

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique**  
**Université Blida -1-**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biotechnologie**



**Mémoire de fin d'étude**  
**Pour l'obtention du diplôme de Master 2 en biotechnologie**

**Option : Biotechnologie microbienne**

***THEME***

Réseaux communautaires bactériens associés aux  
plantes et leurs intérêts en biotechnologie  
environnementale :

Cas des *Pseudomonas* spp. fluorescents

*Présenté par*

**Benkhelifa Hanene**

**Aid Zoulikha**

**Les membres de jury :**

<b>Mme Krimi. Z</b>	<b>Professeur</b>	<b>USDB1</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme BENOUSAID.N</b>	<b>M.C.B</b>	<b>USDB1</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Mme Tafifet.L</b>	<b>M.A.A</b>	<b>USDB1</b>	<b>Examinatrice</b>

**Année universitaire 2019/2020**

# *Dédicace*

## **Je dédie ce travail**

A mes deux familles *Benkhélifa et zidouk*.

### **A l'âme de mon père :**

Cher papa comme j'aurais aimé que tu sois avec moi je n'oublierai jamais tes sacrifices ton soutien moral ; tes conseils ; tu m'as appris que la volonté fait des miracles, et que je dois toujours viser ma place avec les meilleurs....je te promets nchallah de poursuivre le chemin et de réaliser nos buts communs.

### **A ma mère :**

Ma source de force ; de défi ; et de satisfaction ; chère maman vous êtes ma perle précieuse ;  
Merci pour tous ; adorable maman.

### **A mes beaux-parents :**

Cher papa ; chère maman Je vous suis très reconnaissante, et je ne vous remercierais jamais assez pour votre amabilité, votre générosité, et vos encouragements pour être toujours parmi les meilleurs.

\*A mes frères et sœurs ; mes beaux frères et mes belles sœurs merci pour vos encouragements surtout mon cher frère *Mohamed*.

\*A mes nièces et neveux : mes chers visez la lune dans vos études ; le savoir n'a pas d'âge.

Et comment je peux oublier.

## **Le grand soutien de mon mari *Dr. Zidouk Fayçal***

Parfois les mots ne suffisent pas pour exprimer nos remerciements les plus sincères.

\*Pour la chandelle de ma vie, ma fille

***\*Dina hadia\****

***Benkhélifa hanene ep Zidouk***

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,  
Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de  
votre soutien infaillible, Merci d'être toujours là pour moi.*

*A ma mère : chère maman tu m'avais toujours soutenu et encouragé durant ces  
années d'études ; Je te dédie ce travail ; maman tu es ma source de joie dans  
cette vie.*

*A mon père : tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le  
respect, la reconnaissance pour tes efforts cher papa.*

*A ma très chère sœur « Bouchra » et mon adorable neveu « Moumen ».*

*A mes chers frères « Rayen » et « Yasser » pour leur appui et leur  
encouragement.*

*A mon fiancé « Khaled » parfois les mots ne suffisent pas pour exprimer nos  
remerciements les plus sincères mercis mille fois.*

*Aid zoulikha*

## Remerciements

*Avant tout, nous remercions notre Dieu tout Puissant, de nous avoir donné le courage, la force et la patience achever ce travail.*

Nous voudrions remercier plus particulièrement notre promotrice Mme Benousaid.N qui nous a régulièrement suivies dans la réalisation de ce travail. Nous la remercions pour son soutien, ses conseils, sa simplicité, sa générosité scientifique et sa qualité humaine, et surtout pour son courage.

Nous remercions Mme Krimi. Z de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nos remerciements également Mme Tafifet.L d'avoir accepté de participer à ce jury autant qu'examinatrice.

Nous adressons nos remerciements à tous nos enseignants Pr.Krimi, Pr. Benchabene, Dr.Ammad, Dr.Bouchnek, Dr.Ayadi,Pr.Belkahla Nous avons grandement apprécié votre soutien, votre implication et votre expérience, tout au long de notre cursus universitaire.

Un grand merci à nos collègues de promotion la Biotechnologie microbienne 2020, ainsi qu'à toute personne qui a aidé de près ou de loin à la réalisation.

