (1994). A method to assess the toxicity of pollutants on anaerobic microbial degradation activity in sediments. *Environmental Toxicology and Water Quality*. 9: 293-298.

Ristori G.G., P. Fusi, 1995. Adsorption mechanisms and abiotic catalytic transformations of some agrochemicals by clay minerals. In : *Environmental Impact of soil component interactions*, volume 1 : natural and anthropogenic organics. CRCP Inc., 337-343

Raoul C., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P. & Coquet Y, 2005- *Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales*. Editions France agricole, Paris, ISBN n° 2-85557-119-7, 2005.

- Richnis R., I. Kaneva A. Mulchandani, And W. Chen., 1997- Biodegradation of organophosphorus pesticides using surface-expressed organophosphorus hydrolase. *Nat. Biotechnol.* 15:984–987.
- Rodríguez-Cruz, M.S., Sánchez-Martín, M.J., Andrades, M.S., and Sánchez-Camazano, M. (2007) Retention of pesticides in soil columns modified in situ and ex situ with a cationic surfactant. *Sci. Total Environ.* 378: 104–108.
- Rouvillois - Brigole M., 1975. Le pays de ouargla (Sahara algerien) variation et organization. Pub. Univ.Sorbonne, Paris, 361 p.
- Rung, J., Adaptation et mise en application de la banque de données SIGMA Pro sur les pesticides par actualisation des informations et élargissement aux pesticides à usage non agricole. 2003, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux: Gembloux (Belgique).
- Russo, J. and L. Lagadic, 2004. Effects of environmental concentrations of atrazine on hemocyte density and phagocyte activity in the pond snail *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda, Pulmonata). *Environ. Poll.*, 127: 303-311
- Sabaou N., Hacène H., Bennadji A., Bennadji H., et Bounaga N., (1992). Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne. *Can. J. Microbiol.*, 38, P: 1066-1073.
- Sabine stachowski-haberkorn 2008. Méthodes d'évaluation de l'impact de pesticides sur le phytoplancton marin et le naissain d'huître creuse. Thèse de doctorat Université de Bretagne Occidentale.
- Savado W.P., Traore O., Topan M., Tapsoba K.H., Sedogo P.M. et R.Celis; L.Cox; M. C. Hermosin; J.Cornejo. *J environmental quality* 26 (1997) 472-479.
- Savado W.P., Traore O., TOPAN M., Tapsoba K.H., Sedogo P.M. et Bonzi-coulibal Y L.Y., 2006. Variation de la teneur en résidus de pesticides dans les sols de la zone cotonnière du Burkina Faso. Article publié dans le *Journal Africain des Sciences de l'Environnement*. Numéro 1,29-39. Pp 29-39.
- Saxena A. R. Bartha, 1983. Microbial mineralization of humic acid-3,4- dichloroaniline complexes. *Soil Biol. Biochem.*, 15, 59-62
- Serdar, C. M., D. T. Gibson, D. M. Munnecke, & J. H. Lancaster, Plasmid involvement in parathion hydrolysis by *Pseudomonas diminuta*. *Appl. Environ. Microbiol*, 44:246–249, 1982.
- Sethunathan, N. N., & T. Yoshida, A *Flavobacterium* that degrades diazinon and parathion. *Can. J. Microbiol*, 19:873–875, 1993.

Scheunert I., H. Parlar., 1992- Fate of pesticides in plant and in soil fauna. In : Terrestrial behavior of pesticides. Springer-Verlag Ed., 77-103

Schiavon M., Perrin-Ganier C., Portal J. M., 1995, La pollution de l'eau par les produits phytosanitaires : état et origine, *Agronomie*, 15, p. 157-170.

Schiavon M., Jacquin F., 1973. Studies on the migration of two triazines as influenced by precipitation. *Symposium on Herbicides and the Soil*. 80-90.

Schieweck, A., Delius, W., Siwinski, N., Vogtenath, W., Genning, C. et Salthammer, T. (2007). Occurrence of organic and inorganic biocides in the museum environment. *Atmospheric Environment*. 41: 3266-3275.

Schulz, R., 2001. Rainfall-induced sediment and pesticide input from orchards into the Lourens River, Western Cape, South Africa: importance of a single event. *Water Res.* 35(8); 1869-1876.

Schulz, R., 2004. Field studies on exposure, effects, and risk mitigation of aquatic non-pointsource insecticide pollution: a review. *J Environ Qual*. 33(2); 419-448.

Semal J., Fraselle J., Impens R., Kummert J., Lepoivre P., Meulimans M., SEILLEUR P., Vendrevenen J. ET Viseur J., 1993. *Traite de pathologie végétale*. Presse agronomique de Gembloux. 575 p.

