



République Algérienne Démocratique Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département Agro-écologie biotechnologie

Mémoire

Pour l'obtention de Diplôme
Master 2 en biotechnologie microbienne

Thème :

Effet de biodégradation de glyphosate par *Bacillus mycoides* sur les activités enzymatiques dans les sols de la plaine de Blida

Présenté par :

- HAFIS Fatma Zohra
- CHAIB Meriem

Devant le jury :

| | Nom et prénom | Grade | Structure |
|---------------------|----------------------|--------------|-----------------------|
| Présidente | Benkorteby H | M.A.A | Université de Blida 1 |
| Promotrice | Cheloufi R | M.C.B | Université de Blida 1 |
| Examinatrice | Yala A | Dr | Université de Blida 1 |

Soutenu le : 03/07/2022

Année universitaire : 2021-2022

Remerciement

Tout d'abord nous remercions Allah, le tout puissant de nous avoir donné la volonté,

Patience, la sante et la force pour survivre pour dépasser toutes les difficultés

Le présent travail est réalisé au laboratoire de PFE

*À l'Université BLIDA 1 sous la direction de **Madame Cheloufi R.M.C.B** à*

L'Université BLIDA 1, qui nous accordé beaucoup de son temps. Nous

Remercie pour sa disponibilité, son attention, son aide et les conseils qu'elle a apportés au

Cours de la préparation de ce mémoire.

*Nos sincères remerciements sont également adressés à **M.A.A Benkorteby***

L'Université Blida 1 d'avoir accepté de présider notre jury.

*Nous remercie vivement **Dr Yala A** à l'Université de Blida 1 d'avoir*

Bien voulu juger ce travail

Mes remerciements vont également à :

*À madame **Belarbi I.**, **Ingénieur de laboratoire PFE** l'Université Blida 1 pour ses*

Conseils, sa disponibilité, son encouragement et surtout sa bonne humeur.

*À madame **Nadjia** ingénieur de laboratoire de Chimie université de Blida 1 pour sa*

Disponibilité et pour ses conseils.

Enfin, merci à toute personne qui a pu, de près ou de loin, contribuer à L'accomplissement de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*À Mes chers parents **NADJIA** et **RABAH**, en hommage à tous les sacrifices que vous avez*

Consenti pour moi durant mes longues années d'étude.

Je vous remercie d'avoir fait de moi ce que je suis maintenant.

*A ma chère sœur **HADJER** et mes chers frères **Abdelmoumene** et **Mohamed**.*

*A mon binôme **CHAIB Meriem***

*A ma chère amie **AMIRA***

*A mon amie **Iftikher khelifa***

A ce qui vous rend plus intéressant,

A tout ma famille et mes amis

Je tien a remercié toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin au bon

Déroulement de cette mémoire

*A ma promotrice **Docteur Cheloufi** qui a bénéficié de son expérience.*

*A ma chère ancienne enseignant **Professeur krimi**.*

Fatma Zohra.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à

*A mon père **Saïd** et ma mère **Hayat**, mes chers parents, je vous remercie pour vos sacrifices, votre amour, soutien et vos prières accompagnées tout au long de mes études. Sans vous je ne suis pas là.*

*A mon cher binôme pour les plus beaux souvenirs que je garderai toute ma vie **FatmaZohra**.*

*A mon adorable amie **HAYET** qui était toujours avec moi.*

A tous ceux qui ne sont pas mentionnés dans ce modeste travail mais qui sont dans mon cœur.

A tout qui me connaisse de près ou de loï.

Meriem

Résumé

Effet de biodégradation des herbicides par *Bacillus mycooides* sur les activités enzymatiques dans les sols de la plaine de Blida

Parmi les techniques de bioremédiation, la bioaugmentation par l'introduction des bactéries capables d'améliorer la dépollution ou la détoxification des sols par les herbicides c'est -à -dire la métabolisation de ces polluants par des microorganismes. Le glyphosate est l'herbicide le plus utilisé dans le monde. En raison de sa toxicité pour les espèces non ciblées dans le sol (la faune et la flore), trouver des micro-organismes dégradent le glyphosate est un grand intérêt.

Pour cela, notre travail s'inscrit dans le contexte global qui concerne en particulier l'étude de l'impact de *Bacillus mycooides* sur les activités enzymatiques dans les sols de Boufarik traité par l'herbicide glyphosate. Pour l'étude des activités enzymatiques de sols, les échantillons expérimentaux utilisées « sol témoin », « sol + herbicide », « sol + bactérie », « sol + bactérie + herbicide » sont incubées pendant 39 jours à 30 C°.

L'impact négatif du glyphosate sur les activités enzymatiques dans le sol, s'explique par une diminution de quantité de ces activités. L'effet positif et favorable grâce à la biodégradation de l'herbicide dans le sol, ce qui traduit par une soit éliminé l'effet négatif des herbicides, ou du moins réduit son intensité grâce à l'action dégradante des *Bacillus mycooides* à l'égard de ces substances. Ce qui a entraîné une meilleure évolution et la production des activités enzymatiques dans le sol surtout le traitement Sol-Herbicide-Bactérie qui montre que la bactérie à dégrader le glyphosate et l'utiliser comme une source de carbone, soufre, azote et phosphore avec des grands valeurs tel que uréase à 10.26µg /g ss/h et amylase à 31.75µg /g ss/h.

Mots clés : biodégradation, bioaugmentation, glyphosate, *Bacillus mycooides* et activités enzymatiques.

Abstract

Effect of biodegradation of herbicides by *Bacillus mycoides* on enzymatic activities in the soils of the Blida plain

Among the techniques of bio-remediation, bio-augmentation, in such ways bacteria used to improve the depollution or detoxification of soils by herbicides, i.e. the metabolisation of these pollutants by microorganisms. Glyphosate is the most widely used herbicide in the world on the one hand. On the other hand, because of its toxicity to non-target species in the soil (fauna and flora), finding microorganisms that degrade glyphosate is of great interest.

For this reason, our work is part of this global context and concerns in particular the study of the impact of *Bacillus mycoides* on the enzymatic activities in the soils of Boufarik treated with the herbicide glyphosate. For the study of soil enzymatic activities, the experimental samples used « soil only », « soil + herbicide », « soil + bacteria »; « soil + bacteria + herbicide » incubated for 39 days at 30 C°.

The negative impact of glyphosate on the enzymatic activities in the soil explained by a decrease in the quantity of these activities. The positive and favorable effect due to the bioaugmentation of the herbicide in the soil. Which results in either eliminating the negative effect of the herbicides, or at least reducing its intensity due to the degrading action of *Bacillus mycoides* towards these substances. This resulted in a better evolution and production of enzymatic activities in the soil especially the Soil+ Herbicide+ Bacteria treatment that shows that the bacteria degraded the glyphosate and used it as a source of carbon, sulfur, nitrogen and phosphorus. With large values such as urease at 10.26µg /g ss/h and amylase at 31.75µg /g ss/h.

Key words: biodegradation, bioaugmentation, herbicide, *Bacillus mycoides* and soil enzyme activities.

ملخص

تأثير التحلل الحيوي لمبيدات الأعشاب بواسطة *Bacillus mycoides* على الأنشطة الأنزيمية في تربة سهل البليدة

من بين تقنيات المعالجة الحيوية ، الزيادة الحيوية عن طريق إدخال البكتيريا القادرة على تحسين إزالة التلوث أو إزالة السموم من التربة بمبيدات الأعشاب ، أي استقلاب هذه الملوثات بواسطة الكائنات الحية الدقيقة. الغليفوسات هو أكثر مبيدات الأعشاب استخدامًا في العالم. نظرًا لسميته للأصناف غير المستهدفة في التربة (الحيوانات والنباتات) ، فإن العثور على الكائنات الحية الدقيقة التي تعمل على تحلل الغليفوسات أمر ذو أهمية كبيرة.

لهذا ، فإن عملنا هو جزء من السياق العالمي الذي يتعلق بشكل خاص بدراسة تأثير *Bacillus mycoides* على الأنشطة الأنزيمية في تربة بوفاريك المعالجة بمبيد الأعشاب الغليفوسات. لدراسة الأنشطة الأنزيمية للتربة ، تم تحضير العينات التجريبية المستخدمة "تربة + مبيدات أعشاب" و "تربة + بكتيريا" و "تربة + بكتيريا + مبيدات أعشاب" لمدة 39 يومًا عند 30 درجة مئوية.

يفسر التأثير السلبي للغليفوسات على الأنشطة الأنزيمية في التربة من خلال انخفاض كمية هذه الأنشطة. التأثير الإيجابي والإيجابي بفضل التحلل البيولوجي لمبيدات الأعشاب في التربة ، والذي ينتج عنه إما القضاء على التأثير السلبي لمبيدات الأعشاب ، أو على الأقل تقليل شدته بفضل العمل المهيمن لـ *Bacillus mycoides* فيما يتعلق بهذه المواد. وقد أدى ذلك إلى تطور أفضل وإنتاج الأنشطة الأنزيمية في التربة ، وخاصة معالجة التربة ومبيدات الأعشاب والبكتيريا التي توضح أن البكتيريا تحلل الغليفوسات وتستخدمه كمصدر للكربون والكبريت والنيروجين و الفوسفور بقيم كبيرة. مثل اليورياز بقيمة 10.26 والأميلاز بقيمة 31.75 $\mu\text{g} / \text{g ss/h}$.

الكلمات المفتاحية : التحلل البيولوجي ، الزيادة الحيوية ، الغليفوسات ، *Bacillus mycoides* والأنشطة الأنزيمية.

Liste des tableaux :

Tableau. 1 : Les principales familles des herbicides avec des exemples

Tableau. 2 : Les microorganismes dégradant l'herbicide

Tableau. 3 : Caractéristiques des colonies de *Bacillus mycoides*

Tableau. 4 : Les aspects sous microscope de *Bacillus mycoides*

Tableau. 5 : Caractéristiques biochimiques de la *Bacillus mycoides*

Tableau. 6 : Définition et propriétés des enzymes des sols

Tableau. 7 : Caractéristiques des propriétés physico-chimiques du sol de Boufarik

Listes des figures :

Figure 1 : Résumé de la classification des herbicides(Pierre et al., 2020).

Figure 2 : Les colonies de la bactérie *Bacillus mycoides* (Carmen D et al., 2002).

Figure 3 : L'aspect microscopique de la souche *Bacillus mycoides* (James V, 2011).

Figure 4 :Structure chimique du glyphosate (Eric C, 2017).

Figure 5 : Les 4 traitement de l'experementation.

Figure 6 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur la production de l'amylase.

Figure 7 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur la production de xynalase.

Figure 8 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de cellulase.

Figure 9 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de glucosidase.

Figure 10 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de FDA.

Figure 11 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de l'uréase.

Figure12 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de N-acétylglucosaminase.

Figure 13 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de phosphatase acide.

Figure 14 :Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de phosphatase alcalin.

Liste des abréviations :

ACP= Phosphatase Acide

ALP=Phosphatase Alcalin

AMY= Amylase

C= Carbone

CEC = Capacité d'échange Cationique

CEL= Cellulase

FDA=La Fluorescéine Diacétate

GLU= β -glucosidase

K= Potassium

Mg= Magnésium

N= Azote

Na = Sodium

NAG= N-acétylglucosaminase

P = Phosphore

PIM = Périmètre Irrigable de Mitidja

SB =Sol + Bactérie (*Bacillus mycoides*)

SH =Sol + Herbicide (glyphosate)

SHB =Sol + Herbicide + Bactérie

ST = Sol Témoin

T°= Température

URA=L'uréase

XYL= Xynalase

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste d'abréviation

Introduction général.....1

Première partie : Synthèse bibliographique

I. Le sol

I.1. Définition4

I.2. Formation de sol4

I.3. Composition de sol.....4

I.4. Caractéristiques et types de sol4

II. Les herbicides

II.1. Définition.....5

II.2. Composition et formulation des herbicides.....5

II.3. Classification des herbicides.....6

II.4. Modes d'action des herbicides.....7

II.4.1. herbicides à pénétration racinaire.....7

II.4.2. herbicides à pénétration foliaire.....7

II.4.3. herbicides de contact.....7

II.4.4. herbicides systémiques.....7

II.5. Principales familles d'herbicide.....7

II.6. Effet nocif des herbicides.....7

III. La Bio remédiation

III.1. Définition.....8

III.1.1. La Bioremédiation.....8

III.1.2. Biodégradation.....8

| | |
|--|----|
| III.1.3. Bioaugmentation..... | 8 |
| III.2. Les principales bactéries dégradantes les herbicides..... | 8 |
| IV. Bactérie <i>Bacillus mycoides</i> | |
| IV .1.Les caractéristiques morphologiques..... | 9 |
| IV.2. Taxonomie..... | 10 |
| IV.3. Aspect macroscopiques des colonies..... | 10 |
| IV.4. Aspect microscopiques de la bactérie..... | 10 |
| IV .5. Les caractéristiques biochimiques..... | 11 |
| IV .6. Les caractéristiques génétiques..... | 11 |
| V. Les activités enzymatiques dans le sol | |
| V.1. Les enzymes de sol..... | 12 |
| V.2. Effet des herbicides sur les activités enzymatiques..... | 13 |
| V.3. Amélioration des activités enzymatiques du sol par les microorganismes..... | 14 |
| V.4. Dégradation du glyphosate | 14 |
| V.5. Voies de dégradations du glyphosate..... | 14 |
| Deuxième partie : Matériels et méthodes | |
| I .Matériels : | |
| I.1. Sol..... | 17 |
| I.1.1. Prélèvement et traitement des échantillons..... | 17 |
| I.2. Bactérie..... | 17 |
| I.3. Herbicide..... | 17 |
| II. Méthodes : | |
| II.1. Analyses physico-chimiques..... | 18 |
| II.1.1.La granulométrie..... | 18 |
| II.1.2. La capacité de rétention en eau..... | 18 |
| II.1.3. Le pH..... | 19 |
| II.1.4. Le Calcaire total..... | 19 |

| | |
|---|----|
| II.1.5. Carbone total (Méthode d'Anne modifiée)..... | 19 |
| II.1.6. La matière organique..... | 19 |
| II.1.7. L'azote total..... | 20 |
| II.1.8. La capacité d'échange cationique (CEC)..... | 20 |
| II.1.9. Le phosphore assimilable..... | 21 |
| II.2. Caractéristiques des propriétés physico-chimiques du sol..... | 21 |
| II.3. Dosages des activités enzymatiques dans le sol..... | 23 |
| II.3.1.Principe..... | 23 |
| II.3.2. Dosage des phosphatases (acide et alcaline)..... | 23 |
| II.3.3. Dosage des polysaccharidases | 24 |
| II.3.4. Dosage des hétérosidases. | 24 |
| II.3.5. Dosage des uréases | 24 |
| II.3.6. Dosage de la fluorescéine di acétate hydrolase (FDA)..... | 25 |
| III. Dispositif expérimental..... | 25 |
| III.1. Réparation des traitements..... | 25 |
| III.2. Protocole de préparation des solutions de sol..... | 26 |

Troisième partie : résultats et discussion

| | |
|---|----|
| I .Effet d'une bioaugmentation par (<i>Bacillus mycoides</i>) du glyphosate sur l'évolution des activités enzymatiques dans les sols du périmètre irrigable de Mitidja (PIB)..... | 28 |
| I .1- Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par <i>Bacillus mycoide</i> sur l'évolution de l'amylase dans le sol..... | 28 |
| I .2- Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par <i>Bacillus mycoide</i> sur l'évolution de xylanase se dans le sol..... | 29 |
| I .3. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par <i>Bacillus mycoide</i> sur l'évolution et la production de la cellulase dans le sol..... | 30 |
| I .4. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par <i>Bacillus mycoide</i> sur l'évolution et la production de β -glucosidase dans le sol..... | 32 |
| I .5. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par <i>Bacillus mycoide</i> sur l'évolution et la production de FDA dans le sol..... | 33 |

| | |
|--|----|
| I .6. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par <i>Bacillus mycoides</i> sur l'évolution de l'uréase sol..... | 34 |
| I .7. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par <i>Bacillus mycoides</i> sur l'évolution de N-acétylglucosaminase (NAG) dans le sol..... | 36 |
| I .8. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par <i>Bacillus mycoides</i> sur l'évolution de phosphatase acide dans le sol..... | 37 |
| I .9. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par <i>Bacillus mycoides</i> sur l'évolution de phosphatase alcalin dans le sol..... | 39 |
| Conclusion | 41 |
| Références | 43 |
| Annexes | 51 |

Introduction générale :

L'utilisation des pesticides dans l'agriculture présente deux aspects aux conséquences totalement opposées. Le premier concerne la nécessaire réduction des dégâts causés aux cultures par des organismes phytopathogènes et du développement des adventices pour maintenir la productivité alors que le deuxième concerne la pollution des eaux, aliments et des sols engendré par ces produits, qui par définition sont des substances possédant des propriétés toxiques même à de très faibles concentrations (Calvet et al., 2005).