# Tables des matières

Dédicaces

Remerciements

Résumé

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction .....	1
Chapitre I : la pollution environnementale et la biotechnologie .....	4
1. La pollution et son impact sur l'environnement .....	4
1.1. La pollution de l'environnement .....	4
1.2. Origines et sources des pollutions des écosystèmes .....	4
1.3. Les types de polluants .....	5
a. Polluants organiques .....	5
b. Les polluants inorganiques .....	5
1.4. Les types de pollutions .....	6
a. La pollution atmosphérique .....	6
b. La pollution de l'eau .....	6
c. La pollution de sol .....	6
1.5. Le déroulement de la pollution .....	7
1.6. Les conséquences de la pollution .....	8
2. La dépollution de l'environnement .....	8
2.1. Les différents types de la dépollution de l'environnement.....	8
a. La dépollution physique -chimique .....	8
b. La dépollution thermique .....	9
c. La bio dépollution .....	9
3. La bio dépollution et la biotechnologie environnementale .....	9
3.1. Historique de la biotechnologie environnementale .....	10

3.2. Les Intérêts de la biotechnologie environnementale .....	11
3.3. L'importance de la biotechnologie environnementale en Algérie .....	11
3.4. La bioremédiation dans le monde .....	12
3.5. Notion de bioremédiation .....	12
a. Bioremédiation in situ .....	12
b. Bioremédiation Ex situ .....	13
3.6. Modes de bioremédiation .....	13
a. La bioaugmentation .....	13
b. La biostimulation.....	13
c. Le compostage.....	13
d. Biolixiviation.....	13
e. Biofiltration .....	14
f. La phytoremédiation .....	14
3.7. Choix de de méthode de remédiation selon le biotope .....	14
3.8. Les réseaux communautaires associé aux plantes .....	15
3.9. Les avantages et les limites de bioremédiation .....	19
Chapitre II : Généralités sur les <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescent .....	
1. Les <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents.....	21
2. Les interactions plantes - <i>Pseudomonas</i> spp. fluorecents.....	23
3. Métabolites secondaires .....	25
a. Les hormones .....	25
b. Enzymes .....	25
c. Sidérophores .....	26
d. Molécules volatiles .....	27
e. Les antibiotique .....	27
f. Les tensioactifs (biosurfactants).....	28
4. L'intérêt des métabolites secondaire des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents dans la bioremédiation des sols .....	29
5. <i>Pseudomonas</i> spp .fluorescents et l'architecture de sol .....	29
6. Mécanismes des <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents utilisée dans la bioremédiation du sol.....	30
a. La résistance .....	30
b. Le biofilm.....	31

c. Le quorum sensing.....	31
<b>7. Critères de sélection des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents pour la bioremédiation</b>	
<b>8. L'utilisation de l'ingénierie pour augmenter la performance des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents</b>	
<b>Chapitre : Application des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.....</b>	<b>33</b>
1. Les hydrocarbures .....	33
2. Origine de pétrole .....	33
3. Composition chimique de pétrole .....	34
4. La pollution et la toxicité de pétrole .....	34
5. L'impact de la pollution pétrolière sur l'environnement et les êtres vivants.....	34
a. Sol .....	34
b. Végétaux .....	35
c. Santé humaine .....	35
<b>6. Etapes d'utilisation des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescent dans la bioremédiation ...</b>	<b>35</b>
6.1. Critères de sélection des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents pour la bioremédiation .....	35
6.2. L'utilisation de l'ingénierie pour augmenter la performance des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents .....	36
6.3. Au niveau du laboratoire (in vitro) .....	36
A. Criblage .....	37
B. Identification .....	37
6.4. A l'échelle pilote .....	38
6.5. Application des <i>Pseudomonas</i> spp fluorescent à grande échelle pour la bioremédiation du sol pollué par les hydrocarbures pétroliers .....	39
<b>7. Les limites d'utilisation des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents dans la bioremédiation des hydrocarbures pétroliers</b>	
.....	40
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>43</b>
<b>Partie matériel et méthodes</b>	
<b>Identification et caractérisation des bactéries rhizosphériques et endophytes du palmier dattier cas des : <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescent.....</b>	<b>46</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

## Résumé

La pollution est l'un des problèmes qui touche gravement l'environnement et résulte beaucoup plus des polluants liés à l'industrie comme l'industrie pétrochimique.