Senesi N., 1993. Organic pollutant migration in soils as affected by soil organic matter : molecular and mechanistic aspects. *NATO ASI Series*, 32, 47-74

SERDAR, C. M., D. T. GIBSON, D. M. MUNNECKE, AND J. H. LANCASTER., 1982. Plasmid involvement in parathion hydrolysis by *Pseudomonas diminuta*. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:246–249.

Si, Y., Takagi, K., Iwasaki, A., and Zhou, D. (2009) Adsorption, desorption and dissipation of metolachlor in surface and subsurface soils. *Pest Manag. Sci.* **65**: 956–962.

Singh, B. K., Walker, A., Morgan, J. A. W., & Wright, D, Effects of soil pH on the biodegradation of chlorpyrifos and isolation of a chlorpyrifos-degrading bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(9), 5198-5206, 2003.

Smith T.M. & Stratton G.W. (1986). Synthetic pyrethroids and nontarget organisms. *Residue Reviews*, 97, 93-120

Singleton P., 1999- *Bactériologie*, Edition Duonod 4ème édition Paris. P.415.

Soulas G., 1991. La biodégradation des pesticides dans le sol. XXI Congrès du GFP, 22-23 mai 1991, Nancy. 120-137

Soulas G.,1985- La dégradation des pesticides dans le sol, Aspects microbiens et cinétiques, science du sol (France). pp 48,49, 1985.

Soulas G., 1993. Evidence for the existence of different physiological groups in the microbial community responsible for 2,4-D mineralization in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 25, 443-449.

Stewart p, (1969) : Quotient pluviothermique et la dégradation de la biosphère. *Bull. Soc. Hist. Nat. Agro*, pp24- 25.

Stewart (1979), le bioclimat méditerranéen : Analyses des formes climatiques par le système d'emberger, *Vegetatio*, Vol.34, ,pp 87-103.

Stok et Rice, 1994.*Chromatographic methods*. 3<sup>ème</sup> édition, Paris, 66 p.

Strandberg B., Pedersen M.B. & Elmegaard N. (2005). Weed and arthropod populations in conventional and genetically modified herbicide tolerant fodder beet fields. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 105, 243-253.

Tal A., B. Rubin, J. Katan, N. Aharonson, 1989. Fate of <sup>14</sup>C-EPTC in soil exhibiting accelerated degradation of carbomothioate herbicides and its control. *Weed Sci.*, 37, 434-439

Thorstensen, C.W., Lode, O., Eklo, M. et Christiansen, A. 2001. Sorption of Bentazone, Dichlorprop, MCPA, and Propiconazole in reference soils from Norway. *J. Environ. Qual.*, 30, 2046-2052. Tixier, C., Sancelme, M., Ait-Aissa, S., Widehem, P., Bonnemoy, F., Cuer, A., Truffaut, N. et Veschamber, H. (2002). Biotransformation of phenylurea herbicides by a soil bacterial strain, *Arthobacter* sp. N2 : structure, ecotoxicity and fate of diuron metabolite with soil fungi. *Chemosphere*. 46: 519-526.

Tixier, C., Sancelme, M., Ait-Aissa, S., Widehem, P., Bonnemoy, F., Cuer, A., Truffaut, N. et Veschamber, H. (2002). Biotransformation of phenylurea herbicides by a soil bacterial strain, *Arthobacter* sp. N2 : structure, ecotoxicity and fate of diuron metabolite with soil fungi. *Chemosphere*. 46: 519-526.

Tomlin, C.D.S., (Ed.) 2003. *The Pesticide Manual: A World Compendium*. Alton, Hampshire, British Crop Protection Council, 1344 pp.

TOPP,E.; ZHU, H.;NOUR, s.m.; HOUOST, S.; LEWIS,M. and CUPPELS, D.,2000- Characterisation of an Atrazine Degrading Pseudaminobacter sp. isolated from Canadian and French soil. *Applied Environ. Microbial*, 66(7): 2773-2782.

Tunkel, J., P. H. Howard, R. S. Boethling, W. Stiteler, and H. Loonen. 2000. Predicting ready biodegradability in the Japanese ministry of international trade and industry test. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19, no. 10:2478-2485.

UIPP, (2009). Rapport d'activité <http://www.uipp.org/var/uipp/storage/original/application/c501ecdf65f1-fa5c7669dbf212580.pdf>.

UIPP, (2011). L'utilité des produits phytopharmaceutiques. Union des industries de la protection des plantes P: 6.

Van Bol, V., P. Debongnie, and L. Pussemier, Approche géographique, in Development of awareness tools for sustainable use of pesticides. 2003, UCL, UGent, CERVA/CODA: Louvain-la-Neuve, Belgium. Annex I (1 - 9).

Van Den Berg F., Kubiak R., Benjey W.G., Majewski M.S., Yates S.R., Reeves G.L., Smelt J.H., Van der Linden A.M.A (1999). "Emission of the pesticides into the air." *Water Air and Soil Pollution* 115: 195-218.