Pour cela, La dégradation microbienne des herbicides ou la dégradation biotique de ces de substances toxiques a été employé le développement des progrès de la bioremédiation pour les sols contamine de pend de l'introduction de la biodégradation des microbes.

Dans les différents travaux de Torstensson, (1985) ; Monard et al., (2008) ; Cheloufi et al., (2017) ,ils emploient des souches microbiennes en vue de la dégradation des substances herbicides, c'est le processus de bioremédiation ou de bioaugmentation qui semble le plus appliqué durant les dernières décades et ce en raison de l'intensification agricole et des méfaits provoqués par ces intrants dans les sols. Shapir et al., (2007), ont noté une forte biodégradation de la trifluranine et l'atrazine sous l'effet d'une souche *Arthrobacter aureus* TC1. par la suite, Cheloufi et al., (2016), ont constaté que une souche de *Pseudomonas*, isolées à partir des sols améliorent la dégradation de la glyphosate et 2,4-D.

Le glyphosate est parmi les herbicides le plus utilisé par les agriculteurs dans le périmètre agricole de Mitidja, il serait alors intéressant de caractériser leurs effets sur les activités enzymatiques d'une coté et d'autre coté la lutte biologique contre cette pollution dans les sols de ce périmètre. Cette catégorie de pesticides comprend plusieurs familles, dans la famille de glycine à laquelle appartient le produit glyphosate, qui est un herbicides organophosphorique et qui agit contre les mauvaise herbe (désherbants).

Dans le cadre de biodégradation des herbicides, une bactérie du genre *Bacillus mycoides* isolée des sols et inoculée à ces mêmes sols qui peut-elle contribuer à une meilleure décomposition de cet herbicide ? Quel serait alors l'importance de son impact sur l'évolution et la production des activités enzymatiques ? C'est-à-dire est ce qu'il y a un effet sur

l'évolution de phosphatase acide, phosphatase alcaline, l'amylase, N-acétyle glucosaminase, β -glucosidase, l'uréase, diacétate de fluorescéine, xylanase et cellulase ?

Pour répondre à ces interrogations, une expérimentation basée sur l'incubation des sols inoculé par la souche *Bacillus mycoides* et traité par l'herbicide.

Le mémoire obtenu est présenté et articulé autour de 5 parties :

- 1- On commence par une introduction générale ;
- 2- Une synthèse bibliographique qui retrace les connaissances actuelles sur les herbicides et les microorganismes des sols et surtout leurs activités enzymatiques ;
- 3- Une troisième partie matériel et méthode où sont décrits le matériel biologique utilisé, le protocole expérimental et les techniques d'analyse ;
- 4- La quatrième partie présente les résultats et discussion obtenus de l'effet de la bioaugmentation du sol du glyphosate par une *Bacillus mycoides* sur l'évolution de :
 - ✓ L'amylase ;
 - ✓ Xylanase ;
 - ✓ Cellulase ;
 - ✓ β -glucosidase ;
 - ✓ Uréase ;
 - ✓ diacétate de fluorescéine ;
 - ✓ N-acétyle glucosaminase ;
 - ✓ Phosphatase acide ;
 - ✓ Phosphatase alcaline.
- 5- En fin, nous concluons ce travail par une conclusion.

Première partie :

**Synthèse
bibliographique**

I. Le sol

I.1. Définition :

Le sol est le résultat d'une évolution lente au cours de laquelle le climat, le relief et les organismes ont participé à le façonner en altérant la roche mère et en la faisant interagir avec la matière vivante (Soltne, 1992). Selon Clément M, (2020), les sols forment, à la surface de lithosphère, une fine pellicule d'épaisseur et de composition variable en fonction, notamment, du climat, les végétaux et de la nature de matériaux parentaux. On trouve ainsi des sols sableux riches en matière organique, mais également des sols rouges et profonds.

I.2. Formation de sol :

La formation d'un sol est un lent processus, ainsi, un sol très jeune sera très mince, alors qu'un sol plus vieux est plus épais (Philippe G, 2016 ; Patrick, 2017). La formation des sols résume en trois étapes :

- L'altération de la roche-mère ;
- Les facteurs de l'environnement (ruissellement, le vent, le gel,..) ;
- Les facteurs biologiques (la décomposition des matières organiques par bactéries, champignons et invertébrés pour produire l'humus).

I.3. Composition de sol :

Le sol est constitué de particules minérales et des constituants organiques allant de fragments de végétaux ou d'animaux à des macromolécules organiques complexes (Stenggel P, 2009).

Selon ChristianeJ(2009), On retrouve quatre composantes dans un sol :

- La teneur en eau d'un sol déterminera sa capacité à retenir l'eau.
- La teneur en air d'un sol détermine son niveau d'aération.
- Les matières organiques.
- La portion minérale du sol provient de la dégradation de la roche-mère et la minéralisation des MO.

I.4. Caractéristiques et types de sol :

Le type de sol est déterminé par la dimension (la taille) des particules qui le composent et par leur agencement. Les sols varient en fonction de leur structure et de leur texture. La texture du

sol influence directement sa structure, sa teneur en nutriments, son humidité et sa capacité à drainer l'eau (**Levadoux, 1961 ; Davet, 1996 ; Duchaufour et Blum, 2001**).

On peut regrouper les sols en quatre grands types :

- Sol sableux
- Sol limoneux
- Sol argileux
- Sol humifère

II. Les herbicides

II.1. Définition :

Un herbicide est un produit phytosanitaire, à usage agricole qui cible plus précisément les mauvaises herbes, ils sont parfois désherbants.

On distingue les désherbants sélectifs, les débroussaillants et désherbants totaux, les défanants qui détruisent la partie aérienne des végétaux. Ils sont par exemple utilisés pour la récolte mécanique de la pomme de terre ou de la betterave et les anti-germes, qui empêchent le démarrage de la végétation de certains végétaux destinés à l'alimentation (**CGA, 2000 ; Giroux, 2004 ; Neuweiler R, 2009**).

II.2. Composition et formulation :

Un herbicide correspond au nom commercial du produit commercialisé par un distributeur. **Les matières actives** qui lui confèrent son activité d'herbicide et les **formulants** qui complètent la formulation. Cette dernière correspond à la forme physique sous laquelle le pesticide est mis sur le marché, les plus répandues sont les suivantes :

- **Pour les formulations solides :** les granulés solubles, les poudres mouillables ;
- **Pour les formulations liquides :** les concentrés solubles, les concentrés émulsionnables, les suspensions concentrées (**Boschetto, 2013**).

Les formulants sont des produits qui améliorent la préparation pour sa qualité : la stabilité (émulsifiant), la présentation (colorant, répulsif) ou pour son comportement physique lors de la pulvérisation : mouillant, adhésif, etc.... (**Rocher, 2004**). La teneur en matière active s'exprime en (g/l) pour les formulations liquides et en pourcentage (%) pour les formulations solides (**Boschetto, 2013**).

II.3. Classification des herbicides :

Selon **Gauvrit (1996)**, plusieurs classifications sont possibles. On peut se baser sur leur famille chimique, sur leur but, sur la sélectivité et le mode pénétration qu'ils occasionnent aux mauvaises herbes, il n'existe pas de classification idéale mais certaines peuvent être mieux appropriées à tel ou tel but.

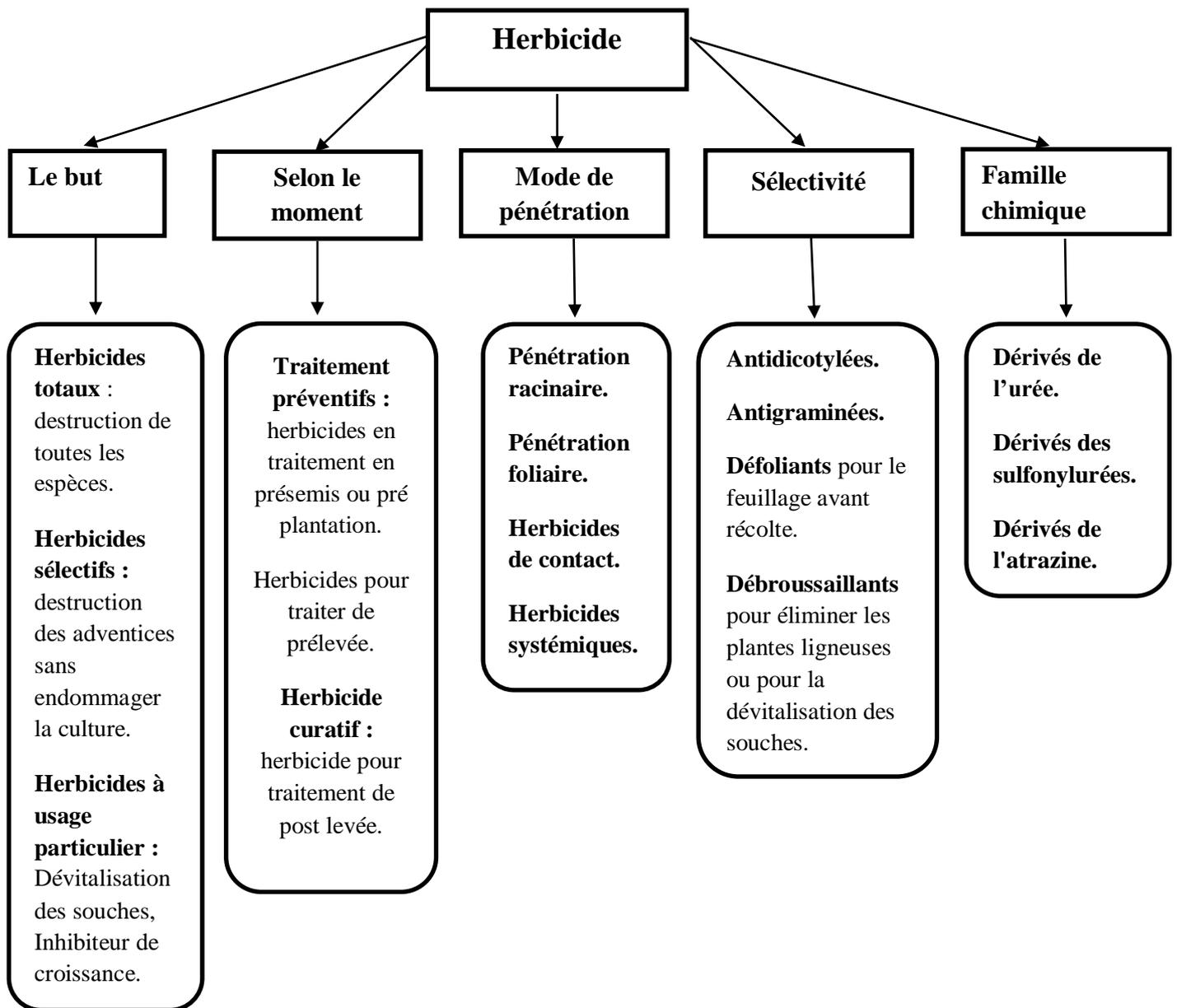


Figure 1 : Résumé de la classification des herbicides (**Pierre et al., 2020**).

II.4. Modes d'action des herbicides :

Les herbicides se distinguent par rapport à leur voie de pénétration dans les végétaux et à leur déplacement dans la plante.

II.4.1. herbicides à pénétration racinaire : appliqués sur le sol, ils pénètrent par les organes souterrains des végétaux, ce sont les traitements herbicides de prélevée (**Benmahdi F, 2008**).

II.4.2. herbicides à pénétration foliaire : ils pénètrent par les organes aériens des végétaux, ce sont les traitements herbicides de post-levée (**Gama et al., 2006**).

I.4.3. herbicides de contact : herbicides qui agissent après pénétration plus ou moins profonde dans les tissus, sans aucune migration d'un organe à un autre de la plante traitée (**Roula M, 2009**).

II.4.4. herbicides systémiques : herbicides capables d'agir après pénétration et migration d'un organe à un autre de la plante traitée (**Gama et al., 2006**).

II.5. Principales familles d'herbicide :

Ils constituent la très large majorité des herbicides du marché actuel voici des exemples des différents herbicides (**tab 1**), (**Maisonneuve et Larose, 1988**).

Tableau. 1 : Les principales familles des herbicides avec des exemples

| herbicides minéraux | Herbicides organiques |
|--|-----------------------|
| cyanure de calcium ($\text{Ca}(\text{CN})_2$), | Diuron |
| sulfate de fer (FeSO_4), | Atrazine |
| chlorate de sodium (NaClO_3) | Glyphosate |

II.6. Effet nocif des herbicides :

- Les risques pour la santé humaine en cas d'exposition aiguë à des doses élevées de pesticides, sont connus de longue date et ont conduit à la publication de recommandations aux utilisateurs de manière à éviter ces risques (**Kersanté, 2003**).
- Or, de l'utilisation accumulée de l'herbicide résulte une dégradation progressive de la biodiversité des sols agricoles qui peuvent ainsi être assimilés plus à des systèmes artificialisés dévolus à une culture intensive qu'à des écosystèmes terrestres naturels (**CCME, 2012**).

- Les herbicides parviennent jusqu'au sol et touchent bactéries, champignons, algues, vers de terre et insectes. Ces dégradations cumulées ont un effet nocif sur la fertilité du sol (**Lagacherie et al., 2006 ;Mamy et al., 2011**).
- Les herbicides provoquent la diminution de l'activité biologique dans le sol, activité indispensables au recyclage de la matière organique (**Molenat, 1998**).

III. Bioremédiation

III.1. Définition

III.1.1. La Bioremédiation :

C'est un ensemble de techniques utilisées pour la dépollution des sites naturel pollue (sol, sédiments, eaux de surface ou souterraines), par l'utilisation de micro-organismes, de champignons, de végétaux divers ou d'enzymes qu'ils produisent. Les moyens mis en œuvre sont donc respectueux de l'environnement et de la santé humaine (**Quentin M, 2014**).

III.1.2. Biodégradation :

Elle consiste à décomposer un substrat organique comme, les hydrocarbures, les solvants, les composés organochlorés...etc., par l'action des microorganismes vivants (bactéries et champignons essentiellement). Elle a lieu dans les milieux naturels comme les sols, les sédiments et les eaux mais elle peut aussi se reproduire dans les organismes végétaux et animaux (**Clavet et al, 2005**).

III.1.3. Bio-augmentation :

Elle consiste à introduire des cultures de microorganismes d'intérêt à la surface du milieu contaminé dans l'objectif d'augmenter et d'améliorer la dégradation des composés organiques indésirables. Généralement, les microorganismes sont sélectionnés sur la base de leur aptitude à dégrader les composés organiques présents dans le site à dépolluer.

La culture peut comprendre une ou plusieurs espèces de microorganismes. Des éléments nutritifs sont généralement apportés dans la solution contenant les microorganismes. Cette suspension de microorganisme est apportée à la surface du sol dans les conditions naturelles ou injectés dans le site contaminé sous pression (**Abdelly, 2007 ; Nasser et al., 2010**).

III.2. Les principales bactéries dégradantes les herbicides :

Il y a plusieurs bactéries qui dégradent les herbicides voici quelques exemples **tableau 2**.

Tableau. 2 : Les microorganismes dégradant l'herbicide

| Bactéries | herbicides | Références |
|--------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|
| <i>Achromobacter</i> sp. MPS 12A | Glyphosate | Sviridov <i>et al.</i>, (2012) |
| <i>Ochrobactrum</i> GPK 3 | Glyphosate | Sviridov <i>et al.</i>, (2012) |
| <i>Rhodanobacter spathiphyllum</i> | Diuron | Asmaâ <i>et al.</i>, (2017) |
| <i>Geobacillusstearothermophilus</i> | Linuron | Asmaâ <i>et al.</i>, (2017) |

IV. Aperçu générale sur les paramètres associe à la bactérie *Bacillus mycoides*

IV.1. Les caractéristiques morphologiques :

Selon **Flügge(1886)**, sont des bacilles de terre. Bacilles assez épais, à peu près de la même taille que les bacilles charbonneux, non mobiles, formant souvent de longs pseudo- filaments. Dans les filaments d'Erdeba, des spores ovales très brillantes se forment à intervalles réguliers, tout comme les bacilles individuels ; la spore occupe environ le centre du bacille. Des turbidités blanches apparaissent dans la plaque de gélatine, dans laquelle émergent de fins filets blanchâtres au parcours irrégulier, enchevêtré et ramifié. Après 12 à 20 heures, ce réseau de fils a déjà atteint une expansion d'environ 10 mm. Ressemblent tellement un mycélium fongique que l'on peut douter de la présence d'une telle colonie ou d'une colonie de champignons de fission. Les fils restent délicats et fins tant qu'ils sont profondément enfoncés dans la gélatine, s'élargissant considérablement et perdant leur netteté, lorsqu'ils atteignent la surface. Les colonies individuelles entrent bientôt en contact à travers une telle multitude de fils. Avec un faible grossissement, vous pouvez voir la composition des fils. De faisceaux de fils de bacille, qui se trouvent généralement les uns à côté des autres, mais sont parfois étroitement emmêlés et, dans l'ensemble, montrent un cours fréquemment tordu et tordu. Avec la percée, des filaments à la surface, la liquéfaction de la couche supérieure, brouillée de manière diffuse par la propagation des colonies, se produit en même temps. Dans le dard, les poils les plus fins, partant du canal du dard, pénètrent la gélatine en un rang dense ; de plus, la liquéfaction progressive efface les caractères de la croissance. Un dépôt visqueux blanchâtre qui s'étend lentement se forme sur les pommes de terre. Les bacilles sont presque constamment obtenus dans chaque échantillon de sol à partir du sol de surface des champs et des jardins, si cet échantillon est soit saupoudré directement sur la plaque de gélatine, soit un extrait aqueux est préparé et la gélatine.