Ces polluants imposent de sérieuses menaces pour la santé humaine, la qualité des végétaux, la reproduction chez les animaux et affectent constamment l'environnement et la biodiversité en raison de leur existence prolongée dans l'écosystème ; les chercheurs sont maintenant orientés vers la biotechnologie environnemental en appliquant les techniques de bioremédiation.

Cette technique biologique repose sur la transformation des composés nocifs en formes moins dangereuses ou bien d'élimination de ces derniers avec moins d'apport de produits chimiques, d'énergie et de temps par des agents biologiques comme les plantes, microorganismes et leurs métabolites ; les bactéries ont prouvé leurs performance dans cette application parmi eux les bactéries du groupes ***Pseudomonas spp. fluorescents***.

Les objectifs de cette étude est de comprendre l'importance des ***Pseudomonas spp. fluorescents*** autant que groupe associé aux réseaux communautaires rhizosphériques, ces interactions avec les plantes ainsi que leurs mécanismes, et son importance dans la bioremediation du sol pollué notamment avec du pétrole mais aussi d'évaluer la performance de leurs métabolites tels que les biosurfactants et les enzymes.

La bioremediation est une technique durable et bon marché permettant l'élimination des déchets, peut se dérouler sur place ou ailleurs et donne des résultats satisfaisants.

Mais comme nouvelle technologie la bioremediation par les bactéries telle que les ***Pseudomonas spp. fluorescent*** des sols pollué par le pétrole possède des limites qui empêchent leur application en plain champs.

**Mot clés :** pollution, biotechnologie environnemental, bioremediation, ***Pseudomonas spp fluorescent***, rizosphère.

## Abstract

Pollution is one of the problems that seriously affects the environment and results much more from pollutants associated with industry such as the petrochemical industry.

These pollutants pose serious threats to human health, plant quality, reproduction in animals and constantly affect the environment and biodiversity due to their prolonged existence in the ecosystem; researchers are now oriented towards environmental biotechnology by applying bioremediation techniques.

This biological technique is based on the transformation of harmful compounds into less dangerous forms or the elimination of them with less input of chemicals, energy and time by biological agents such as plants, microorganisms and their metabolites; the bacteria have proved their performance in this application among them the bacteria of the ***Pseudomonas spp.*** **fluorescent.**

The objectives of this study are to understand the importance of fluorescent *Pseudomonas spp* as well as a group associated with rhizospheric community networks, these interactions with plants as well as their mechanisms, and its importance in the bioremediation of soil polluted notably with oil but also of " evaluate the performance of their metabolites such as biosurfactants and enzymes.

Bioremediation is a sustainable and inexpensive technique for eliminating waste, can take place on site or elsewhere and gives satisfactory results.

But as a new technology, bioremediation by bacteria such as *Pseudomonas spp* fluoresces in oil-polluted soils has several limitations preventing their application in open fields.

**Keywords:** pollution, , environmental biotechnology, bioremediation, ***Pseudomonas spp*** **fluorescent**, Community networks rizospheric.

## ملخص

التلوث هو أحد المشاكل التي تؤثر بشكل خطير على البيئة وينتج بشكل أكبر من الملوثات المرتبطة بالصناعة مثل صناعة البتروكيماويات.

تشكل هذه الملوثات تهديدات خطيرة على صحة الإنسان وجودة النبات والتكاثر عند الحيوانات وتؤثر باستمرار على البيئة والتنوع البيولوجي بسبب وجودها لفترة طويلة في النظام البيئي حيث يتجه الباحثون الآن نحو التكنولوجيا الحيوية البيئية من خلال تطبيق تقنيات المعالجة الحيوية.