Waid J.S. 1972. The possible importance of transfer factors in the bacterial degradation of herbicides in natural ecosystems. *Residues Rev.*, 44 : 65-71.

Wang, A. A., A. Mulchandani, & W. CHEN, Specific adhesion to cellulose and hydrolysis of organophosphate nerve agents by a genetically engineered *Escherichia coli* strain with a surface-expressed cellulose-binding domain and organophosphorus hydrolase. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1684–1689, 2002.

Walker W., 1978- Insecticide persistence in natural seawater as affected by salinity, temperature, and sterility. Environmental research laboratory office of research and development U.S. environmental protection agency gulf breeze. Florida 32561. pp 14,15.

Weber, J. B., G. G. Wilkerson, and C. F. Reinhardt. 2004. Calculating pesticide sorption coefficient (Kd) using selected soil properties. *Chemosphere* 55, no. 2:157-166.

Who, (1992). «Our Planet, Our Health; Report of the WHO Commission on Health and Environment, » WHO, Geneva, Switzerland.

Wolfe, N., Mingelgrin, U., AND Miller, G., 1990. Abiotic transformations in water, sediments and soils. Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA.

Worthing C.R., Hance R.J. (2000). *Electronic Pesticide Manual*, eleventh edition, British Crop Protection Council. London

Wu, X., Long, Y., Li, J., Li, R., Liu, R., and Li, M. (2015) Degradation of metolachlor in tobacco field soil. *Soil Sediment Contam.* 24: 398–410.

Xiang, Y.; Liu Y. and Lee M.L., 2006. Ultrahigh pressure liquid chromatography using elevated temperature. *Journal of Chromatography*.

Xing, B., W. B. McGill, and M. J. Dudas. 1994. Cross-correlation of polarity curves to predict partition coefficient of nonionic organic contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 28, no.11:1929-1933.

Yates, S.R., Gan, J., Papiernik, S.K., Dungan, R. and Wang, D., 2002. Reducing fumigant emissions after soil application. *Phytopathology*, 92: 1344-1348.

Yaron, B., R. Calvet and R. Prost, 1996 - Soil pollution, Processes and dynamics, Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Zhao L., WANG F. & ZHAO J, Identification and functional characteristics of chlorpyrifos-degrading and plant growth promoting bacterium *Acinetobacter calcoaceticus*, *J. Bas. Microbiol*, DOI : 10.1002 /jobm.201200639, 2013.

Zeljezic, D., Garaj-Vrhovac, V., and Perkovic, P., 2006. Evaluation of DNA damage induced by atrazine and atrazine-based herbicide in human lymphocytes *in vitro* using a comet and DNA diffusion assay. *Toxicology in vitro*, vol. 20(6): 923-935.

Zemolin, C.R., Avila, L.A., Cassol, G.V., Massey, J.H., and Camargo, E.R. (2014) Environmental fate of S-Metolachlor: a review. *Planta Daninha* 32: 655–664

# *Annexes*

# Annexes 01 : Chapitre 1

Fiche D'enquête

Diagnostic sur l'impact de quelques pesticides sur les sols agricoles dans la wilaya de Ouargla

Madame, Monsieur

*Dans le cadre de la préparation d'un travail de recherche et afin de collecter les informations relatives à l'utilisation des pesticides destinés pour la lutte contre les différents ravageurs dans la région de Ouargla. Veuillez madame/monsieur, de bien vouloir répondre à ce questionnaire.*

Date:.././2016

N° de l'enquête:.....

1- Identification De L'exploitant Et De L'exploitation.

Nom et prénom.....niveau d'instruction.....age.....

Lieu de résidence.....taille d'aménagement.....

Nombre de:.....serres:.....parcelles:.....

2- Fonctionnement de l'exploitation :

	Sous serre	Plein champ
Date de labour		
Culture avant installation		

Age		
Disinfection Type Dose mode		
Fertilisation Type Origine Dose		
Irrigation Origine de l'eau Type Nature Le tour		
Le Materiel Personnel ou nature : Nettoyage : Echange de materiel :		

### 3- Caracteristiques de la culture :

	Sous serre	Plein champs
Cultures en place (variétés)		
Pépiniere (personnel ou autre)		
Terreau		
Les plants en pot ou planches sur sol		
Précédant cultural (variétés)		

4- Saison précédente ( Etat Phytosanitaire ) :

Culture	Symptomes	Identification	Traitement	Efficacité

Brise vent.....type.....

Drainage.....naturel.....artificiel.....

5- Malherbologie

5-1- Désherbage: Manuel.....Chimique.....

Espèces	Herbicides	Dose	
		Reelle	Appliquée

5-2- Espèces Répandues:

Espèces de mauvaises herbes	cultures	Sous serre	Plein champ

6- Ennemis animaux :

espèces	Sous serre	Plein champ	traitement	Dose

Utilisez-vous des pesticides dans vos cultures? Oui .....Non.....