Sous le microscope sont des bacilles à Gram positives, bâtonnets et non mobiles (Stratford, 2013), non capsulés et forment des endospores (Yuli Andriani, 2017).

IV.2. Taxonomie :

Règne : Bacteria

Sous-règne : Posibacteria

Embranchement : Frimicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Bacillaceae

Genre : Bacillus

Espèce : *Bacillus mycoides*

IV.3. Aspect macroscopiques des colonies :

Tableau. 3 : Caractéristiques des colonies de *Bacillus mycoides*

| Diamètre | Couleur | Forme | Contour | Relief | Surface | Opacité | Consistance |
|-----------|--------------------|----------|-------------|---------|------------|---------|-------------|
| 5mm -10mm | Blanche à crème | Rhizoïde | Filamenteux | Convexe | Rigoureuse | Opaque | Crémeuse |

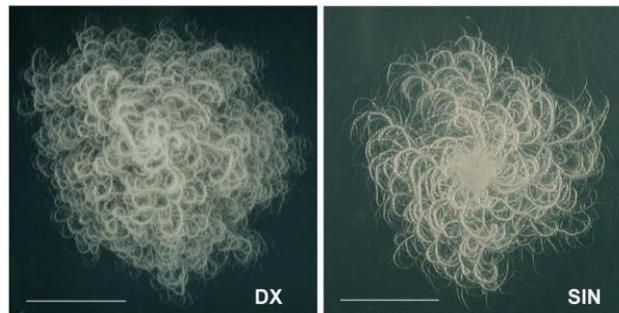


Figure 2 : Les colonies de la bactérie *Bacillus mycoides* (Carmen D et al., 2002).

IV.4. Aspect microscopiques de bactérie :

Tableau. 4 : Les aspects sous microscope de *Bacillus mycoides*

| Etats frais | Forme | Test Gram | Spores |
|-------------|---------|-----------|--------|
| Non mobile | Bacille | + | + |

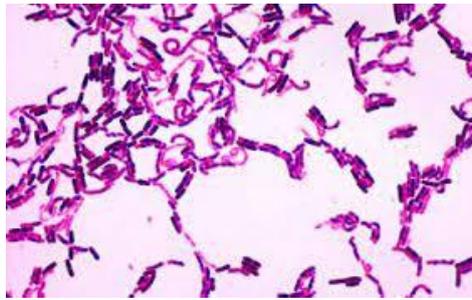


Figure 3 :L’aspect microscopique de la souche *Bacillus mycoides* (James V, 2011).

IV.5. Les caractéristiques biochimiques :

C’est une bactérie qui synthétise deux enzymes cellulase et amylase. Selon **Yuli Andriani(2017)** et **Cheloufi (2019)**, les résultats des tests biochimiques de *Bacillus mycoides* sont dans **le tableau 5**.

Tableau. 5 : Caractéristiques biochimiques de la *Bacillus mycoides*

| Test | Résultat | Test | Résultat | Test | Résultat |
|------|----------|------------------|----------|--------|----------|
| Glu | + | Ox | - | Gaz | + |
| Lac | - | Cat | + | Rm | - |
| Man | - | H ₂ S | - | Ldc | - |
| Sac | - | ONPG | - | Tda | - |
| Ind | - | Cit | + | King | - |
| VP | + | Adh | - | King b | - |
| Urée | - | Odc | - | Mob | - |

IV.6. Les caractéristiques génétiques :

Bacillus mycoides est mal connu malgré sa présence fréquente dans l’environnement. Selon l’étude pan- génomique de *Bacillus mycoides* de **Fiedoruk K et al .,(2021)**, ont trouvé que *Bacillus mycoides* est un membre psychrotrophe du groupe *Bacillus cereus*, le génome de *B.mycoides* est composé de 20175 gènes et se caractérise par une forte prédominance de gènes adaptatifs (83%) donc est capable de s’adapter rapidement aux conditions environnementales changeantes, une quantité importante de gènes plasmidiques (37%) et une grande contribution de prophages . La longueur moyenne de génome de *B.mycoides* était de 5,55 à 6,13 Mb, longueur de plasmide variait de 3,78 à 538,90 kb, la teneur moyenne en GC de génome était de 33,7%.

V. Les activités enzymatiques dans le sol

V.1. Les enzymes du sol :

Les enzymes présentes dans le sol ont pour origine les microorganismes, les racines végétales et les déjections animales, il peut s'agir d'enzymes extracellulaires ou d'enzymes libérées à la mort des cellules (**Bernard Godden, 1998**).

Les enzymes du sol jouent un rôle important dans l'agriculture et en particulier dans le cycle des nutriments. Ils sont également impliqués dans la dégradation, la transformation et la minéralisation de la matière organique et la disponibilité des éléments nutritifs dans le sol.

(tab 6)

Tableau. 6 : Définition et propriétés des enzymes des sols

| Enzyme | Définition |
|--------------------|---|
| Phosphatase | <p>Est l'une des enzymes les plus importantes. Il est impliqué dans le cycle des nutriments, la minéralisation et la nutrition des plantes et fournit du phosphore organique du sol.</p> <p>La description de l'action de ces enzymes sur le cycle du Phosphore est entièrement décrite dans la littérature. Les phosphomonoestérases acides et alcalines peuvent être trouvées dans les sols selon le pH du milieu. Parce que les phosphatases sont impliquées dans le cycle du Phosphore, qui est essentiel pour la nutrition des plantes et la fertilité du sol, le maintien, la préservation et la compréhension du comportement et des facteurs affectant ces enzymes sur le sol sont très importants pour assurer la qualité du sol, la croissance des plantes et la productivité agricole.</p> <p>La phosphatase alcaline PhoD participe à ce processus en hydrolysant une gamme de phosphoesters organiques (Purcena et al., 2014)</p> |
| Cellulase | <p>Sont un groupe d'enzymes responsables de la dégradation de la cellulose dans la nature (Khelil, 2017). Elles sont principalement produites par les champignons, les bactéries et notamment les bactéries halophiles (Dari, 2013) mais aussi par des organismes représentant le règne animal, y compris des insectes, des mollusques, des nématodes et des protozoaires (Khelil, 2017). Les cellulases se réfèrent à une classe d'enzymes qui catalysent l'hydrolyse des liaisons 1,4 β-D glycosidiques (Dari, 2013).</p> |
| Xylanase | <p>Est un glycoside hydrolase qui catalyse l'hydrolyse des liaisons (1\rightarrow4)-β-</p> |

| | |
|--|---|
| | D-xylosidiques dans les xylènes pour libérer de la xylose. Ces enzymes interviennent donc dans la dégradation de l'hémicellulose, l'un des constituants principaux des parois cellulaires chez les plantes. Elles sont produites notamment par des mycètes, des bactéries, des levures, des algues marines, des protozoaires, des escargots, des crustacés, des insectes. |
| Amylase | Sont capables d'hydrolyser l'amidon (amylose et amylopectine) et ses produits de dégradation (dextrines, oligosaccharides) (Kermiche, 2013). |
| L'uréase | C'est une enzyme qui par sa présence provoque la réaction chimique de transformation de l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac. |
| La fluorescéine diacétate (FDA) | Est une molécule qui peut être hydrolysée par de nombreuses enzymes dont les estérases, les protéases et les lipases microbiennes. L'hydrolyse de la FDA est donc une activité enzymatique généraliste, avec un spectre d'action beaucoup plus large que d'autres activités enzymatiques spécifiques, comme la phosphatase alcaline par exemple. L'activité FDA est déterminée par la mesure de l'absorbance à 490nm de la fluorescéine libérée par hydrolyse du substrat (Schnürer et Rosswall, 1982 ; Green et al., 2006). L'activité FDA hydrolase est généralement corrélée à la biomasse microbienne ou à une activité biologique globale et cet indicateur rend bien compte d'une stimulation par apport de matières organiques (Sanchez Mondenero et al., 2008). |

V .2.Effet des herbicides sur les activités enzymatiques :

La dégradation du glyphosate se fait par certains microorganismes du sol qui utilise ce composé comme source de phosphore et d'azote (**Sviridov, A. et al., 2015**). L'hydrolyse du diacétate de fluorescéine permet de déterminer l'activité enzymatique générale du sol (**Borggaard et Gimsing, 2008**).

Selon **Hazel(1981)** les effets du glyphosate, du parquat, de la trifluraline et de l'atrazine sur les activités de la déshydrogénase, de la phosphatase et de l'uréase, dans un sol, ont été mesurés, il a été constaté que seul le glyphosate à 21,6 kg/ha inhibait les activités enzymatiques et les résultats n'étaient généralement pas significatifs. On peut utiliser le chlorate de sodium comme un herbicide, ce dernier n'a pas d'effet néfaste sur les microbes du sol mais ralentit légèrement leur activités ; les microbes demeurent dans leur habitat naturel, ils ne sont pas influencés par l'herbicide appliqué à la dose normale (**Karki et al.,**

1973). L'activité de l'uréase peut être inhibée par les herbicides à certain concentration (Cervelli *et al.*, 1976). Les herbicides n'ont pas un effet significatif sur les activités phosphatasiques soit acide ou alcalin (De Prado *et al.*, 1982).

V.3. Amélioration des activités enzymatiques du sol par les microorganismes :

Les microorganismes sont essentiels dans les fonctions clés du sol. Les matières organiques doivent être minéralisées pour être assimilables par les plantes. Les microorganismes utilisent, pour leurs ressources nutritives, les matières organiques du sol. Celles-ci sont dégradées et des éléments minéraux sont libérés. Ils sont ainsi accessibles aux plantes dans le sol. Cela concerne l'azote, le phosphore et le soufre, mais également le potassium, le calcium, le magnésium. Les champignons sont aussi les principaux êtres vivants à être capables de dégrader la lignine. Elles forment des symbioses avec les racines. Certains microorganismes participent à la dégradation de polluants organiques et à un meilleur état sanitaire dans les sols.

V.4. Dégradation du glyphosate :

La dégradation d'un pesticide correspond à sa dissipation par transformation de la molécule mère. Lors du traitement phytosanitaire 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. 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 (GREBIL *et al.*, 2001).

V.5. Voies de dégradations du glyphosate :

Trois voies de dégradation du glyphosate sont connues : la photodégradation, la dégradation chimique et la biodégradation (Fu *et al.*, 2016). La biodégradation peut se faire par les microorganismes indigènes ou bien par l'introduction de microorganismes avec des capacités d'éliminer le GP du sol et de l'eau (Sviridov *et al.*, 2015).

Deux voies de dégradation du glyphosate par les microorganismes sont connues : le clivage direct de la liaison C-P donnant le sarcosine et le phosphore inorganique (Pi) ; et la coupure de la liaison C-N donnant du glyoxylate et du AMPA (acide

aminométhylphosphonique) qui est rejeté dans le milieu extracellulaire et qui tend alors à s'accumuler dans l'environnement

Quelques souches bactériennes peuvent dégradés le AMP A (source de P) en clivant la liaison C-P donnant du méthylamine et du Pi (**Sviridov *et al*, 2014 ; Fu *et al*, 2016**).

Deuxième partie :
Matériels et méthodes

I. Matériels

I.1. Sol :

I.1.1. Prélèvement et traitement des échantillons :

Pour étudier l'effet d'une bioaugmentation d'herbicide (glyphosate) sur les activités enzymatiques du sol de Blida. Nous avons choisi un seul échantillonnage de vertisol dans la région de Boufarik, de texture argileuse. Les prélèvements des terres ont été effectués au mois de Mars 2022 de l'horizon de surface c'est-à-dire les premiers 30 cm, destinés aux analyses physico-chimiques d'une part et d'autre part à l'étude expérimentale. Nous avons prélevé environ 5 kilogrammes de sol à l'aide d'une tarière, séché à température ambiante, broyé et tamisé à 2 mm. Les caractéristiques physico-chimiques des sols sont présentées dans le **Tableau 7**.

I.2. bactérie :

Nous avons choisis une souche bactérienne indigène de sol, appelée *Bacillus mycoides*, sa concentration est de 10^9 UFC. Il est utilisé pour bio-augmenter la microflore indigène du sol. L'inoculum bactérien est constitué de suspension liquide riche par une biomasse bactérienne préparée à partir de la souche ayant le temps de génération le plus court (18 min).

I.3. Herbicide :

Le choix porte sur un désherbant fréquemment utilisés en Algérie : Le Glyphosate ($C_3H_8NO_5P$) est un acide organique faible en poudre blanche de famille chimique organophosphoré, analogue d'un acide aminé naturel, la glycine, dotée d'un groupement phosphonate.

Dose : Nous avons retenu 2,5 μ g de glyphosate par 300g de sol.

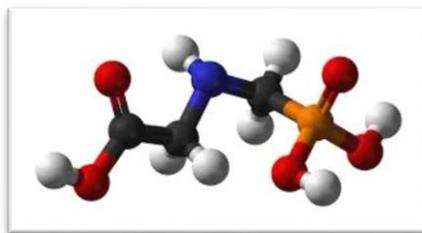


Figure 4 : Structure chimique du glyphosate (Eric C, 2017).

II. Méthodes :

II.1. Analyses physico-chimiques :

II.1.1. La granulométrie :

Selon **Richer de Forges *et al* (2008)** et **Zaatout (2011)**, le but de l'analyse granulométrique est quantifier pondéralement les particules minérales élémentaire groupées en classe et de définir la composition granulométrique de nos sols. Cette dernière est importante car elle régit les propriétés physiques d'un sol. L'essai utilise deux méthodes complémentaires :

- L'analyse granulométrique par voie sèche ; qui utilise une série de tamis emboîtés les uns sur les autres, et qui se limite au refus supérieur ou égale à 0.063 mm
- L'analyse granulométrique par sédimentométrie ; qui utilise la décontraction de grains solides en suspension dans l'eau, cette chute est liée directement à leurs diamètre (loi de Stock) ; cette méthode s'adresse à des échantillons de sol qui ne contiennent pas des éléments de diamètre inférieur à 100 μm .
- L'analyse granulométrique est la détermination de la texture d'un sol après Destruction de tous les agrégats par dispersion des colloïdes floculés.

Le but de cette analyse est de déterminer le pourcentage ; d'argiles, de sable et de Limons caractérisant l'échantillon prélevé.

- **Méthode de prélèvement par sédimentation : Utilisation de la pipette**

Robinson :

Selon la méthode employant la pipette Robinson la texture du sol a été déterminée. En effet, après attaque, dans une éprouvette, de 20 g de sol tamisé à 2 mm par l'eau oxygénée H_2O_2 à 110 v et dispersion des particules par l'hexametaphosphore de Na, il est ensuite procédé au prélèvement après agitation à la pipette de Robinson de 10 ml de la suspension après environ 8 heures de décantation. Le pourcentage d'argile est calculé après séchage à l'étuve à 105 °C et pesée de la charge solide contenue dans les 10 ml prélevés à la pipette Robinson. Pour la détermination des différentes classes texturales, le diagramme utilisé est le triangle de textures GEPPA.

II.1.2. La capacité de rétention en eau :

La méthode consiste à saturer le sol avec de l'eau et laisser ressuyer pendant 48 h. On effectue une pesée à l'état humide puis l'échantillon est mis à l'étuve à 105°C pour une dessiccation. La différence de poids correspond à l'eau de la capacité de rétention.

II.1.3. Le pH :

Le pH est le coefficient caractérisant l'état acide ou basique d'une solution (**Arour E, 2001**). Les sols ont une réaction neutre, acide ou basique. Leur degré d'acidité ou de basicité est exprimé par le pH. La mesure du pH constitue le test le plus sensible aux modifications survenant dans l'évolution d'un sol.