تعتمد هذه التقنية البيولوجية على تحويل المركبات الضارة إلى أشكال أقل خطورة أو التخلص منها باستخدام كميات أقل من المواد الكيميائية والطاقة والوقت بواسطة العوامل البيولوجية مثل النباتات والكائنات الحية الدقيقة ومستقلباتها. وقد أثبتت البكتيريا أداءها في هذا التطبيق.

تهدف هذه الدراسة إلى فهم أهمية المجموعه البكتيرية *Pseudomonas spp. fluorescent* بالإضافة إلى المجموعة المرتبطة بشبكات ريزوسفير، هذه التفاعلات مع النباتات وكذلك آلياتها، وأهميتها في المعالجة الحيوية للتربة الملوثة بشكل خاص بالزيت ولكن أيضاً " تقييم أداء نواتجها مثل المواد الخافضة للتوتر السطحي والإنزيمات.

المعالجة البيولوجية هي تقنية مستدامة وغير مكلفة للتخلص من النفايات، ويمكن أن تحدث في الموقع أو في أي مكان آخر وتعطي نتائج مرضية.

ولكن كتقنية جديدة، فإن المعالجة الحيوية بواسطة البكتيريا مثل *Pseudomonas spp. fluorescent* المتألفة في التربة الملوثة بالزيت لها العديد من القيود التي تمنع تطبيقها في الحقول المفتوحة.

**الكلمات المفتاحية:** التلوث، التربة، التكنولوجيا الحيوية البيئية، المعالجة الحيوية، *Pseudomonas spp. fluorescent*، شبكات الريزوسفير.

## *Listes des figures*

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
1	Les diverses formes de contamination des sols et leurs conséquences	7
2	Cycle de pollution.	8
3	Schéma représente les interactions des <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents avec les Plantes dans la rhizosphère	24
4	Schéma représente les interactions des <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents avec les plantes dans La rizosphère	25
5	Les <i>Pseudomonas</i> spp fluorescent sous la lumière UV	27
6	Structure schématique d'une tension active	29
7	Micrographies CLSM de biofilms formés par <i>P. fluorescens</i>	31
8	schémas d'un bioréacteur	40
9	racines et sol du palmier dattier	46
10	La localisation de l'opération d'échantillonnage et le codage des boites Pétri	47
11	Milieu King B préparé pour l'isolement des bactéries endophytes et rhizosphériques	48
12	Préparation des racines pour l'isolement des bactéries endophytes	49
13	Bactéries rhizosphériques isolées à partir du sol du palmier dattier	50

## *Liste des tableaux*

<b>Tableaux</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	Contaminants organiques et inorganiques courants trouvés dans l'environnement	<b>5</b>
<b>2</b>	Avantages et inconvénients de l'oxydation chimique in situ Anonyme	<b>9</b>
<b>3</b>	Les Technologies privilégiées en fonction de la situation étudiée	<b>15</b>
<b>4</b>	Les conditions environnementales qui affectent les paramètres de la bioremédiation	<b>15</b>
<b>5</b>	Exemple de bactéries, Archéobactéries et levures largement utilisées et étudiées en bioremédiation	<b>17</b>
<b>6</b>	Exemples d'algues et de champignons largement utilisés et étudiés en bioremédiation	<b>18</b>

## Liste des abréviations

**ANOVA** : Analyse de la variance.

**C : N : P** : concentration des différents éléments nutritifs carbone/ azote/ phosphore.

**Cd** : cadmium

**cfu.g-** : unité formant colonie par gramme

**DDT** : Dichlorodiphényltrichloroéthane

**Ex situ** : opération qui s'effectue sur un matériau enlevé de son lieu d'origine.

**HAP** : hydrocarbure aromatique polycyclique

**HCN** : cyanure d'hydrogène

**In situ** : l'endroit même où le phénomène est examiné

**PCB** : biphényles polychlorés

**Ppm** : partie par million

**PHC** ; hydrocarbures pétrolière

**ISR** : résistance systémique induite

**CLP** : lipopeptides cycliques

**Pvds**:pioverdine

## Glossaire

**Adsorption sur charbon actif** : Est destinée à traiter des matières organiques réfractaires, ne se trouvant pas en quantité trop importante.