Si oui, citez- les plus fréquemment utilisés pour les différentes cultures:

cultures	surfaces	Pesticides utilisés	Doses d'utilisation	Surfaces traitées	Nombre de fois/saison

7- Parmi les facteurs suivants, lequel détermine le choix des produits utilisés?

Prix.....,Dose d'emploi.....,Toxicité.....,Sélectivité.....,Produit Biologique.....

8- Quel (s) facteur (s) induisent les traitements que vous effectuez?

- Observation des maladies ou insectes sur les plantes ....
- Présence de plantules de mauvaises herbes....
- Présence de mauvaises herbes adultes, voire en fleurs....
- Conditions météo favorisant les maladies ou insectes.....
- Protection préventive.....

10-Quel est le type du matériel utilisé pour les traitements?

N°	Matériel	Capacité
01		
02		
03		

11-Autres observations.....

.....  
 .....  
 .....



**Photo 01:** Moyens de protection des agriculteurs (gans et vêtements).

## *Annexes 02: Chapitre 2*



**Photos 01:** Echantillonnages de sols des différentes cultures à différentes profondeurs



**Photo 02 :** Appareil de soxhlet, extraction des résidus de pesticides dans les sols échantillonnés

**Tableaux de comparaison des temps de rétention des extraits des sols de différentes cultures avec les temps de rétention des extraits des pesticides**

Tableau 1: Comparaison des temps de rétention des extraits des sols avec le temps de rétention de pesticide **Trimol (insecticide)**.

Rt des pesticides N°1	Rt de l'extrait de sol des CM 20cm	Rt de l'extrait de sol des CM 100cm	Rt de l'extrait de sol des CC 100cm	Rt de l'extrait de sol des oliviers 20cm	Rt de l'extrait de sol du PD 20cm
<b>Trimol (Insecticide)</b>					
6.471	6.122	6.588	6.621	6.550	6.509
7.239	6.286	6.766	7.685	6.756	6.748
<b>7.615</b>	6.676	7.549	8.469	7.025	6.999
8.544	7.438	7.798	9.317	7.532	7.542
8.939	7.884	8.435	9.916	7.792	7.803
9.842	8.547	9.049		8.398	8.408
	8.866	9.329		9.035	9.047
				9.340	9.375
				9.583	9.552
				9.887	

Tableau 2 : Comparaison des temps de rétention des extraits des sols avec le temps de rétention Rt du pesticide N°2 **Coragène 20SC** insecticide.

Rt du N°2 pesticide <b>co-ragène 20SC</b>	Rt de l'extrait de sol des CM 20cm	Rt de l'extrait de sol des CM 100cm	Rt de l'extrait de sol des CC 100cm	Rt de l'extrait de sol des oliviers 20cm	Rt de l'extrait de sol du PD 20cm
6.447	6.122	6.588	6.621	6.550	6.509
6.719	6.286	6.766	7.685	6.756	6.748
<b>7.808</b>	6.676	7.549	8.469	7.025	6.999
8.473	7.438	7.798	9.317	7.532	7.542
8.959	7.884	8.435	9.916	7.792	7.803
9.863	8.547	9.049		8.398	8.408
	8.866	9.329		9.035	9.047
				9.340	9.375
				9.583	9.552
				9.887	

Tableau 3 : Comparaison des temps de rétention des extraits des sols cultivés avec le temps de rétention Rt du pesticide N° 3 Pulsar 25EC insecticides.

<b>Rt du pesticide N° 3 Pulsar 25EC</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CC 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des oliviers 20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol du PD 20cm</b>
6.468	6.122	6.588	6.621	6.550	6.509
7.037	6.286	6.766	7.685	6.756	6.748
7.170	6.676	7.549	8.469	7.025	6.999
7.630	7.438	7.798	9.317	7.532	7.542
8.263	7.884	8.435	9.916	7.792	7.803
8.626	8.547	9.049		8.398	8.408
9.055	8.866	9.329		9.035	9.047
9.817				9.340	9.375
				9.583	9.552
				9.887	

Tableau 4 : Comparaison des temps de rétention des extraits des sols cultivés avec le temps de rétention Rt du pesticide N°4 Score<sup>r</sup> 250EC.