Son principe consiste à réaliser une mise en équilibre ionique entre la phase solide et la phase liquide. La mesure est effectuée dans des conditions déterminées (rapport masse de sol (g)/volume de solution (ml)=1/2.5) de la différence de potentiel existant entre une électrode de mesure et une électrode de référence plongées dans la solution aqueuse à l'aide pH-mètre (**Duchaufour, 1991**).

II.1.4. Le Calcaire total :

Le calcaire joue un rôle essentiel dans la nutrition des plantes mais encore dans la pédogenèse, comme les différents éléments chimiques qui entrent dans la composition du sol. Nous avons utilisé la méthode du calcimètre de **BERNARD** pour le dosage du CaCO₃ totale.



Son principe repose sur la décomposition du carbonate de calcium par l'acide chlorhydrique et la mesure du volume de CO₂ obtenu (**Arour E, 2001 ; Mathieu et Pieltain., 2003**).



II.1.5. Carbone total (Méthode d'Anne modifiée) :

La méthode utilisée consiste à oxyder le carbone organique contenu dans un échantillon de sol par du bichromate de potassium à 8% en milieu sulfurique à chaud. La quantité de K₂Cr₂O₇ réduite est proportionnelle à la teneur en carbone organique, l'excès de bichromate est titré par du sel de MOHR 0,2 N (**Arour E., 2001**).

II.1.6. La matière organique :

La matière organique est obtenue selon la formule suivante :

$$\text{MO \%} = \text{C \%} * 1.72$$

La présence de matière organique dans les sols est à l'origine de l'apparition des propriétés physico-chimiques favorisant le développement des végétaux cultivés et naturel.

L'augmentation de ces teneurs s'accompagne d'une amélioration de la structure, de la facilité de l'infiltration de l'eau, de l'accroissement de la capacité de la rétention en eau, ainsi que du pouvoir de résistance à l'érosion (**Leprun, 1988**).

La MO est la source principale d'azote dans le sol. C'est un composant qui nécessitant une source de renouvellement. Toutefois, la perturbation du sol par le labour provoque généralement une diminution du taux de la MO, favorise l'érosion éolienne et hydrique et de ce fait provoque un déclin de la productivité de la plante cultivée. Le maintien des résidus de récolte en surface du sol peut contribuer à la synthèse d'une nouvelle MO.

II.1.7. L'azote total :

Le dosage de l'azote total s'est fait par la méthode de **Kjeldhal**, celle-ci consiste à oxyder l'échantillon de sol par l'acide sulfurique concentré porté à ébullition, ce dernier se comportera alors comme agent oxydant. Les substances organiques sont décomposées : le carbone se dégage sous forme de gaz carbonique, l'hydrogène donne de l'eau et l'azote est transformé en azote ammoniacal. Ce dernier est fixé immédiatement par l'acide sulfurique sous forme de sulfate d'ammonium. Pour accroître l'action oxydante du H_2SO_4 , on élève sa température d'ébullition en ajoutant du sulfate de cuivre et du sulfate de potassium ; ces derniers jouent le rôle de catalyseurs.

Lorsque la matière organique a été totalement oxydée la solution contenant le sulfate d'ammonium est récupérée. Il sera ensuite procédé au dosage de l'azote ammoniacal par distillation, après l'avoir déplacé de sa combinaison par une solution de soude en excès. L'ammoniac est ensuite recueilli dans un vase à doser et le dosage s'effectue à l'aide d'acide sulfurique et en présence d'un indicateur de pH (**Arour E, 2001**).

II.1.8. La capacité d'échange cationique (CEC) :

La CEC a été déterminée par la méthode de **Metson**. Cela consiste à saturer le sol à l'aide d'acétate d'ammonium 1N à pH 7. Celui-ci déplace les bases et l'acidité échangeable du complexe adsorbant (Les bases échangeables Ca, Mg sont dosées par spectrophotométrie, K et Na sont dosées par photomètre à flamme, dans la 1^{ère} solution d'acétate d'ammonium récoltée). Concernant la détermination de la capacité d'échanges cationiques, l'ammonium

fixé sera déplacé à son tour par une solution de KCl (M) puis distillé et dosé par une solution de H₂SO₄.

- **Détermination de la capacité d'échange cationique (CEC) : méthode AFNOR 1994**

La capacité d'échange cationique d'un sol est la quantité totale de cations que ce sol peut adsorber sur son complexe et échanger avec la solution environnante dans des conditions de pH bien définies.

Pour un sol, la capacité d'échange cationique est due aux substances colloïdales portant des charges négatives telles que les minéraux argileux, la matière organique et la silice colloïdale. Le total des charges négatives du sol disponibles (essentiellement dues au complexe argilo-humique) est également appelé le complexe adsorbant. La CEC est généralement exprimé en milliéquivalents pour 100 grammes de sol sec. Dans la plupart des cas, les valeurs varient entre 2 et 35 méq. (100 g)⁻¹ selon le type de sol. Les sols avec une CEC élevée ont généralement des teneurs plus élevées d'argile et de matière organique.

Selon le système international d'unités, la CEC est exprimée en centimole de charges positives par kilogramme (cmol⁺.Kg⁻¹).

Principe :

La mesure de la CEC est basée sur la titration par l'acide sulfurique H₂SO₄ de la solution du sol, après l'addition des réactifs (couleur violette). Elle est caractérisée par un point de virage au niveau d'un volume déterminé de H₂SO₄ titré (s'il fait apparaître une couleur verte) (Mathieu et Pieltain, 2003).

II.1.9. Le phosphore assimilable :

Le dosage du phosphore assimilable s'effectue selon la méthode d'Olsen (Olsen, 1954). L'extraction des formes de phosphore solubles se fait grâce à la formation d'acide carbonique par dissolution de bicarbonate de sodium ; les orthophosphates réagissent avec le molybdate d'ammonium en milieu acide pour donner de l'acide phosphomolybdique qui est réduit par l'acide ascorbique en bleu de molybdène dont l'absorbance est proportionnelle à la concentration en phosphore à 660 nm, par spectrophotomètre Genesys.

II.2. Caractéristiques des propriétés physico-chimiques du sol :

Voilà un tableau qui représente les propriétés physico-chimiques du sol de Boufarik

Tableau. 7 : Caractéristiques des propriétés physico-chimiques du sol de Boufarik

| Caractéristiques physico-chimiques | Unité de mesure | Sol de Boufarik | |
|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------|----|
| Granulométrie | % | Sable | 32 |
| | | Limon | 34 |
| | | argile | 34 |
| Classes texturale | Triangle des textures (G.E.P.P.A) | Limon argileuse | |
| pH | - | 7.65 | |
| Conductivité électrique CE | µs/cm | 98 | |
| Capacité de rétention en eau CR | % | 32.59 | |
| Calcaire total | % | T | |
| k | ppm | 149.31 | |
| Na | meq/100g | 0.52 | |
| Mg | meq/100g | 1.68 | |
| Ca | meq/100g | 19.75 | |
| CEC | meq/100g | 87 | |
| P (Olsen) | Ppm | 5.79 | |
| N _T | % | 0.18 | |
| C | % | 2.30 | |
| C/N | - | 12.77 | |

Le sol étudié correspond à un sol limon argileux, dont pH légèrement alcalin, CE très élevée, un taux de calcaire est nulle, CR très élevée et riche en cation échangeable.

Le carbone organique est dû 2.30 % (moyen), N 0.18 % (moyen) ce qui donne rapport a C/N 12.77. Donc en conclure que le sol est favorable pour l'agriculture.

II.3. Dosages des activités enzymatiques dans le sol

Les enzymes du sol sont principalement d'origine microbienne (**Ladd, 1973**), elles sont facilement mesurables et répondent rapidement à tout changement de gestion du sol (**Dick, 1994 ; Dick et al., 1996**). Elles sont considérées comme des indicateurs potentiels de la qualité du sol car elles sont très liées à l'activité des microorganismes (**Yano et al., 2005**)

II.3.1.Principe :

Le dosage enzymatique est une technique permettant de suivre la production ou la disparition d'une molécule produite à la suite d'une ou plusieurs réactions en chaîne. Ici l'intérêt de cette méthode, est que l'on cherche à déterminer la présence ou non d'une ou plusieurs enzymes dans les échantillons de sols, et de déterminer leur activité spécifique. L'activité enzymatique exprime la quantité de substrat catalysée par unité de temps. Pour cela, on va tester 9 activités enzymatiques qui interviennent dans les principaux cycles biogéochimiques : **phosphatases (acide et alcaline), amylase, xylanase, cellulase, carboxyméthylcellulase, hétérosidases, uréases, la fluorescéine diacétate hydrolase et uréase.**

On connaît pour chacune de ses enzymes, un substrat qui est susceptible d'être hydrolysé par l'enzyme si elle est présente dans l'échantillon. Si tel est le cas, alors le substrat va se fixer sur le site actif de l'enzyme, et par le biais d'une réaction enzymatique un produit va se former et sera libéré dans le milieu. Dans la plupart des cas, ce dernier est coloré. Il est donc possible de suivre son apparition par spectrophotométrie.

II.3.2. Dosage des phosphatases (acide et alcaline) :

Les activités phosphatases ont été effectuées selon la technique de **Nannipieri et al., (1995)**. Deux classes de phosphatases peuvent être distinguées selon leur pH optimum d'activité : les phosphatases alcaline et acide. Les activités phosphatases ont donc été mesurées à deux pH différents : pH 4 pour les acides et pH 9 pour les alcalines. Le milieu réactionnel est composé de 0,1 ml de substrat et 0,4 ml du tampon **Mac Ilvain** à pH 4 et tampon **Borate** à pH 9. Les conditions de réaction standard sont : incubation sous agitation à 37°C pendant 15 min (pour les acides) et 60 min (pour les alcalines), la réaction est arrêtée par l'addition de 100µl de CaCl₂ 0,5N et 400µl de NaOH 1N. Les tubes contenant le mélange sont ensuite centrifugés

à 12000 g pendant 5 min. La lecture s'effectue au spectrophotomètre (Genesys 5, BIOLOCK) à une longueur d'ondes de 450 nm et l'activité enzymatique est exprimée en µg de phénol libéré par g de sol sec et par heure.

II.3.3. Dosage des polysaccharidases :

La mesure de l'activité enzymatique est basée sur le dosage des sucres réducteurs produits par l'hydrolyse du substrat (amylase, xylanase et carboxyméthylcellulase) par une technique colorimétrique modifiée par **Deng et Tabatabai (1994)** et **Badiane et al (2001)**. Pour mesurer les activités polysaccharidases, 0,3 ml de solution de sol sont mélangés à 0,1 ml de tampon Mc Ilvain pH 5,8 et 0,3 ml de solution substrat (1%). Les tubes sont incubés sous agitation à 37°C pendant 2 heures puis centrifugés 3 min à 15000 t/m. 250 µl de surnageant sont utilisés pour déterminer les quantités de sucres réducteurs produits en utilisant les réactifs de **Somogyi (1945)** et **Nelson (1944)**. La DO est mesuré à 650 nm. Les activités enzymatiques sont exprimées en µg de sucres réducteurs produits par heure et par gramme de sol.

II.3.4. Dosage des hétérosidases :

Deux hétérosides ont été testés : le pNP β-glucoside, et le pNP N-acétyl-glucosaminidine. Pour le dosage de la β-glucosidase et de la N-acétyl-glucosaminidase, il est conseillé que le pH du milieu réactionnel soit proche de celui du sol. Deux milieux réactionnels ont été réalisés sur un échantillon. L'un avec le tampon Mac Ilvain à pH 5.8, comme indiqué initialement, et l'autre avec un le tampon **Mac Ilvain** à pH7 qui se rapproche du pH du sol. Les résultats ont montré que lors du dosage avec le tampon à pH 5.8, l'activité enzymatique du sol était sous-estimée par rapport au dosage fait avec le pH 7. Le pH du sol étant alcalin on a donc utilisé le tampon **Mac Ilvain** à pH 7. Pour chaque échantillon, 100 µl de tampon **MacIlvain** pH 7, 200 µl de solution de sol et 200 µl de substrat 1% sont incubé pendant 2 heures à 37° (JOUAN). Les tubes Eppendorf sont centrifugés à 13 000 Rotation Per Minute (rpm) pendant 5 minutes. Ensuite, 250 µl de surnageant sont transférés dans des tubes à bouchon de 5 ml. L'ajout de 2 ml de Na₂CO₃ 2% dans chaque tube est ensuite nécessaire afin d'arrêter la réaction. La Densité Optique (DO) est obtenue à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'ondes de 405 nm.

II.3.5. Dosage des uréases :

Le dosage est effectué selon la technique de **Kandeler et Gerber., (1988)** qui utilise l'urée comme substrat. Après incubation, l'ammoniaque produit par l'hydrolyse de l'urée est dosé

par un réactif contenant du dichloroisocyanurate. La DO est ensuite mesuré à 660 nm. Les activités enzymatiques sont exprimées en unité (U) qui correspond à la quantité d'azote libérée (en μg) par gramme de sol sec et par heure.

II.3.6. Dosage de la fluorescéine di acétate hydrolase (FDA) :

Le dosage est effectué selon la technique de **Schnürer et al., (1982)**. Chaque échantillon de 0,1 ml de sol est incubé pendant 2 heures à 37°C avec 1,5 ml de tampon (pH = 5,8) et 25 μl de di acétate de fluorescéine à 2 mg.ml⁻¹ dans un tube d'Eppendorf. Les tubes sont ensuite centrifugés à 4°C à 15000 tr.min⁻¹. 750 μl de surnageant sont transférés dans de nouveaux tubes auxquels sont ajoutés 750 μl d'acétone ; puis les tubes sont centrifugés pendant 5 min à 15000 tr.min⁻¹. La DO est mesuré à 490 nm.

III. Dispositif expérimental

III.1. Réparation des traitements :

La technique d'incubation des boites de 300 ml suivre la bioaugmentation de l'herbicide d'un mélange sol- herbicides- bactérie selon les traitements, dans un incubateur à l'obscurité, la température optimale a été fixée a (30°C) et l'humidité correspondant au 2/3 de la capacité de rétention du sol.

L'expérimentation comporte 4 traitements pour le sol, Chaque traitement a donné lieu à trois répétitions (12 échantillons). Les traitements issus de notre expérimentation sont de quatre : ST, SH, SB, SHB à savoir : H : herbicide (Glyphosate), B : bactérie (*Bacillus mycooides*). L'incubation a été étalée sur une période de 39 jours.

La cinétique de bioaugmentation est suivre pendant, cette période avec les pas de temps suivants 1, 3, 7, 9,11, 14, 21, 28, 39 jours. Ces incubation ont été conduite sur des échantillons de 300 g de sol. A chaque point cinétique, nous avons prélevé une quantité de 10 g du sol pour le dosage d'ACP, ALP, AMY, NAG, GLU, URE, FDA, XYL, CEL.



Figure 5 : Les 4 traitement de l'expérimentation.

III.2. Protocole de préparation des solutions de sol :

Avant toutes manipulations, afin de « réveiller » les communautés microbiennes du sol, 600 µl d'eau distillée sont ajoutés à 4 g de sol. L'échantillon humidifié est ensuite placé en incubation à l'étuve pendant 48 heures à 30 C°. Ensuite, pour obtenir des solutions de sol à 1 g.ml⁻¹, on ajoute après incubation 4ml d'eau distillée dans le flacon contenant l'échantillon de sol. Il est ensuite placé sous agitation magnétique à température ambiante pour obtenir une solution de sol liquide.

Pour chaque dosage, nous avons effectués trois essais (E1, E2, E3), 2 témoins enzymes (TE1, TE2) par échantillon. Ainsi que 1 témoin réactif (TR) par série et 3 témoins substrats (TS1 TS2 TS3) pour chaque enzyme. Pour les deux protocoles suivants, une étape d'homogénéisation au vortex est préconisée avant incubation à 37° afin que toute la solution de sol soit en contact avec le substrat, et après ajout du ou des réactifs d'arrêts pour que la quantité de produit formé soit fixe.