**Bioaccumulation** : Processus par lequel les organismes vivants peuvent accumuler un contaminant quel que soit la voie d'incorporation.

**Érosion des sols** : renvoie à l'amincissement de la couche arable d'un champ sous l'effet des forces érosives naturelles ou sous l'effet des activités agricoles.

**Excavation** : Désigne l'action de creuser un terrain, un sol, et son résultat.

**Exsudats** : Liquide excrété par les racines des végétaux contient de l'eau, des sels minéraux.

**Incinération** : Technique de gestion des déchets consistant à les réduire en cendre.

**Neutralisation** : Est une réaction chimique où un acide réagit avec une base de façon à former de l'eau et un sel.

**Plaque Elisa** : Une plaque est préparée sur laquelle sont fixés des anticorps.

**Phyllosphère** : Est l'ensemble des parties des plantes situées au-dessus du niveau du sol et considéré comme habitat pour les micro-organismes.

**Polluants organiques persistants (POP)** : Sont des substances chimiques qui possèdent les propriétés persistants, bioaccumulables, toxiques et mobiles.

**Produit phytosanitaire** : Est un produit chimique ou d'origines naturelles utilisées pour soigner ou prévenir les maladies des végétaux.

**Système aquifère** : Ensemble d'aquifères et de corps semi-perméables d'un seul tenant, dont toutes les parties sont en liaison hydraulique continu.

### Introduction

La pollution de l'environnement est l'accumulation de polluants toxiques dans l'air, l'eau et le sol qui réduisent la capacité des sites contaminés à soutenir la vie. L'augmentation de la densité de la population humaine et de l'activité anthropique a conduit à une dégradation de la surface de la terre par une mauvaise utilisation des ressources environnementales et une mauvaise élimination des déchets (**Pushpanathan et al., 2014**).

La pollution est l'un des défis mondiaux les plus graves (**Pandey et Singh, 2019**), qui affecte la biodiversité, les écosystèmes et la santé humaine (**Jan et al., 2016**). Le sol est le fondement du développement humain, l'utilisation et la protection des ressources du sol est étroitement liée au bien-être humain (**Zhou et al., 2020**). la pollution des sols par les métaux lourds, des organochlorés et des hydrocarbures menace gravement la stabilité des écosystèmes (**Zeng et al., 2019**).

La pollution des sols par les hydrocarbures pétroliers ceci est principalement causé par des accidents sur les plates-formes pétrolières et pendant le transport d'hydrocarbures et aussi par les rejets (**Srivastava et al., 2019**). La présence injustifiée de pétrole dans le sol affecte les processus biogéochimiques naturels ainsi que la croissance des entités biotiques. S'ils persistent plus longtemps, ces composés sont toxiques pour la santé animale et végétale (**Tahseen et al., 2019**).

Les techniques traditionnelles de traitement des sols pollués sont très compliquées. La complexité de ces procédés est associée à la complexité des pollutions elles-mêmes et les coûts souvent élevés. On assiste depuis deux décennies à l'évolution des techniques de dépollution avec le passage progressif des techniques dites traditionnelles aux techniques de biodégradation (**Origo et al., 2012**). Les interventions biotechnologiques avec la perspective d'améliorer le potentiel de bioremédiation doivent être élucidées (**Jan et al., 2016**).

Les technologies de bioremédiation telles que la biostimulation, la bioaugmentation et la phytoremédiation avec les microorganismes (**Agnello et al., 2016**) ont reçu une attention considérable ces dernières années en tant que stratégies efficaces de gestion des risques pour réduire le transfert de contaminants vers les récepteurs locaux, grâce à une stabilisation *in situ* ou à l'extraction de polluants (**Lacalle et al., 2020**).

La bioremédiation est un processus qui utilise principalement des microorganismes, des plantes ou des enzymes microbiennes ou végétales pour détoxifier les contaminants dans le sol et d'autres environnements (Gouma et al., 2014, p.) ; elle représente une méthode rentable pour le traitement des sols pollués (**Salanitro et al., 1997**).