<b>Rt du pesticide N°4 Score<sup>r</sup> 250EC</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CC 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des oliviers 20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol du PD 20cm</b>
6.066	6.122	6.588	6.621	6.550	6.509
6.367	6.286	6.766	7.685	6.756	6.748
6.683	6.676	7.549	8.469	7.025	6.999
6.876	7.438	7.798	9.317	7.532	7.542
7.321	7.884	8.435	9.916	7.792	7.803
7.923	8.547	9.049		8.398	8.408
8.342	8.866	9.329		9.035	9.047
8.800				9.340	9.375
9.691				9.583	9.552
				9.887	

Tableau 5 : Comparaison des temps de rétention des extraits des sols cultivés avec le temps de rétention Rt du pesticide N°Prosaro(fongicide)

<b>Rt du pesticide N°5Prosaro</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CC 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des oliviers20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol du PD 20cm</b>
6.465	6.122	6.588	6.621	6.550	6.509
6.662	6.286	6.766	7.685	6.756	6.748
6.979	6.676	7.549	8.469	7.025	6.999
7.514	7.438	7.798	9.317	7.532	7.542
7.881	7.884	8.435	9.916	7.792	7.803
8.513	8.547	9.049		8.398	8.408
8.937	8.866	9.329		9.035	9.047
9.839				9.340	9.375
				9.583	9.552
				9.887	

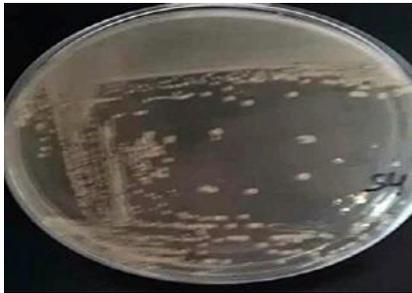
Tableau 6 : Comparaison des temps de rétention des extraits des sols cultivés avec le temps de rétention Rt du pesticide N°6 Cyperméthrine (insecticide).

<b>Rt du pesticide N°6 cyperméthrine</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CC 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des oliviers20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol du PD 20cm</b>
6.469	6.122	6.588	6.621	6.550	6.509
6.629	6.286	6.766	7.685	6.756	6.748
7.188	6.676	7.549	8.469	7.025	6.999
8.662	7.438	7.798	9.317	7.532	7.542
9.058	7.884	8.435	9.916	7.792	7.803
9.966	8.547	9.049		8.398	8.408
	8.866	9.329		9.035	9.047
				9.340	9.375
				9.583	9.552
				9.887	

Tableau 7 : Comparaison des temps de rétention des extraits des sols cultivés avec le temps de rétention Rt du pesticide N°7 Roundup (herbicide).

<b>Rt du pesticide N°7 Roundup</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CM 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des CC 100cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol des oliviers 20cm</b>	<b>Rt de l'extrait de sol du PD 20cm</b>
6.448	6.122	6.588	6.621	6.550	6.509
7.266	6.286	6.766	7.685	6.756	6.748
7.626	6.676	7.549	8.469	7.025	6.999
7.995	7.438	7.798	9.317	7.532	7.542
8.480	7.884	8.435	9.916	7.792	7.803
8.926	8.547	9.049		8.398	8.408
9.814	8.866	9.329		9.035	9.047
				9.340	9.375
				9.583	9.552
				9.887	