Troisième partie :
Résultats et discussions

I .Effet d'une bioaugmentation par (*Bacillus mycoides*) du glyphosate sur l'évolution des activités enzymatiques dans les sols du périmètre irrigable de Mitidja (PIB) :

I.1- Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par *Bacillus mycoides* sur l'évolution de l'amylase dans le sol

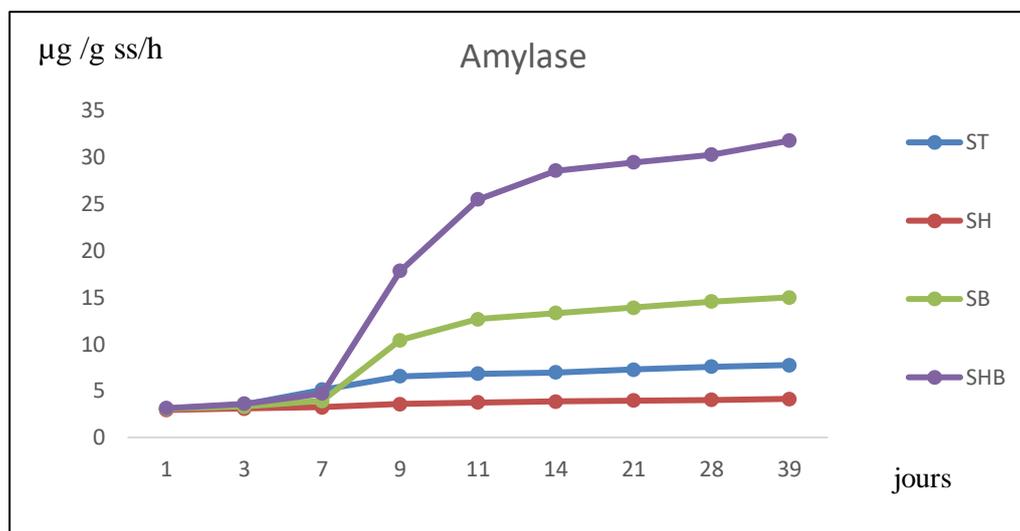


Figure 6 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur la production de l'amylase.

Le graphique représente l'effet de bioaugmentation de glyphosate sur l'activité enzymatique de l'amylase pendant 39 jours. D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans la figure n (**fig. 6**), il ressort que la quantité de l'activité de l'amylase la plus élevée est observée dans le traitement SHB comparativement à celle notée sous l'effet de bactérie.

Après 39 jours d'incubation, il est noté les quantités de l'amylase comme suit :

- 4.13 µg /g ss/h dans le système sol-herbicide ;
- 7.75 µg /g ss/h dans le système sol seul ;
- 14.99 µg /g ss/h dans le système sol + bactérie ;
- 31.75 µg /g ss/h dans le système sol + herbicide + bactérie.

L'examen de résultat (**fig.6**) fait ressortir deux phases comme suit :

- Une première phase allant de 1 jour jusqu'à 7 jours : L'activité enzymatique de ST, SH, SB et SHB reste stagnante c'est-à-dire c'est une phase d'adaptation de la microflore du sol aux nouvelles conditions et au herbicide apporté.
- Une deuxième phase allant de 7 à 39 jours,

On remarqué que l'activité enzymatique de SH est très faible, elle augmente de 2.94 jusqu'à 4.13 pendant 39 j. Par contre l'AE de ST augmente de 3.08 jusqu'à 7.75 durant 39 j. SB augmente de 3.08 jusqu'à 14.99 pendant 39 j. Par contre la présence de glyphosate bactérie dans le sol influence l'augmentation rapide de l'activité enzymatique après les 7 jours de 4.69 jusqu'à 31.75.

cette cinétique de l'activité enzymatique observée dans nos travaux est comparable à celle notée dans les travaux de **Nongthombam et al., (2009)**. Donc la présence de *Bacillus mycooides* dans le sol dégrade le glyphosate qui utilise comme une source de carbone, pour cela l'activité enzymatique d'amylase augmente rapidement.

Concernant l'effet de la bioaugmentation, l'analyse de variance a un facteur (herbicides - l'inoculum) révèle l'existence de différence significative au plan de l'activité enzymatique entre les systèmes (sol - herbicides - l'inoculum). (**Annexe II**)

I.2- Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par *Bacillus mycooides* sur l'évolution de xylanase dans le sol

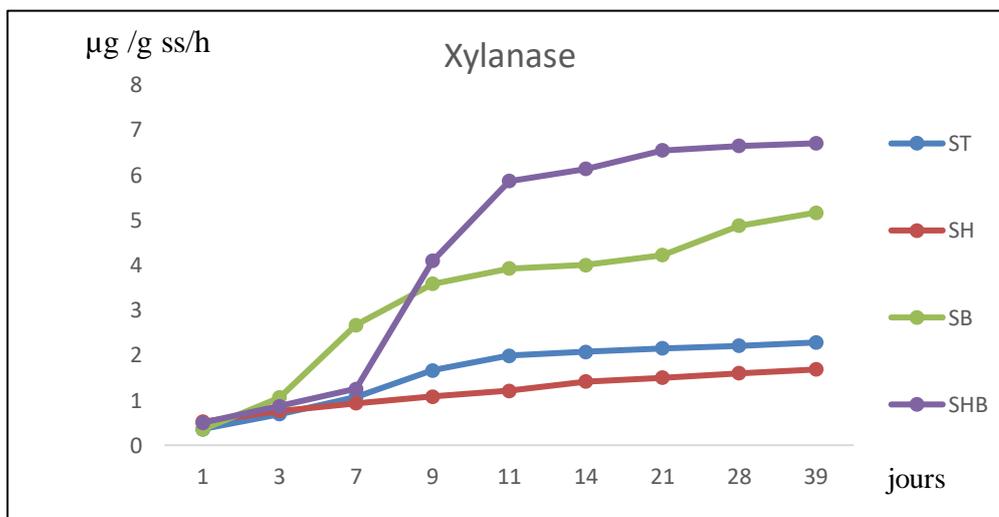


Figure 7 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur la production de xylanase.

Le graphique représente l'effet de bioaugmentation de glyphosate sur l'activité enzymatique de xylanase pendant 39 jours. D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans la figure n (**fig. 7**), il ressort que la quantité de l'activité de xylanase la plus élevée est observée dans le traitement SHB comparativement à celle notée sous l'effet de bactérie.

Après 39 jours d'incubation, il est noté les quantités de l'amylase comme suit :

- 1.68 µg /g ss/h dans le système sol-herbicide ;

- 2.28 µg /g ss/h dans le système sol seul ;
- 5.16 µg /g ss/h dans le système sol + bactérie ;
- 6.7 µg /g ss/h dans le système sol + herbicide + bactérie.

Ainsi, la bioaugmentation des sols traités par l'herbicide entraîne une amélioration de la qualité et la quantité des microflores et cela se répercute très positivement sur l'activité enzymatique dans ces sols. Il en résulte une meilleure dégradation de molécule d'herbicide par les souches de *Bacillus mycoides*.

Au plan de la cinétique de l'évolution et la mobilisation de l'activité de l'enzyme de Xylanase nous distinguons deux phases ;

- la première s'étale une semaine (0- 7 jours) et se caractérise par une activité très lente. Nous enregistrons les quantités de 2.67 et 1.25 µg /g ss/h unité dans les systèmes SB, SHB contre 1.07 et 0.93 µg /g ss/h dans les systèmes témoins ST et SH.
- Par la suite, nous observons une période d'activité biologique intense qui s'étale jusqu'aux 39 eme jours. Ces groupes microbiens minéralisent le carbone selon des mécanismes enzymatiques et acidolytiques et peuvent entraînant de ce fait une augmentation de la teneur en activité enzymatiques responsable de cycle de carbone des sols (**Robles-Gonzalez et al., 2006 ; Rfaki et al., 2015**)

Concernant l'effet de la bioaugmentation, l'analyse de variance a un facteur (herbicides - l'inoculum) révèle l'existence de différence hautement significative au plan de l'activité enzymatique entre les systèmes (sol - herbicides - l'inoculum).

(Annexe II)

I .3. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par *Bacillus mycoides* sur l'évolution et la production de la cellulase dans le sol

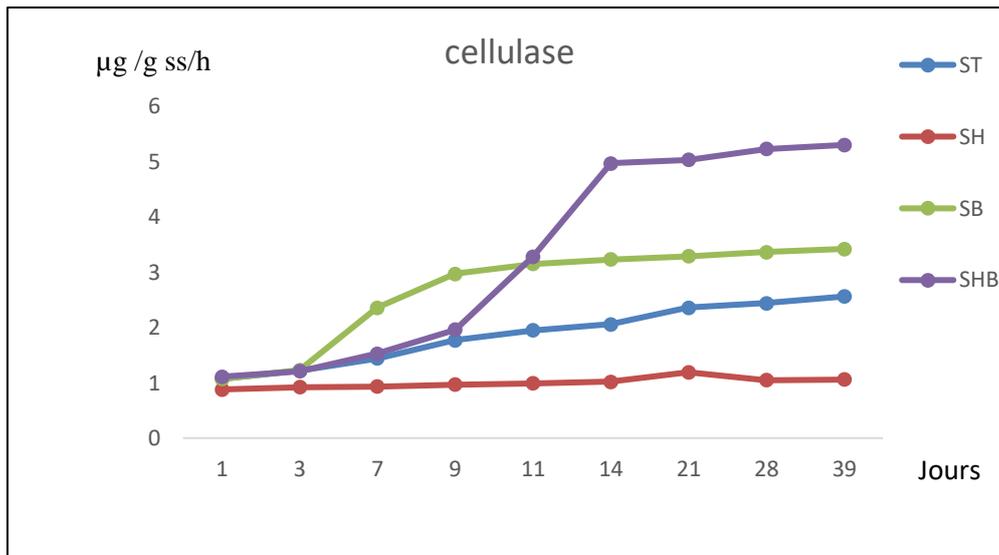


Figure 8 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de cellulase.

Le graphique représente l'effet de bioaugmentation de glyphosate sur l'activité enzymatique de cellulase pendant 39 jours. D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans la figure n (**fig. 8**), il ressort que la quantité de l'activité de cellulase la plus élevée est observée dans le traitement SHB comparativement à celle notée sous l'effet de bactérie.

Après 39 jours d'incubation, il est noté les quantités de l'amylase comme suit :

- 1.06 µg /g ss/h dans le système sol-herbicide ;
- 2.56 µg /g ss/h dans le système sol seul ;
- 3.42 µg /g ss/h dans le système sol + bactérie ;
- 5.60 µg /g ss/h dans le système sol + herbicide + bactérie.

Au cours d'une période expérimentale qui s'étale sur 39 jrs d'incubation, nous observons que la quantité de cellulase est plus élevée dans le traitement du sol inoculé par la souche de *Bacillus mycoides* que celle enregistrée dans les échantillons sans inoculum (**fig. 8**).

Il ressort que la bioaugmentation des sols a éliminé l'effet négatif des herbicides, ou du moins réduit son intensité grâce à l'action dégradante des microflore à l'égard de ces substances ; ce qui a entraîné une meilleure évolution de l'activité de cellulase dans le sol. **Schellenberger et al., (2012)**, dans ses travaux, montre que la bactérie *Pseudomonas putida* augmente fortement les micro-populations cellulolytiques dans les deux sols traité par 2.4-D et que cet herbicide exerce un effet plus toxique sur les groupes fonctionnels dans les traitements non inoculé.

Concernant l'effet de la bioaugmentation, l'analyse de variance a un facteur (herbicides - l'inoculum) révèle l'existence de différence très hautement significative au plan de l'activité enzymatique entre les systèmes (sol - herbicides - l'inoculum)(Annexe II).

I.4. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par *Bacillus mycoides* sur l'évolution et la production de β -glucosidase dans le sol

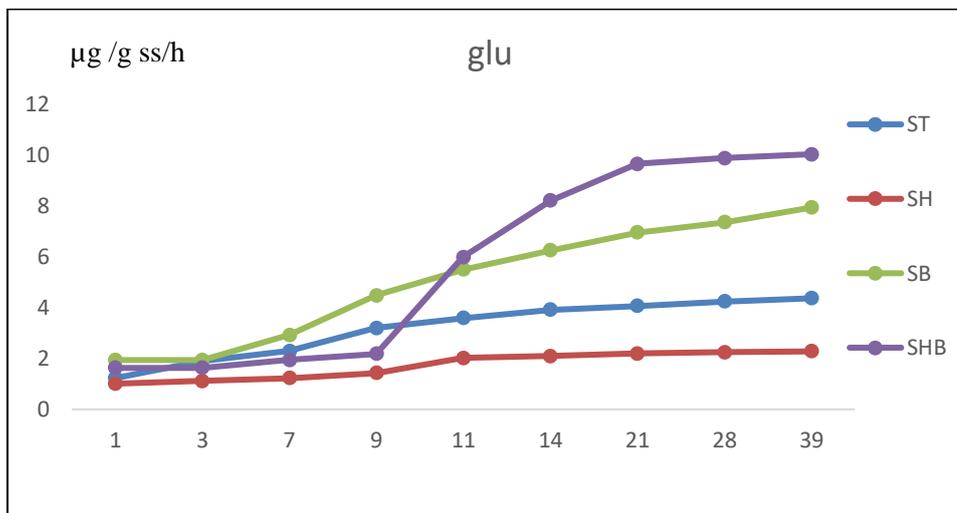


Figure 9 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de β - glucosidase.

Le graphique représente l'effet de bioaugmentation de glyphosate sur l'activité enzymatique de glucosidase pendant 39 jours. D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans la figure (fig. 9), il ressort que la quantité de l'activité de l'amylase la plus élevée est observée dans le traitement SHB comparativement à celle notée sous l'effet de bactérie.

Après 39 jours d'incubation, il est noté les quantités de l'amylase comme suit :

- 4.37 $\mu\text{g/g ss/h}$ dans le système sol-herbicide ;
- 2.28 $\mu\text{g/g ss/h}$ dans le système sol seul ;
- 7.94 $\mu\text{g/g ss/h}$ dans le système sol + bactérie ;
- 10.04 $\mu\text{g/g ss/h}$ dans le système sol + herbicide + bactérie.

Jours

L'analyse des résultats consignés dans la figure (fig.9), révèle un effet positif d'une bioaugmentation par *Bacillus mycoides* sur l'évolution et la production de GLU, β -glucosidase dans le sol de Boufarik. Les teneurs en GLU sont relativement plus élevées dans les deux systèmes inoculés « SHB » et « SB ». Cependant, nous enregistrons des valeurs réduites dans les deux systèmes témoins « SH » et « ST ».

Des résultats similaires ont été notés par **Przybulewska et Taborska (2008)** qui ont montré que la triazine diminue la densité des protéolytiques mais, quand on ajoute une *Bacillus sp.*, ils ont constaté une augmentation de ces micro-organismes protéolytiques. Aussi ; **Latha et Gopal (2010)** et **Šantrić et al., (2014)**, observèrent dans leurs études d'incubation en laboratoire une stimulation par une bactérie de l'activité de la β -glucosidase dans un sol limoneux.

Au cours de cette expérience, nous observons que l'apport de l'inoculum induit une modification positive et significative des cinétiques de l'évolution de GLU dans les sols seuls ou traités par les herbicides. Ces résultats sont conformes aux travaux de **Zablotowicz et al., (2004)** ; **Singh (2008)**. Selon **Forlani et al., (1999)** ; les microorganismes procaryotes interviendraient durant la première étape du processus de dégradation de ces molécules.

Concernant l'effet de la bioaugmentation de l'herbicide sur l'évolution et la production de GLU, β -glucosidase, l'analyse de variance a un facteur (herbicides - l'inoculum) révèle l'existence de différence hautement significative au plan de l'activité enzymatique entre les systèmes (sol - herbicides - bactérie). (**AnnexeII**)

I .5. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par *Bacillus mycoides* sur l'évolution et la production de FDA dans le sol

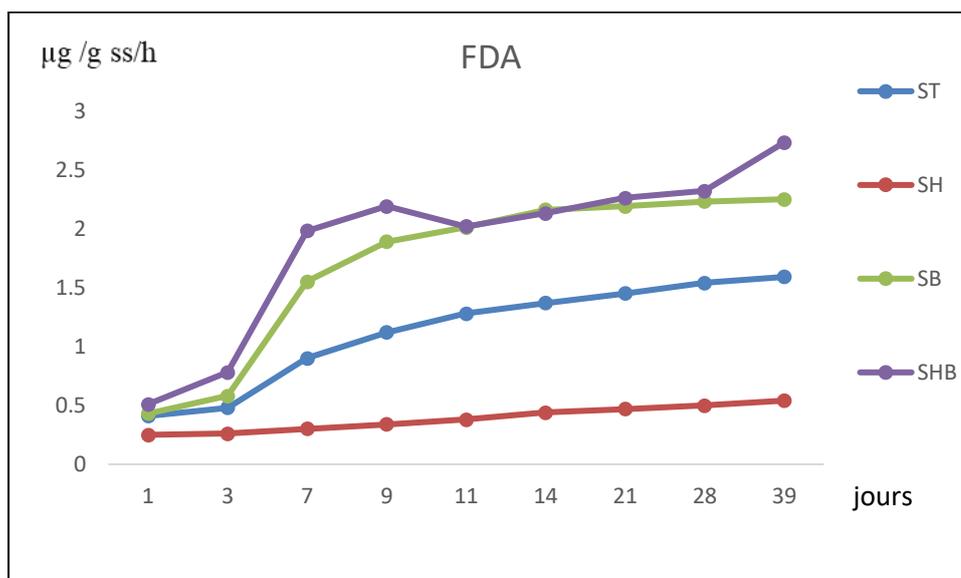


Figure 10 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de FDA.