Dans le contexte de la valorisation de la biomasse microbienne, de nombreux travaux, depuis plus de trois décennies, ont souligné l'opportunité de l'exploitation de certaines catégories de microorganismes telluriques, adaptées à la vie rhizosphérique des plantes et peuvent procurer des effets phytobénéfiques.

Parmi les rhizobactéries, le groupe des ***Pseudomonas spp. fluorescents*** est l'un des pôles microbiens ayant démontré des potentialités phytobénéfiques. Ces rhizobactéries sont caractérisées par un arsenal métabolique, s'exprimant par la synthèse de divers métabolites secondaires impliqués dans les aspects trophiques, nutritionnels et de compétition avec les autres microorganismes. De plus, ils ont montré une résistance élevée aux antibiotiques, aux métaux lourds et aux détergents et aux solvants organiques (**Chellaiah, 2018**).

Les ***Pseudomonas spp. fluorescents*** jouent un rôle dans la protection de l'environnement (**Moneke et al., 2010**) par la dégradation des composés anthropiques toxiques. Ils possèdent une capacité presque illimitée à dégrader la plupart des produits naturels et de nombreux xénobiotiques (**Pepper, 2019**). La capacité de *Pseudomonas putida* a dégradé le pétrole *in vitro* a été observé par **Tanti et Buragohain (2013)** et le traitement a été testé à l'échelle pilote (**El-Naas et al., 2016**).

Vu ce qui précède, notre étude bibliographique prend toute son importance en mettant l'accent sur :

- La pollution et son impact sur l'environnement et la santé humaine ;
- Les différentes méthodes de dépollution et la bioremédiation comme une méthode biologique.
- Le rôle des ***Pseudomonas spp. fluorescents*** dans la remédiation des sols contaminés.
- Exemple d'application des ***Pseudomonas spp. fluorescents*** dans la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures pétroliers.



# *Chapitre I*

## **La pollution et la biotechnologie environnementale**

L'environnement se compose de terre, d'eau et d'atmosphère et comme les polluants interagissent avec l'environnement, ils subissent des changements chimiques et physiques.... (Pepper et al., 2006). L'activité humaine issue de la révolution industrielle a été à l'origine de la pollution environnemental (Miguel ,2012).

Avec les progrès de la biotechnologie, la bioremédiation est devenue l'un des domaines de remédiation de l'environnement qui se développe le plus rapidement pour réduire la concentration et la toxicité de divers polluants (Dua et al ., 2002). Elle consiste à utiliser des agents biologiques qui peuvent être de simples molécules organiques, comme de l'ADN ou des anticorps, ou bien des organismes vivants ou morts (bactéries, microalgues, champignons, algues et plantes supérieures) (Vavasseur, 2014).

### 1. La pollution et son impact sur l'environnement

#### 1.1. La pollution de l'environnement

Le mot pollution vient du latin polluere "salir, souiller" et pollutio "salissure, souillure », c'est au dix-huitième siècle seulement qu'apparaît l'emploi actuel de ce mot (Carbonnel, 1997).

Selon Kumar (2020), la pollution de l'environnement est caractérisée comme «le ternissement des parties physiques et organiques du cadre terre / air à un tel degré, que les procédures environnementales ordinaires sont influencées de manière antagoniste ce qui entraîne une pollution de l'air, de l'eau et du sol.

Elle est aussi l'accumulation et les effets néfastes de contaminants sur la santé humains et / ou l'environnement (Pepper et al., 2006) et la biodiversité (Malik Muhammad et al., 2017) ; susceptibles d'engendrer des détériorations aux biens et matériels (Blanchard, 2000).

Ce phénomène mondiale (Narduzzi- londinsky, 2018) est le plus grand fléau face auquel les potentialités de survies de nos écosystèmes seraient inévitablement compromises (Mebirouk et Mebirouk, 2019).