*Annexes 03: Chapitre 3*



S1



S2



S3



S4



S5



S6



S7

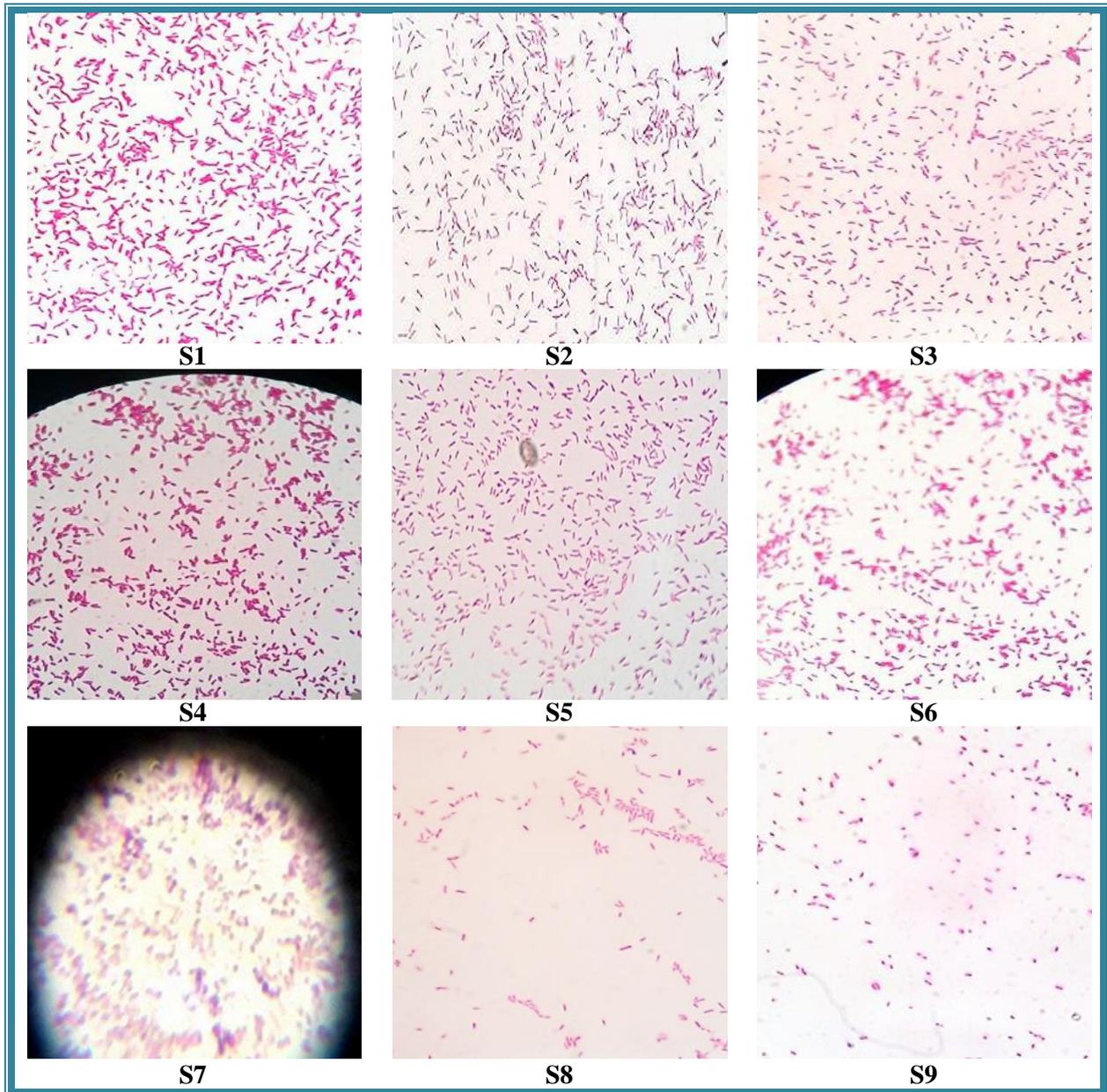


S8

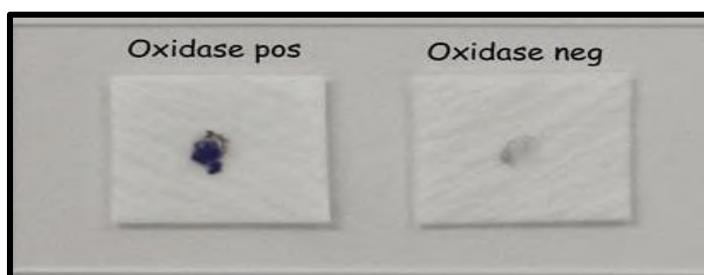


S9

**Photo 04** : Aspect macroscopique des colonies des bactéries



**Photo 01:** Résultats de la coloration gram des souches isolées (G X 100).



**Photo 06 :** Résultats du test oxydase

## *Annexe 03 : liste de matériels utilisés dans la partie expérimentale*

<b>Appareillage</b>
Microscope optique
Etuve
Four pasteur
Autoclave
pH mètre
Bain-marie
Spectrophotomètre
Compteur de colonies
Incubateur agitateur
Centrifugeuse réfrigérée
Réfrigérateur
Plaque chauffante
Bec bunsen
Vortex
Balance de précision

Annexe 03 : Echelle d'interprétation des analyses physicochimiques du sol

**Tab. 01: Echelle d'interprétation de pH extrait 1/5 (AUBERT, 1978).**

Valeur du pH	Classe
< 4,5	Extrêmement acide
4,5-5,0	Très fortement acide
5,1-5,5	Fortement acide
5,6-6,0	Moyennement acide
6,1-6,5	Légèrement acide
6,6-7,3	Neutre
7,4-7,8	légèrement alcalin
7,9-8,4	Moyennement alcalin
8,5-9,0	Fortement alcalin
>9,0	Très fortement alcalin

**Tableau 02: Echelle de salinité en fonction de la conductivité électrique de l'extrait 1/5 (AUBERT, 1978).**

CE (dS/m) à 25 °C	Degré de salinité
$\leq 0,6$	Sol non salé
$0,6 < CE < 1,2$	Sol peu salé
$1,2 < CE < 2,4$	Sol salé
$2,4 < CE < 6$	Sol très salé
$CE \geq 6$	Sol extrêmement salé

**Tableau 03: L'échelle d'interprétation de la teneur en matière organique (MO %) (MORAND, 2001).**

MO%	Nom de classe
0.5 à 1 %	Très faible en MO
1 à 2 %	Faible en MO
2 à 3 %	Moyenne (ou modérée) en MO
3 à 5 %	Elevée en MO
> à 5 %	Très élevée en MO

**DOSAGE DU CARBONE ORGANIQUE ET DE LA MATIERE ORGANIQUE**

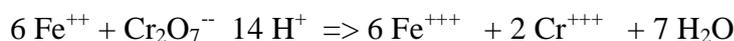
## (METHODE DE ANNEE)

Type d'analyse : Chimique

### 1 – PRINCIPE

Le carbone organique est oxydé par le bichromate de potassium en milieu sulfurique. Le bichromate doit être en excès, la quantité réduite est en principe proportionnelle à la teneur en carbone organique.  $2 \text{Cr}_2\text{O}_7^{--} + 3 \text{C} + 16 \text{H}^+ \Rightarrow 3\text{CO}_3 + 4 \text{Cr}^{+++} + 8 \text{H}_2\text{O}$

L'excès de bichromate de potassium est titré par une solution de sel de Mohr, en présence de diphénylamine dont la couleur passe du bleu foncé au bleu vert.