Le graphique représente l'effet de bioaugmentation de glyphosate sur l'activité enzymatique de FDA pendant 39 jours. D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans la figure (fig. 10), il ressort que la quantité de l'activité de l'amylase la plus élevée est observée dans le traitement SHB comparativement à celle notée sous l'effet de bactérie.

Après 39 jours d'incubation, il est noté les quantités de l'amylase comme suit :

- 0.54µg /g ss/h dans le système sol-herbicide ;
- 1.59µg /g ss/h dans le système sol seul ;
- 2.25µg /g ss/h dans le système sol + bactérie ;
- 2.73µg /g ss/h dans le système sol + herbicide + bactérie.

Cette augmentation de FDA est due essentiellement à l'apport de microorganismes sous forme d'inoculum lesquels a favorise une meilleure activité enzymatique. Confirmant quelque peu les travaux de **Shaw et al., (2004)** et **Zhang et al., (2010)**, qui ont fait ressortir une stimulation de FDA dans des sols traites par les herbicides.

Concernant l'effet de la bioaugmentation, l'analyse de variance a un facteur (herbicides - l'inoculum) révèle l'existence de différence significative au plan de l'activité enzymatique entre les systèmes (sol - herbicides - l'inoculum). (**Annexe II**)

I.6. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par *Bacillus mycooides* sur l'évolution de l'uréase sol :

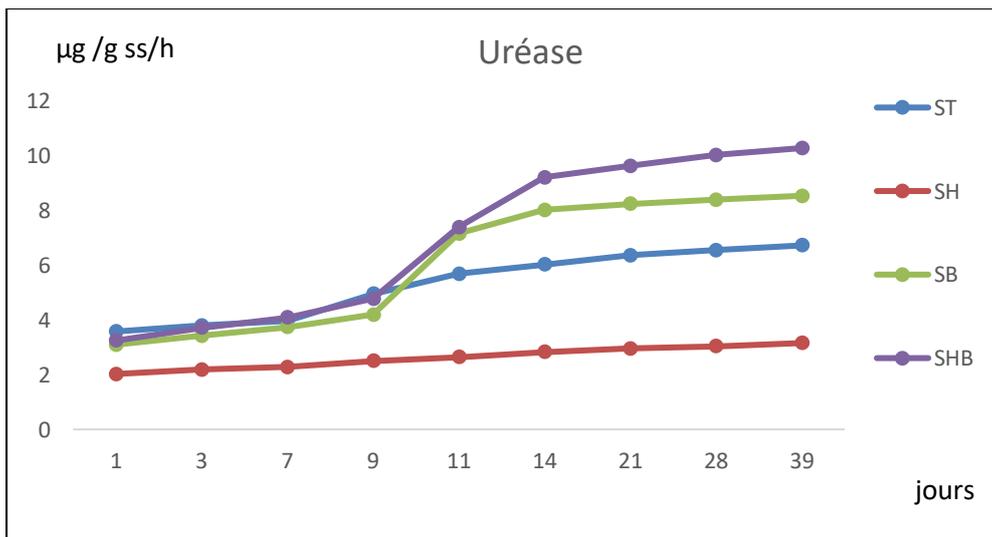


Figure 11 :Effet d'une bioaugmentation du glyphosatesur l'évolution de l'uréase.

Le graphique représente l'effet de bioaugmentation de glyphosate sur l'activité enzymatique de l'amylase pendant 39 jours. D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans la figure n (**fig. 11**), il ressort que la quantité de l'activité de l'amylase la plus élevée est observée dans le traitement SHB comparativement à celle notée sous l'effet de bactérie. Après 39 jours d'incubation, il est noté les quantités de l'amylase comme suit :

- 3.15 μ g /g ss/h dans le système sol-herbicide ;
- 6.71 μ g /g ss/h dans le système sol seul ;
- 8.52 μ g /g ss/h dans le système sol + bactérie ;
- 10.52 μ g /g ss/h dans le système sol + herbicide + bactérie.

Durant une période expérimentale de 39 jours d'incubation à 30°C dans le sol de Boufarik, nous notons une différence remarquable au plan de l'intensité de l'uréase entre les différents traitements expérimentaux. Cette activité enzymatique est plus élevée dans les sols additionnés l'herbicide + la bactérie (SHB).

Ce qui concerne le rythme, La courbe SH montre que l'activité enzymatique de l'uréase a une évolution lente, on observe dans les courbes ST, SB et SHB une évolution timide et convergente de 1^{ier} à 7^{ème} jour, puis on remarque une bonne augmentation de 9^{ème} jour jusqu'à le dernier jour. L'activité de l'uréase dans le SHB est plus grande par rapport à ST et SB.

On remarque aussi que le résultat dans la figure (**fig11**) révèle un effet nocif de l'herbicide glyphosate sur les l'activité de l'uréase des microorganismes telluriques. Cette résultat a été notée par **Martensson (1993)** en employant comme biocide le 2.4-D (50 mg / kg) ; cet herbicide réduit, selon cet auteur, l'activité de l'uréase et de la protéase responsables de la minéralisation de l'azote. L'augmentation de l'uréase dans le SHB due à la présence du l'herbicide et la bactérie car cette dernière utilise le glyphosate comme source de vie et ce qui stimule la bactérie à augmenter l'activité enzymatique du l'uréase.

L'analyse de la variance montre que la bioaugmentation des sols traités par les herbicides améliore très hautement significativement la production de l'uréase dans le sol de Boufarik traité par glyphosate. (**Annexe II**)

I.7. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par *Bacillus mycooides* sur l'évolution de N-acétylglucosaminase (NAG) dans le sol :

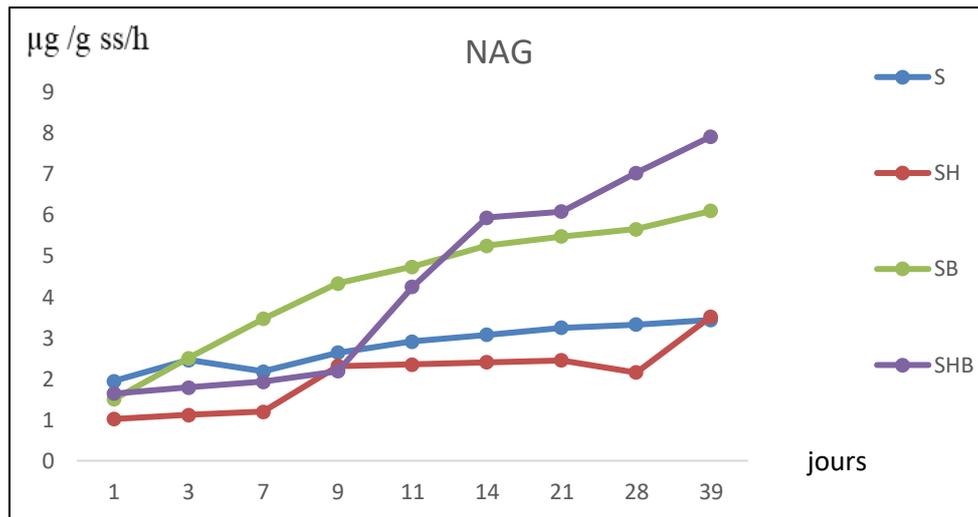


Figure 12 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de N-acétylglucosaminase.

Le graphique représente l'effet de bioaugmentation de glyphosate sur l'activité enzymatique de N-acétylglucosaminase pendant 39 jours. D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans la figure n (**fig. 12**), il ressort que la quantité de l'activité de l'amylase la plus élevée est observée dans le traitement SHB comparativement à celle notée sous l'effet de bactérie.

Après 39 jours d'incubation, il est noté les quantités de l'amylase comme suit :

- 3.52µg /g ss/h dans le système sol-herbicide ;
- 3.44µg /g ss/h dans le système sol seul ;
- 6.1µg /g ss/h dans le système sol + bactérie ;
- 7.92µg /g ss/h dans le système sol + herbicide + bactérie.

L'examen des résultats (**fig12**), obtenus sur une période de 39 jours d'incubation, révèle que l'inoculation des systèmes sol - herbicide par une souche de *Bacillus mycoides* provoque une augmentation de la libération de la **N-acétylglucosaminase**. De ce fait, la bioaugmentation des systèmes S1 - herbicides par la souche de *Bacillus mycoides* accroît la densité bactérienne et permet aux microorganismes de dégrader les herbicides (glyphosate). Cet effet positif de la bioaugmentation des sols traités par les herbicides a été noté par **Bellinaso, (2003) ; Bollag J. M, (2010) et Cosgrove, (2010)**.

L'examen des courbes (**fig12**), fait ressortir l'existence de plusieurs phases dans la cinétique de l'activité enzymatique de NAG. Cependant, nous remarquons un effet positif de *Bacillus*

mycoides durant La période allant de 7 à 14 jours sur la nitrification. Les quantités atteignent 5.94 et 5.25 dans le système « SHB » et le système « SB », alors qu'elles ne sont que 2.41 et 3.08 dans le traitement « SH» et le traitement « S » respectivement. Au-delà du 14ème jours, nous notons une diminution des quantités de NAG jusqu'au le dernier jour (39).

Des résultats similaires ont été notés par **Przybulewska et Taborska., (2008)** qui ont montré que **Latha et Gopal., (2010)** et **Šantrić et al., (2014)**, observèrent dans leurs études de bioaugmentation en laboratoire une stimulation de l'activité bactérienne protéolytique dans les sols traités par le pyrazosulfuron-éthyle. Aussi, **Berlemontetal., (2014)**, montrèrent que le nicosulfuron stimule l'activité de la β -glucosidase et de la protéase dans un sol limoneux inoculé par une *Rhizobium*.

L'étude statistique basée sur l'analyse de variance a un facteur, révèle l'existence de différence hautement significative au plan de la production des N-acétylglucosaminase entre les différents systèmes sol -herbicides - *Bacillus mycoides*. (**Annexe II**)

I.8. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par *Bacillus mycoides* sur l'évolution de phosphatase acide dans le sol

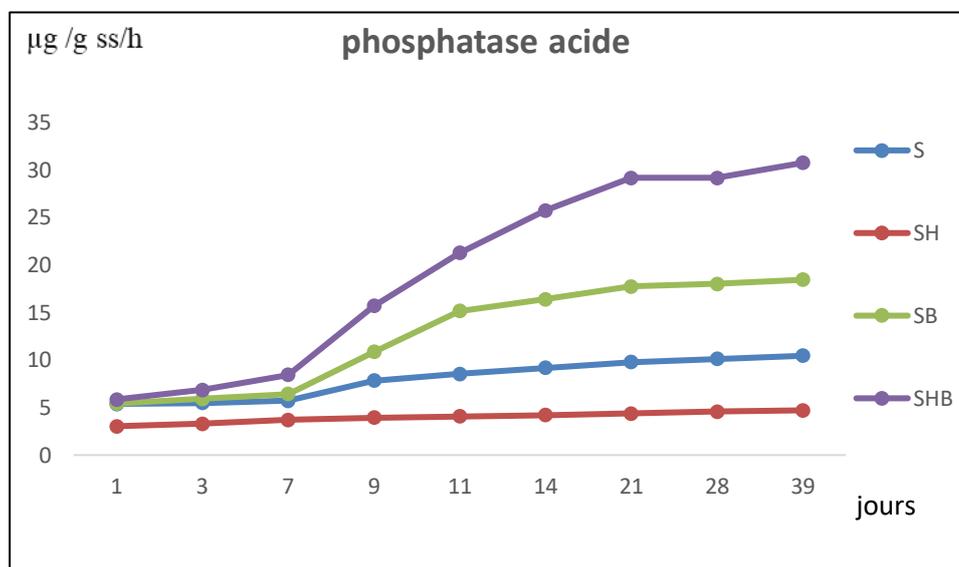


Figure 13 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de phosphatase acide.

Le graphique représente l'effet de bioaugmentation de glyphosate sur l'activité enzymatique de phosphatase acide. Pendant 39 jours. D'après les résultats obtenus, qui sont représentés

dans la figure (**fig. 13**), il ressort que la quantité de l'activité de l'amylase la plus élevée est observée dans le traitement SHB comparativement à celle notée sous l'effet de bactérie.

Après 39 jours d'incubation, il est noté les quantités de l'amylase comme suit :

- 4.7 μ g /g ss/h dans le système sol-herbicide ;
- 10.73 μ g /g ss/h dans le système sol seul ;
- 18.42 μ g /g ss/h dans le système sol + bactérie ;
- 30.71 μ g /g ss/h dans le système sol + herbicide + bactérie.

Il ressort de ces résultats qu'une amélioration notable de l'intensité microbienne a été observée dans le système SHB. Cela est due à une de synthèse de métabolites acides et de phosphatases microbienne qui mobilisent davantage le phosphore dans les sol traité selon des processus acidolytiques, complexolytiques et enzymatiques (**Kosaric et al ., 2001**).

Selon les travaux de **Rahmansyah et al., (2009) ; Zhang et al., (2010) ; Mousumi et al., (2014) ; Olawale et Akintobi., (2011)**, il est noté que la bactérie *Pseudomonas sp.* PG 2982 intervient activement dans la dégradation du Glyphosate en sarcosine puis en glycine. Aussi, il est noté un accroissement de l'activité enzymatique ACP et ALP dans les sols traités par les herbicides que dans les sols non traités.

L'augmentation de phosphatase acide dans le SHB due à la présence du l'herbicide et la bactérie, car cette dernière utilise le glyphosate comme source de phosphore et ce qui stimule la bactérie à augmenter l'activité enzymatique.

L'étude statistique basée sur l'analyse de variance révèle l'existence de différence hautement significative au plan de la phosphatase acide entre les différents systèmes sol (S-herbicides - l'inoculum). (**Annexe II**)

I.9. Effet d'une bioaugmentation du glyphosate par *Bacillus mycoides* sur l'évolution de phosphatase alcaline dans le sol :

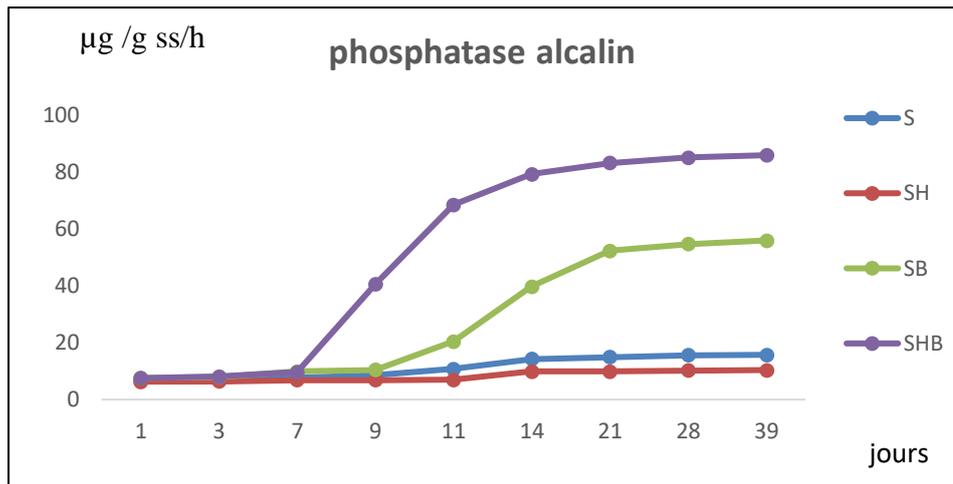


Figure 14 : Effet d'une bioaugmentation du glyphosate sur l'évolution de phosphatase alcalin.

Le graphique représente l'effet de bioaugmentation de glyphosate sur l'activité enzymatique de phosphatase alcalin pendant 39 jours. D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans la figure (**fig. 14**), il ressort que la quantité de l'activité de l'amylose la plus élevée est observée dans le traitement SHB comparativement à celle notée sous l'effet de bactérie.

Après 39 jours d'incubation, il est noté les quantités de l'amylose comme suit :

- 10.38µg /g ss/h dans le système sol-herbicide ;
- 15.73µg /g ss/h dans le système sol seul ;
- 55.95µg /g ss/h dans le système sol + bactérie ;
- 85.91µg /g ss/h dans le système sol + herbicide + bactérie.

Durant une période expérimentale de 39 jours d'incubation à 30°C dans le sol de Boufarik, Nous notons que les quantités de phosphatase alcalin obtenus sous l'action de *Bacillus mycoides* dans les systèmes SHB et SH sont supérieurs à ceux notés dans les systèmes témoins (SH et ST).