### 1.2. Origines et sources des pollutions des écosystèmes

La pollution de l'environnement est un problème de *nations* (Kumar et al., 2020). Elle a été traitée au moyen âge et au début de la période moderne en évacuant les déchets en périphérie des villes ; ce qui a changé avec l'arrivée de l'industrie, au même temps de nouvelles pollutions sont également apparues avec la naissance de l'industrie chimique moderne. Actuellement, la pollution est devenue plus intensive, avec un nombre croissant de polluants rejetés dans la biosphère (Massard-Guild et Mathis, 2017) dont certains contaminants se produisent naturellement (Fashola et al., 2016). En parallèle des molécules complexes, comme les médicaments, les produits phytosanitaires, les plastifiants, qui ils ont augmenté la présence d'autres contaminants (Zgheib, 2009).

### 1.3. Les types de polluants

#### a. Les polluants organiques

Les polluants organiques (PO) comptent parmi les substances chimiques les plus dangereuses rejetées par l'homme dans l'environnement ainsi que dans les tissus vivants par bioaccumulation (Fedeila, 2019). Certains sont appelés polluants organiques persistants pouvant être nuisibles pour la faune et la santé humaine (Lauzent, 2018). Il existe beaucoup de polluants chimiques d'origine organique (Guergour, 2014) (Tableau 1).

#### b. Les polluants inorganiques

Les polluants inorganiques se trouvent sous forme de traces, présents à l'état solide dans les sols, ils sont mis en circulation par l'érosion (Benosman, 2019). Ils sont classés en deux catégories anions et cations en fonction de leur polarité (Jullien, 2014) (Tableau 1).

**Tableau 1: Contaminants organiques et inorganiques courants trouvés dans l'environnement (Singh ,2017).**

La classe chimique	Fréquence d'occurrence
Essence, mazout	Très fréquent
Les hydrocarbures Aromatiques polycycliques	Commun
Alcools, acétones, esters	Commun
Organiques chlorés Diphényle poly bromé-Éthers (PBDE)	Très fréquent
Bi phényles poly chlorés peu fréquents (PCB)	Infréquenté
Nitroaromatiques (TNT)	Commun
Métaux (Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn)	Commun
Nitrate	Commun

### 1.4. Les types de pollutions

La pollution peut se former de substances chimiques ou d'une mauvaise utilisation de l'énergie (Mia et *al.*, 2019).