### 2 – PRODUITS ET SOLUTION

- Solution aqueuse de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  à 8 %.
- $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré pur.
- NaF en poudre ou en solution à 7,5 g/l.
- Solution de diphénylamine (0,500 g de diphénylamine dans 100 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pur + 20 ml d'eau distillée).
- Solution de Mohr à 0,2 N.

#### 3 – VERRERIE

- Ballon (150 ou 250 ml) à col rodé.
- Fioles de 100 ml.
- Bécher 400 ml.
- Pipettes de 10 et 20 ml.
- Epruvette de 200 ml.
- Burette graduée au 1/20 ml.

#### 4 – APPAREIL

- Chauffe ballon.
- Réfrigérant ascendant.
- Agitateur magnétique.
- Balance de précision.

### 5 – MODE OPERATOIRE

Le mode opératoire est destiné pour les sols pauvres en matière organique (la prise d'essai ne dépasse pas 30 mg de Carbone).

- Peser 0,250 g à 1 g de terre fine.
- Placer la prise d'essai dans un ballon en **verre pyrex** (150 ou 250 ml) à col rodé adaptable sur une colonne réfrigérante.
- Ajouter : 10 ml de solution aqueuse de bichromate de potassium à 8 %.

15 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré pur.

- Porter le ballon sur un chauffe ballon électrique, le raccorder au réfrigérant ascendant.
- obtenir une ébullition modérée. Poursuivre l'ébullition durant 5 minutes après la chute de la première goutte de condensation.
- Laisser refroidir lentement.
- *Si le contenu du ballon est passé durant l'ébullition à la couleur verte, il s'avère que l'excès de bichromate était insuffisant. Dans ce cas, recommencer en réduisant la prise d'essai de moitié.*
- Transvaser le contenu du ballon dans une fiole jaugée de 100 ml.
- Ajuster à 100 ml avec de l'eau de rinçage du ballon.
- Après refroidissement de la fiole, ajuster de nouveau à 100 ml autant de fois qu'il est nécessaire.
- Homogénéiser le contenu de la fiole qui doit être à une température voisine de 20 °C.
- Prélever à l'aide d'une pipette, 20 ml de contenu de la fiole, et les verser dans un bécher en verre ordinaire de 400 ml.
- Ajouter dans le bécher :
  - 200 ml d'eau distillée,
  - 3 à 4 gouttes de diphenylamine.
  - 1,5 g de NaF en poudre ou une quantité de la solution NaF (7,5 g /l) ou acide phosphorique.
- Placer le bécher sur un agitateur magnétique surmonté d'une burette graduée au 1/20 de ml.

Agiter, et doser l'excès de bichromate à l'aide d'une solution de Mohr à 0,2 N. au cours du titrage la solution passe successivement par les couleurs suivantes : brune noirâtre, violette, verte. Le virage se fait à la goutte.

## Annexe 03 : Composition chimique des milieux de culture et solutions utilisés

### 1. Gélose nutritive

<b>Ingredients</b>	<b>Quantité</b>
Extrait de viande	1 g
Extrait de levure	2 g
Peptone	5 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Eau distillée 1000ml	1000

pH=7.4

## 2. Bouillon nutritif

<b>Ingredients</b>	<b>Quantité</b>
Tryptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Peptone	5 g
Chlorure de sodium	5 g
pH=7.2	

## 3. L'eau physiologique

<b>Ingredients</b>	<b>Quantité</b>
Chlorure de sodium	9 g
Eau distillée	1000

## Milieu minimum

<b>Ingrédient</b>	<b>Quantité</b>
FeSO <sub>7</sub> H <sub>2</sub> O	0,013 g/l
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,013 g/l
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,25 g/l
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	7,5 g/l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5 g/l
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	5 g/l
Extrait de levure	0,6 g/l
Agar	15g

pH = 7

## 4. Milieu TSI ( triple sugar iron)

<b>Ingredients</b>	<b>Quantité</b>
Peptones de caséine	15 g
Peptones de viande	5 g
Extrait de viande	3 g
Peptones de levure	3 g
NaCl	5 g
Lactose	10 g
Saccharose	10 g
Glucose	1 g
Citrate ammoniacal de fer (III)	0,5 g
Thiosulfate de sodium	0,5 g
Rouge de phénol	0,024 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml
ph=7,4±0,2	

Réactifs et solutions :