Nous notons une différence importante au plan de l'intensité de phosphatase alcalin entre les différents traitements expérimentaux. Aussi, les interactions entre le glyphosate et la bactérie inoculée sont prononcées dans le sol et se traduisent par une plus grande libération de ALP en comparaison avec le système témoin ; c'est l'effet positif de la bioaugmentation par la souche *Bacillus mycoide*. Ceci concorde avec les travaux de **Gimsing et al., (2004)** et **Zabaloy et al. (2008)** par les quels il est noté une forte corrélation entre les bactéries du genre *Pseudomonas* et la dégradation de l'herbicide glyphosate dans cinq types de sol différents. Aussi, ils ont

remarqué une élévation de l'activité enzymatique d'ALP et d'ACP dans les sols cultivables trois jours après l'application d'herbicides.

L'augmentation de phosphatase alcalin dans le SHB due à la présence du l'herbicide et la bactérie car cette dernière utilise le glyphosate comme source de phosphore et ce qui stimule la bactérie à augmenter l'activité enzymatique.

L'étude statistique basée sur l'analyse de variance a un facteur (*Bacillus mycoides*) révèle l'existence de différence hautement significative au plan de la production de phosphatase alcalin entre les différents systèmes sol (S - herbicides - l'inoculum). (**AnnexeII**)

Conclusion :

Grâce à la biotechnologie et l'exploitation de bioremédiation on a découvert qu'il existe dans le sol des microorganismes qui dégradent ces polluants et les utilisés dans les cycles biogéochimiques (minéralisation) pour leur croissance et pour la nutrition végétale.

L'objectif de ce travail était d'étudier l'effet de la biodégradation du glyphosate sur l'évolution et la production de neuves activités enzymatiques dans le sol de Boufarik traités par un herbicide. A cet effet, nous avons employé, comme méthodes d'étude la technique d'incubation simple des sols en boîte en condition de laboratoire en vue d'étudier le rôle d'une souche bactérienne dans la dégradation d'un herbicide et leurs l'impact sur l'amélioration des quantités de l'activité enzymatique dans le sol de Boufarik.

Les résultats obtenus révèlent une variabilité significative de l'évolution des activités enzymatiques dans les différents systèmes expérimentaux (ST, SH, SB et SHB). Il ressort globalement de cette investigation :

- une l'influence négatif de glyphosate sur les neuves activités enzymatiques (phosphatase acide, phosphatase alcaline, l'amylase, N-acétyle glucosaminase, β -glucosidase, l'uréase, diacétate de fluorescéine, xylanase et cellulase) qui se traduit par la réduction de la concentration de ces activités vis-à-vis un témoin sans herbicide dans le sol du périmètre irrigable de Mitidja.
- La biodégradation de l'herbicide glyphosate par *Bacillus mycooides* dans le sol de Boufarik, leurs effets sont positifs et favorables, cette bactérie provoque une amélioration de l'activité enzymatique. Ce qui concerne ACP, ALP, AMY, NAG, GLU, URE, FDA, XYL, CEL, ses quantités accumulées produite augmente dans le sol inoculé.
- La biostimulation de cette microflore exerce un effet positif plus accentué dans le système « sol-glyphosate-bactérie » vis-à-vis le système «sol-bactérie» sur les activités enzymatiques, c'est-à-dire la présence de *Bacillus mycooides* montre que le pouvoir de la dégradation de glyphosate est plus élevé et cette dernière agisse sur les activités enzymatiques en provoquant une bonne augmentation, car la bactérie utilise le glyphosate comme source carbone, d'énergie, d'azote et de phosphore. Donc on peut dire qu'il y a une relation directe entre la biodégradation et les activités enzymatiques.

Les recherches et les études futures devraient aborder approfondissement ce thème pour bien exploiter les facteurs de bioaugmentation et l'effet sur les activités enzymatiques. Ainsi pour les techniques, L'utilisation de nouvelles approches moléculaires comme la PCR pour l'étude des communautés de microorganismes. Et il faut faire le dosage de glyphosate par une méthode de marquage isotopique dans un dispositif radiorespirometrique.

Les références

- Abdelly C., 2007** .Bioremédiation / Phytoremédiation SN 232.Institut supérieur de l'éducation et de la formation continue. Départements des sciences naturelles. Université de tunis.p32.
- Aouinti Imane et Bachene Meriem., 2019.**Activités enzymatiques des bactéries Isolées à partir des sols riches en Matières organiques en décomposition. Mémoire, Départements des Sciences Biologiques, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi – B.B.A -.p 1-18.
- Aroun E., 2001.**variation diachronique saisonnier de la végétation dans la zone saharienne.
- Asmaâ Agoussar1, Hervé Van Der Heyden 2, George Szatmari1. 2017.** Département de Microbiologie, Immunologie, Université de Montréal, C.P. 6126, Succ. Centre-Ville, Montréal QC, H3C 3J7, Canada 2 Phytodata Inc., 111 Rang Saint Pierre E, Sherrington, QC J0L 2N0 (Pesticides effect on the bacterial diversity of agricultural fields, and the ability of bacteria to degrade them.)
- Badiane N, Chotte J.L.Pate E, Masse D, CRouland., 2001.**Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. *AppliedSoilEcology*. Pages 229-238
- Baize D., 1995.** Guide pour la description des sols, INRA Editions.
- Bécaert, V., Samson, R., Desche^nes, L., 2006.** Effect of 2,4-D contamination on soil functional stability evaluated using the relative soil stability index (RSSI). *Chemosphere* 64, 1713–1721.
- Bellinaso MD, Greer CW, Peralba M., 2003.** Biodegradation of the herbicide trifluralin by bacteria isolated from soil. *FEMS Microbiol Ecol* 43 ; 191 6 194.
- Benmahdi F., 2008-** Etude de la rétention d'un herbicide dans un sol agricole. Mémoire de magister Option Chimie de l'eau, dessalement et environnement, Faculté des sciences, Département de chimie, Université du Colonel Hadj Lakhdar- Batna, 116 p.).
- Bernard Godden., 1998.**L'activité microbiologique des sols. ProductionVégétale et fertilisation. 12 p
- Bollag J. M., 2010.** “Decontamination of soils through immobilization of anthropogenic organics by biotic and abiotic catalysts,” in *Molecular Environmental Soil Science at the Interfaces in the Earth's Critical Zone*, J. Xu and P. M. Huang, Eds., pp. 182–183.
- Bonneau et Souchier. B., (1979)** - constituant et propriétés du sol, tome II, MASSON et CIE, Paris, 459p.

Borggaard, O.K. and Gimsing, A.L. 2008. Fate of Glyphosate in Soil and the Possibility of Leaching to Ground and Surface Waters: A Review. *Pest Management Science*, 64, 441-456. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.1512>

Boschetto G., 2013- Evaluation de la pertinence de l'utilisation des herbicides en lien avec le développement durable. Maitrise en environnement, Essai présenté au centre universitaire de formation en environnement, Université de Sherbrooke, 86 p.

Calvet R; E. Barriuso; C. Bedos; P. Benoit; M.-P Charnay; Y. Coquet., Calvet., R, Barriuso., E, bedos., C, Benoit., P, Charnaym., P et Coquet., Y 2005. Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales. Edition France Agricole, 637p.

Campbell C.A.et Zentner R.P. 1993. Soil Organic Matter as influenced by crop rotation and fertilizer. *SoilSci. Soc. Am. J.* 57 : 1034-1040.)

Carmen D, Elena B, Tiziana S et Giuseppe P ., 2002. la forme de la colonie en tant que trait génétique chez le *Bacillus mycoides* à la formation de motifs.

CCME : Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement., 2012- Recommandations canadiennes pour la qualité des eaux : protection de la vie aquatique – Glyphosate. Conseil canadien des ministres de l'environnement, p 4-9.

Cervelli S, Nannipieri P, Giovannini G, Perna A., 1976. Relationships between substituted urea herbicides and soil urease activity. Pages 365-368

Cheloufi R., H. Messaadia and H. Alayat. 2016. the Bio-Augmentation of Glyphosate and 2, 4- D by *Pseudomonas Aeruginosa* in Two Soil Types of the Bou Namoussa' Irrigable Perimeter (Algerian Extreme Northeast): Effects on Bioavailability of Assimilable Phosphorus (P₂O₅) and Nitrates (NO₃-). *Advances in Environmental Biology*, 10 (4); 140 – 148. 98.

Cheloufi R., H. Messaadia, H. Alayat. 2017 a. Biodegradation of Herbicides by *Pseudomonas aeruginosa* in two Soils Types of the Bou Namoussa irrigable perimeter (Algerian Extreme Northeast): Effects on mineral nutrition (P₂O₅ and NO₃-). *JMES*, Volume 8, Issue 7, Page 2513-2521.

Christiane Jarrige, bio le 26-11-2009.

Cirad-Ca GecAmatrop., 2000- Les herbicides, Document obtenu sur le site Cirad du réseau [http : agroecologie.cirad.fr](http://agroecologie.cirad.fr), p 1-7. Consulter le 13-04-22.

Clément Mathieu. , 2020. Le sol, l'épiderme vivant de notre plante. (Consulte le 30.04.22).

Cosgrove L., P. L. McGeechan, P. S. Handley, and G. D. Robson. 2010. Effect of biostimulation and bioaugmentation on degradation of polyurethane buried in soil," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 76, no. 3, pp. 810–819

Dari. R., 2013. Dénombrement de la biomasse microbienne des sols arides exemple d'un sol salé sous deux Types de cultures. Mémoire de stage pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en sciences Agronomiques. Université KasdiMerbah – Ourgla. Pp 4-26.

Davet P., 1996- Vie microbienne du sol et production végétale. Edition : Institut National de la Recherche Agronomique, rue de l'Université- Paris Cedex, p 125.) Levadoux, vignen1961, p.97.

De Prado R, Tena M et Pinilla JA., 1982. Etude des activités phosphatasiques du sol : effets de pH et de certains herbicides. *Chemosphere*, vol 11, pp 451-458.

Dick, T., Ray, K., Salz, H.K., Chia, W. (1996). Cytoplasmic dynein (ddlc1) mutations cause morphogenetic defects and apoptotic cell death in *Drosophila melanogaster*. Distinct functional units of the Golgi complex in *Drosophila* cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102(38): 13467--13472.

Duchaufour Ph. et Blum W., 2001- Introduction à la science du sol (sol, végétation, environnement). 6^e édition de l'Abrégé de pédologie, Dunod, Paris, p 10-42.

Duchaufour Ph., 1991- Pédologie : sol, végétation et environnement. Edition Masson, Paris, 330 p.

E. Kandeler et H. Gerber. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils*. 6, pages68–72

Eric C., 2017. Glyphosate : d'une découverte oubliée à la molécule la plus utilisée au monde.

F. Fernandes., 2014. Effects of Organic and Conventional Management of Sugar Cane Crop on Soil Physicochemical Characteristics and Phosphomonoesterase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 1456–1463.

Fiedoruk K, Drewnowska JM, MahillonJ, Zambrzycka M, Swiecicka I., 2021. Pan-genome portrait of *Bacillus mycoides* provides insights into the species ecology and evolution. *Microbiol Spectr* 9:e00311-21.p 3-10.

Flügge C., 1886. MIKEOORGANISMEN. VEELAGr VON F. C.W. VOGEL.

Forlani G, Mangragalli A, Nieslsen E et Suardi G. M.1999. Degradation of the phosphonate herbicide Glyphosate in soil; evidence for a possible involvement of inculturable microorganisms. *Soilbiology and biochemistry*, 991 – 997

France AGRICOLE. 637 p.

Fu G. M., Li R. Y., Hu M., Yuan X. Q., Li B., Wang F. X., Liu C. M. & Wan Y., (2016), Gama A., Yann D. et Henri F., 2006- Utilisation des herbicides en forêt et gestion durable, Ministre de L'Agriculture et de la pêche, Département de la santé des forêts et de l'Office national des forêts (ONF), Edition Quae, 240 p.)

Gauvrit C., 1996- Efficacité et sélectivité des herbicides. Institut National de la Recherche Agronomique, Editions Quae, 3^{ème} Edition, Paris Cedex, p1-10.

Gimsing, A.L., Borggaard, O.K, Jacobsen., O.S, Aamand., J, and Sorensen., J, 2004. Chemical and microbiological soil characteristics controlling glyphosate mineralization in Danish surface soils. *Applied Soil Ecology*, 2, pp. 233-242. DOI:10.1016/j.apsoil.2004.05.007.

Green V.S., Stott D.E. and Diack M., 2006. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 693-701.

Hazel A. Davies et M. P. Greaves., 1981. Effects of some herbicides on soil enzyme activities. *Agricultural Research Council Weed Research Organization. Begbroke Hill. Yarnton. Oxford. Weed Research*, Volume 21. 205-209.

James V, James H, Marie L.L David W., 2011. Manuel de microbiologie clinique 10^éditions.

Karki A. B, L. Coupin, P. Kaiser et M. Moussin., 1973. *Service de Microbiologie du Sol, Institut Pasteur. France. Weed Research*, Volume 13, 133-139.

Kermiche. M., 2013. Caractérisation de certaines souches microbiennes évoluant dans le blé fermenté et Mise en évidence de leurs activités enzymatiques. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires (I.N.A.T.A.A.). Université Constantine I. p 14.

Kersanté A., 2003- Rôle régulateur de la macrofaune lombricienne dans la dynamique de l'herbicide atrazine en sol cultivé tempéré, Thèse de doctorat, Option : Biologie, Ecole Doctorale Vie-Agro-Santé, U.F.R. Sciences de la Vie et de l'Environnement, l'Université de Rennes 1, 201 p.

Khelil. O., 2017. Production de cellulase et d'enzymes associées par des souches de : Le rôle des Prétraitements et l'effet des polyphénols, des flavonoïdes et des biosurfactants. Thèse de doctorat en Biotechnologie Végétale. Université Mohamed Boudiaf – Oran, p 14.

Kosaric N., 2001. "Biosurfactants and their application for soil bioremediation," *Food Technology and Biotechnology*, vol. 39, no. 4, pp. 295–304.

Laabs V ; Amelung, W; Pinto A; Zech W. 2002. Fate of Pesticides in Tropical Soils of Brazil. *Journal of environmental quality*, 31 p.

Lagacherie, P., Diot, O., Domange, N., Gouy, V., Floure, C., Kao, C., Moussa, R., Robbez-Masson, J., Szleper, V., 2006. An indicator approach for describing the spatial variability of artificial stream networks with regard to herbicide pollution in cultivated watersheds. *Ecological Indicators* 6, 265–279.

Latha, P.C. & Gopal, H. 2010. Influence on cellulolytic, proteolytic and phosphate solubilising bacteria. *International Journal of Plant Protection*, 3, 83-88.

Leprun J.C. 1988. Matière organique et conservation des sols, exemple brésilien. Cahier OROSTOM, série pédologie. Vol. XXIV. N°4. Page 333-334.)

Maisonneuve et Larouse., 1988. Le désherbage des cultures triopicales.

- Mamy L., 2004-** Comparaison des impacts environnementaux des herbicides à large spectre et des herbicides sélectifs : Caractérisation de leur devenir dans le sol et modélisation. Thèse de doctorat, Institut National Agronomique, Paris-Grignon, 357 p.
- Mathieu C. et Pielain F., 2003-** Analyse chimique des sols, Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 380 p.
- Molenat J., 1998-** Les sols du Midi se dégradent. Les pesticides : réglementation et effet sur la santé et l'environnement, maison de consommation et de l'environnement. Inst. Nat. Polytechnique de Toulouse. 108 p.
- Monard C, Binet F, Vandenkoornhuysen P. 2008a.** Short-term response of soil bacteria to carbon enrichment in different soil microsites. *Appl Environ Microbiol.*; 74:5589–5592.
- Mousumi G., P. Niladri, D. Suprakash, K. P. Prasanta, P. H. Murari and M. Debatosh, 2014.** Pesticides jiggling microbial transformation of phosphorus in soil. 8(7): 637-643, Academic Journals. <http://www.academicjournals.org/AJMR>.
- Nannipieri, 2004.** Microbial diversity in soil: ecological theories, the contribution of molecular techniques and the impact of transgenic plants and transgenic microorganisms. *Biology and Fertility of Soils.* 40, 363-385.
- Nasseri, S., Rezaei Kalantary, R., Nourieh, N., Naddafi, K., Mahvi, A.H., et Baradaran, N., 2010.** INFLUENCE OF BIOAUGMENTATION IN BIODEGRADATION OF PAHs-CONTAMINATED SOIL IN BIO-SLURRY PHASE REACTOR. *Iran J Env. Health Sci Eng* 7, 199–208.
- Neuweiler R., 2009-** Optimisation de la tolérance des cultures aux herbicides, Station de recherche Agroscope Changins- Wädenswil ACW, Département fédéral de l'économie. Confédération Suisse, Information Cultures Maraîchères n° 15, 3 p.
- Nongthombam S., H. Nayek and A. C. Das. 2009.** Effect of anilofos and pendimethalin on the mineralization of carbon and nitrogen in a haplustept soil of west bengal. *Journal of crop and weed*, 5(1): 206-212
- Ouedraogo J., H. B. Nacro, E. Ouedraogo, S. Youl et M. P. Sedogo, 2014.** Amélioration de la disponibilité du phosphore par la gestion de la macrofaune du sol : cas d'un lixisol en zone semi-aride du Burkina Faso. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8(4): 1838-1846, August 2014. <http://indexmedicus.afro.who.int>.
- Philippe Garcelon., 2016.** Les collemboles. Adapté à partir d'un croquis issu de « le sol union de la matière organique et minéral » Patrick .Hautefeuille - ingénieur agronome-2017.
- Pierre L., David K., Guillaume M., Noémie G., Lina D., Arnaud F., 2020.** Fourrage Mieux. Les herbicides.