- Eau physiologique stérile
- Violet de Gentiane
- Lugol
- Alcool 90°C
- Fushine basique
- Eau distillée
- l'eau oxygénée 10 volume
- HCl et NaOH
- Huile de paraffine
- Disques d'oxydases
- chlorpyrifos éthyle
- Réactifs de Kovacs
- Réactif de TDA
- Réactif VP 1 et VP 2
- Nitrate 1 et nitrate 2

## *Annexe 04 : Le principe de quelques techniques utilisées*

### **- Coloration de Gram**

D'après **SINGLETON (1999)**, la coloration de Gram s'effectue selon les étapes suivantes :

- Préparer et fixer un frottis bactérien à la chaleur du bec Bunsen.
- Recouvrir au violet de Gentiane pendant 1 minute. Eliminer l'excès par l'eau courante.
- Ajouter du Lugol : deux bains de 45 secondes, jeter l'excès par l'eau courante.
- Traiter a l'alcool 95° pendant 30 secondes, puis rinçage à l'eau.
- Recolorer à la Fushine pendant 1 à 2 minutes, rinçage à l'eau puis séchage.
- L'observation se fait en ajoutant de l'huile à immersion ; les bactéries Gram positif se colorent en violet alors que les Gram négatif se colorent en rose.

- **Etat frais**

-Déposer une goutte d'une culture en milieu liquide sur une lame de verre.

-Recouvrir la goutte d'une lamelle couvre objet (la culture ne doit pas déborder les contours de la lamelle).

-Luter la lame avec de la paraffine fondue.

-Observer immédiatement au microscope (objectifx40, condenseur non relevé au maximum, diaphragme non complètement ouvert).

**Annexe 0 3 : Résultats des galeries API 20E**



**Figure 01: Résultat de l'API 20 E pour la souche (S2).**



**Figure 02: Résultats de l'API 20 E pour la souche (S3).**



**Figure 03: Résultats de l'API 20 E pour la souche (S4).**



**Figure 04: Résultats de l'API 20 E pour la souche (S5).**



**Figure 05: Résultats de l'API 20 NE pour la souche (S6).**



**Figure 06: Résultat de l'API 20 E pour la souche (S7).**



**Figure 07: Résultat de l'API 20 E pour la souche (S8).**



**Figure 08: Résultats de l'API 20 E pour la souche (S9).**

**Annexe 6 : Etude de la cinétique de croissance des 9 souches pures isolées dans le chlorpyrifos éthyle par rapport au glucose**

Jours	Chlorpyrifos éthyle	Glucose
0 h	0,044	0,0067
24 h	0,04	0,069
48 h	0,333	0,354
72 h	0,336	0,349
96 h	0,352	0,35
120 h	0,354	0,52
<b>Souche 1</b>		

Jours	Chlorpyrifos éthyle	Glucose
0 h	0,05	0,041
24 h	0,023	0,205
48 h	0,297	0,225
72 h	0,259	0,171
96 h	0,304	0,192
120 h	0,31	0,198
<b>Souche 2</b>		

Jours	Chlorpyrifos éthyle	Glucose
0 h	0,037	0,071
24 h	0,04	0,201
48 h	0,37	0,357
72 h	0,383	0,345
96 h	0,404	0,348
120 h	0,42	0,359
<b>Souche 3</b>		

Jours	Chlorpyrifos éthyle	Glucose
0h	0,115	0,098
24h	0,124	0,113
48h	0,356	0,331
72h	0,344	0,326
96h	0,339	0,329
120h	0,351	0,335
<b>Souche 4</b>		

Jours	Chlorpyrifos éthyle	Glucose
0h	0,058	0,057
24h	0,175	0,06
48h	0,35	0,313
72h	0,329	0,317
96h	0,345	0,278
120h	0,351	0,28
<b>Souche 5</b>		

Jours	Chlorpyrifos éthyle	Glucose
0h	0,045	0,108
24h	0,068	0,228
48h	0,439	0,388
72h	0,408	0,396
96h	0,419	0,405
120h	0,426	0,413
<b>Souche 6</b>		

Jours	Chlorpyrifos éthyle	Glucose
0 h	0,133	0,011
24 h	0,143	0,021
48 h	0,361	0,381

Jours	Chlorpyrifos éthyle	Glucose
0 h	0,017	0,004
24 h	0,032	0,042
48 h	0,264	0,248
72 h	0,256	0,249
96 h	0,279	0,25
120 h	0,28	0,258
<b>Souche 7</b>		

72 h	0,334	0,361
96 h	0,347	0,375
120 h	0,356	0,381
<b>Souche 8</b>		

Jours	Chlorpyrifos éthyle	Glucose
0 h	0,127	0,082
24 h	0,202	0,011
48 h	0,338	0,355
72 h	0,281	0,386
96 h	0,324	0,341
120 h	0,348	0,347
<b>Souche 9</b>		