Przybulewska, K. & Taborska, J. 2008. An attempt to determine the resistance of microorganisms from triazine-contaminated soils. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 15, 359-374.

Purcena Luiza L. A, Maria Carolina B. Di Medeiros, Wilson M. Leandro, and Katia

Quentin Mauguit. ,2014 . Agriculture, Aquaculture et Pêches new nouveau Brunswick Canada.

Rahmansyah M., S. Antonius and N. Sulistinah, 2009. Phosphatase and urease instability caused by pesticides present in soil improved by grounded rice straw. *ARNP J. Agric. Biol. Sci.* 56-62.

Richer de Forges A., Feller C., Jamagne M. et Arrouays D., 2008- Perdus dans le triangle des textures, *Etude et Gestion des Sols INRA, Montpellier Cedex*, Vol. 15, p 98.

Robles-Gonzalez I., E. Rios-Leal, R. Ferrera-Cerrato, F. Esparza-García, N. Rinderknecht-Seijas and H. M. Poggi-Varaldo. 2006. Bioremediation of a mineral soil with high contents of clay and organic matter contaminated with herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid using slurry bioreactors: Effect of electron acceptor and supplementation with an organic carbon source. *Process Biochemistry*, 1951– 1960.

Rocher F., 2004. Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : évaluation de la systémie phloémienne de nouvelles molécules à effet fongicides et d'activateurs de réactions de défense. Thèse de doctorat, Faculté des sciences fondamentales et appliquées, Ecole doctorale : Ingénierie chimique, biologique et géologie, p 9.

Roula M., 2009. Evaluation du risque de contamination des légumes par les résidus de pesticides. Mémoire de magister, Option : Eco-toxicologie, Faculté des sciences, Département d'Ecologie et Environnement, Université de Jijel, 118 p.

Sanchez monedero M.A., Mondini C., Cayuela M.L., Roig A., Contin M., De Nobili M., 2008. Fluorescein diacetate hydrolysis, respiration and microbial biomass in freshly amended soils, *Biology and Fertility of Soils*, 44, 885-890.

Scheiner Javier David., 2005. Spéciation du Carbone, de l'Azote et du Phosphore de différentes boues de stations d'épuration au cours de leurs incubations contrôlées dans deux types de sol. Thèse De Doctorat de l'INP de Toulouse, Spécialité : Agronomie. 218 p

Schellenberger, S., Drake, H.L. et Kolb, S., 2012. Impairment of cellulose and cellobiose-degrading soil Bacteria by two acidic herbicides. *FEMS Microbiology Letters*, 327, 60-65.

Schnurer Johan et Rosswall Thomas., 1982. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter, Department of Microbiology, Swedish University of Agricultural Sciences. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, vol 43, p. 1256-1261.

Shaw L.J. and R.G. Burns, 2004. Enhanced mineralization of [U-(14) C] 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in soil from the rhizosphere of *Trifolium pratense* . *Appl Environ Microbiol*, 4766-4774

Soltner D., 1992. Les Bases De La Production Végétale. Tome 1 : Le Sol. Collection Sciences Et Techniques Agricoles, 19è Edition, Sainte Gemmes Sur Loire).

SP Deng, MA Tabatabai , 1994. Cellulase activity of soils. *Soil Biology and Biochemistry*. Pages 1347-1354

Stefano Cervelli, Paolo Nannipieri, Giacomo Giovannini et Amalia Perna., 1976. Relationships between substituted urea herbicides and soil urease activity. *Laboratorio per la Chimica del Terreno, Via Comdoni 78, 56100 PISA, Italy .Weed Research*, Volume 16, 365-368.

Stenggel P., 2009. Le Sol. Éditorial. Institut Des Sciences De La Terre D'orléans.P 75.).

Stratford JP, Woodley MA, Park S., 2013. Variation in the Morphology of *Bacillus mycoides* Due to Applied Force and Substrate Structure. *PLoS ONE* 8(12) : E81549. Doi : 10.1371/journal.pone.0081549 Editor : Etienne Dague, LAAS-CNRS, France.

Sviridov A. V., Shushkova T.V., Ermakova I. T., Ivanova E. V., Epiktetov D. O. &Leontievsky A. A., (2015), Microbialdegradation of glyphosate herbicides (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 51(2), 183-190.

Sviridov A. V., Shushkova T.V., Zelenkova N.F., Vinokurova N. G., Morgunov I. G., Ermakova I. T. & Leontievsky A. A., 2012 .Distribution of glyphosate and methylphosphonate catabolism systems in soil bacteria *Ochrobactrum anthropi* and *Achromobacter* sp, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(2), 787-796.

Sviridov, A.V., Shushkova, T.V., Ermakova, I.T., Ivanova, E.V., Epiktetov, D.O. et Leontievsky, A.A., 2015. Microbial degradation of glyphosate herbicides (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 51(2), 188-195.

Yuli Andriani, Emma Rochima, Ratu Safitri, and Sri Rejeki Rahayuningsih., 2017. “Characterization of *Bacillus megaterium* And *Bacillus mycoides* Bacteria as Probiotic Bacteria in Fish and Shrimp Feed” in 2nd International Conference on Sustainable Agriculture and Food Security: A Comprehensive Approach, KnE Life Sciences, pages 127–135.

Zaatout F., 2011. Cartographie Pédopaysagique De Synthèse Par Télédétection ; Cas De L'écosystème Steppique Du Sud De La Wilaya De Tlemcen. *Mém.Ing .Dép.Agro., Fac.Sci.,Univ.,Tlemcen*. 46 P.

Zhang, C., Song, Y., Thompson, D.A., Madonna, M.A., Millhauser, G.L., Toro, S., Varga, Z., Westerfield, M., Gamse, J., Chen, W., Cone, R.D., 2010.Pineal-specific agouti proteinregulatesteleost background adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(47): 20164-71

Annexes

Annexe I :

Calcule de la moyenne (amylase)

| | ST | SH | SB | SHB |
|----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| 1 | 3,08 | 2,94 | 3,08 | 3,13 |

| | | | | |
|-----------|------|------|-------|-------|
| 3 | 3,51 | 3,08 | 3,31 | 3,6 |
| 7 | 5,12 | 3,24 | 3,91 | 4,69 |
| 9 | 6,56 | 3,59 | 10,42 | 17,81 |
| 11 | 6,81 | 3,74 | 12,65 | 25,48 |
| 14 | 6,95 | 3,85 | 13,3 | 28,56 |
| 21 | 7,25 | 3,96 | 13,88 | 29,44 |
| 28 | 7,56 | 4,02 | 14,53 | 30,27 |
| 39 | 7,75 | 4,13 | 14,99 | 31,75 |

Calcul de la moyenne (xylanase)

| | ST | SH | SB | SHB |
|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| 1 | 0,36 | 0,52 | 0,35 | 0,5 |
| 3 | 0,69 | 0,76 | 1,06 | 0,87 |
| 7 | 1,07 | 0,93 | 2,67 | 1,25 |
| 9 | 1,66 | 1,08 | 3,58 | 4,09 |
| 11 | 1,99 | 1,21 | 3,92 | 5,86 |
| 14 | 2,07 | 1,41 | 4 | 6,13 |
| 21 | 2,15 | 1,5 | 4,22 | 6,54 |
| 28 | 2,21 | 1,6 | 4,87 | 6,64 |
| 39 | 2,28 | 1,68 | 5,16 | 6,7 |

Calcul de la moyenne (cellulase)

| | ST | SH | SB | SHB |
|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| 1 | 1,07 | 0,88 | 1,07 | 1,11 |
| 3 | 1,22 | 0,92 | 1,23 | 1,21 |
| 7 | 1,44 | 0,93 | 2,36 | 1,53 |
| 9 | 1,77 | 0,97 | 2,97 | 1,96 |
| 11 | 1,95 | 0,99 | 3,15 | 3,28 |
| 14 | 2,06 | 1,02 | 3,23 | 4,97 |
| 21 | 2,36 | 1,19 | 3,29 | 5,03 |
| 28 | 2,44 | 1,05 | 3,36 | 5,23 |
| 39 | 2,56 | 1,06 | 3,42 | 5,6 |

Calcul de la moyenne (β -glucosidase)

| | ST | SH | SB | SHB |
|----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| 1 | 1,23 | 1,01 | 1,94 | 1,63 |
| 3 | 1,89 | 1,12 | 1,94 | 1,63 |

| | | | | |
|-----------|------|------|------|-------|
| 7 | 2,3 | 1,23 | 2,92 | 1,95 |
| 9 | 3,2 | 1,43 | 4,48 | 2,18 |
| 11 | 3,59 | 2,02 | 5,5 | 5,99 |
| 14 | 3,92 | 2,09 | 6,25 | 8,22 |
| 21 | 4,07 | 2,19 | 6,96 | 9,66 |
| 28 | 4,25 | 2,25 | 7,36 | 9,88 |
| 39 | 4,37 | 2,28 | 7,94 | 10,04 |

Calcule de moyenne (FDA)

| | ST | SH | SB | SHB |
|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| 1 | 0,41 | 0,25 | 0,43 | 0,51 |
| 3 | 0,48 | 0,26 | 0,58 | 0,78 |
| 7 | 0,9 | 0,3 | 1,55 | 1,98 |
| 9 | 1,12 | 0,34 | 1,89 | 2,19 |
| 11 | 1,28 | 0,38 | 2,01 | 2,02 |
| 14 | 1,37 | 0,44 | 2,16 | 2,13 |
| 21 | 1,45 | 0,47 | 2,19 | 2,26 |
| 28 | 1,54 | 0,5 | 2,23 | 2,32 |
| 39 | 1,59 | 0,54 | 2,25 | 2,73 |

Calcule de moyenne (uréase)

| | ST | SH | SB | SHB |
|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| 1 | 3,57 | 2,02 | 3,09 | 3,24 |
| 3 | 3,79 | 2,18 | 3,42 | 3,71 |
| 7 | 3,96 | 2,28 | 3,73 | 4,08 |
| 9 | 4,94 | 2,5 | 4,18 | 4,77 |
| 11 | 5,68 | 2,63 | 7,14 | 7,38 |
| 14 | 6,01 | 2,82 | 8 | 9,19 |
| 21 | 6,35 | 2,95 | 8,23 | 9,61 |
| 28 | 6,54 | 3,03 | 8,37 | 10,01 |
| 39 | 6,71 | 3,15 | 8,52 | 10,26 |

Calcule de la moyenne (NAG)

| | S | SH | SB | SHB |
|-----------|----------|-----------|-----------|------------|
| 1 | 1,95 | 1,02 | 1,5 | 1,64 |
| 3 | 2,46 | 1,12 | 2,51 | 1,79 |
| 7 | 2,18 | 1,2 | 3,47 | 1,93 |
| 9 | 2,64 | 2,31 | 4,33 | 2,19 |
| 11 | 2,91 | 2,35 | 4,74 | 4,25 |
| 14 | 3,08 | 2,41 | 5,25 | 5,94 |

| | | | | |
|-----------|------|------|------|------|
| 21 | 3,25 | 2,45 | 5,48 | 6,09 |
| 28 | 3,33 | 2,16 | 5,66 | 7,03 |
| 39 | 3,44 | 3,52 | 6,1 | 7,92 |

Calcul de la moyenne (phosphatase acide)

| | S | SH | SB | SHB |
|-----------|----------|-----------|-----------|------------|
| 1 | 5,38 | 3,03 | 5,41 | 5,85 |
| 3 | 5,46 | 3,29 | 5,92 | 6,83 |
| 7 | 5,72 | 3,68 | 6,42 | 8,41 |
| 9 | 7,82 | 3,92 | 10,83 | 15,66 |
| 11 | 8,54 | 4,07 | 15,14 | 21,24 |
| 14 | 9,15 | 4,2 | 16,37 | 25,72 |
| 21 | 9,77 | 4,35 | 17,73 | 29,13 |
| 28 | 10,09 | 4,57 | 17,97 | 29,13 |
| 39 | 10,43 | 4,7 | 18,42 | 30,71 |

Calcul de la moyenne phosphatase (alcalin)

| | S | SH | SB | SHB |
|-----------|----------|-----------|-----------|------------|
| 1 | 6,57 | 6,31 | 7,68 | 7,52 |
| 3 | 6,79 | 6,43 | 7,95 | 8,05 |
| 7 | 7,78 | 6,8 | 9,86 | 9,61 |
| 9 | 8,52 | 6,88 | 10,41 | 40,49 |
| 11 | 10,77 | 6,96 | 20,43 | 68,49 |
| 14 | 14,26 | 9,9 | 39,78 | 79,25 |
| 21 | 14,97 | 9,9 | 52,31 | 83,22 |
| 28 | 15,55 | 10,2 | 54,64 | 85,05 |
| 39 | 15,73 | 10,38 | 55,95 | 85,91 |

Annexe II

Analyse de variance (amylase)

| SV | DDL | SCE | CM | Fcal |
|---------------|-----|------|--------|-------|
| Facteur | 2 | 4390 | 2195 | |
| Résiduelle | 16 | 5460 | 341,25 | 6,43* |
| Totaux | 26 | 9850 | | |

Analyse de variance (xylanase)

| SV | DDL | SCE | CM | Fcal |
|---------------|-----|---------|---------|--------|
| Facteur | 2 | 3257,12 | 1628,56 | |
| Résiduelle | 16 | 2765,22 | 172,82 | 9,42** |
| Totaux | 26 | 6022,34 | | |

Analyse de variance (cellulase)

| SV | DDL | SCE | CM | Fcal |
|---------------|-----|------|--------|----------------|
| Facteur | 2 | 8765 | 4382,5 | |
| Résiduelle | 16 | 3460 | 216,25 | 20,2*** |
| Totaux | 26 | | | |

Analyse de variance (β -glucosidase)

| SV | DDL | SCE | CM | Fcal |
|---------------|-----|-------|---------|---------|
| Facteur | 2 | 43670 | 21880 | |
| Résiduelle | 16 | 32620 | 2038,75 | 10,73** |
| Totaux | 26 | 76290 | | |

Analyse de variance (FDA)

| SV | DDL | SCE | CM | Fcal |
|---------------|-----|--------|---------|--------|
| Facteur | 2 | 238900 | 119450 | |
| Résiduelle | 16 | 549800 | 34362,5 | 3.476* |
| Totaux | 26 | | 46307,5 | |

Analyse de la variance (uréase)

| SV | DDL | SCE | CM | Fcal |
|---------------|-----|------|--------|----------|
| Facteur | 2 | 5458 | 2729 | |
| Résiduelle | 16 | 2350 | 146.87 | 18.58*** |
| Totaux | 26 | 7808 | | |

Analyse de variance (N-acétylglucosaminase)

| SV | DDL | SCE | CM | Fcal |
|---------------|-----|-------|-------|--------|
| Facteur | 2 | 7890 | 3945 | |
| Résiduelle | 16 | 7560 | 472.5 | 8.35** |
| Totaux | 26 | 11450 | | |

Analyse de variance (phosphatase acide)

| SV | DDL | SCE | CM | Fcal |
|---------------|-----|-------|--------|--------|
| Facteur | 2 | 6540 | 3270 | |
| Résiduelle | 16 | 5340 | 333.75 | 9.79** |
| Totaux | 26 | 11880 | | |

Analyse de variance (phosphatase alcalin)

| SV | DDL | SCE | CM | Fcal |
|---------------|-----|--------|---------|---------|
| Facteur | 2 | 87643 | 43821.5 | |
| Résiduelle | 16 | 65900 | 4118.75 | 10.64** |
| Totaux | 26 | 153543 | | |