#### a. La pollution atmosphérique

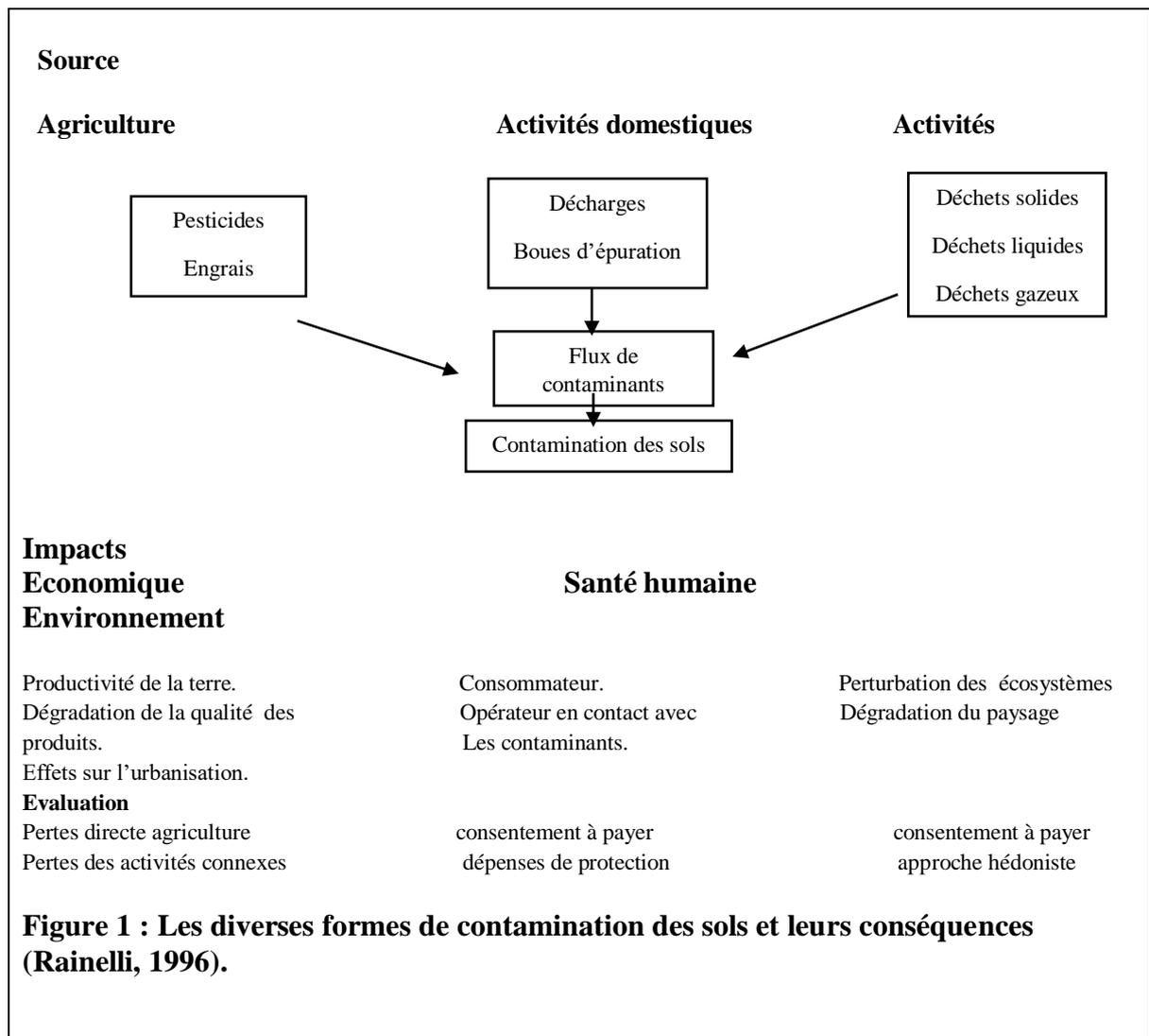
La pollution atmosphérique c'est la présence d'une substance étrangère dans l'air ou une variation importante dans la proportion de ses composants susceptible de provoquer un effet nocif (Vendel, 2011). Les sources de cette pollution peuvent être soit naturelles , soit anthropiques (Al barakehal, 2012).

#### b. La pollution de l'eau

La pollution des eaux est un phénomène international résultant d'épanchements chimiques, microbiologiques ou de changements thermiques, provenant de sources ponctuelles ou non ponctuelles (Jalliffier-Verne, 2015) qui sont des sources d'origine anthropique comme les eaux d'égout (Benkaddour, 2018) ; Les marées noires sont souvent un des premiers exemples de pollution de l'eau qui vient à l'esprit, parce qu'elles sont particulièrement visibles cette pollution se résulte des déversements minimes ou massifs d'hydrocarbures, de produits chimiques, de matières organiques ou d'autres élément dans la mer et provoque plusieurs effets néfaste sur l'environnement (L.B, 2010).

**c. La pollution de sol**

Selon **Lirong (2020)** , les polluants du sol sont divisée en polluants organique, polluons inorganique et polluants inorganique – organique et aussi peuvent être divisés en polluants homogènes et polluants hétérogènes . Dans la plupart des cas, l'apparition d'une pollution résulte le plus souvent d'accidents industriels, de dépôts ou du transport de matières dangereuses (**Milton, 2012**). Elle est considérée comme l'un des types de dégradation des sols les plus graves (**Romero-Freire, 2015**) (**Figure 1**)



**1.5. Le déroulement de la pollution**

Un polluant peut se disperser très rapidement dans les différents compartiments (air, eau et sol) de l'environnement. Si on s'intéresse aux pesticides par exemple, bien qu'ils soient appliqués sur une culture, on les retrouve également dans les sols, dans les rivières et dans l'air (**Lecomte, 2019**) (**Figure 2**) .

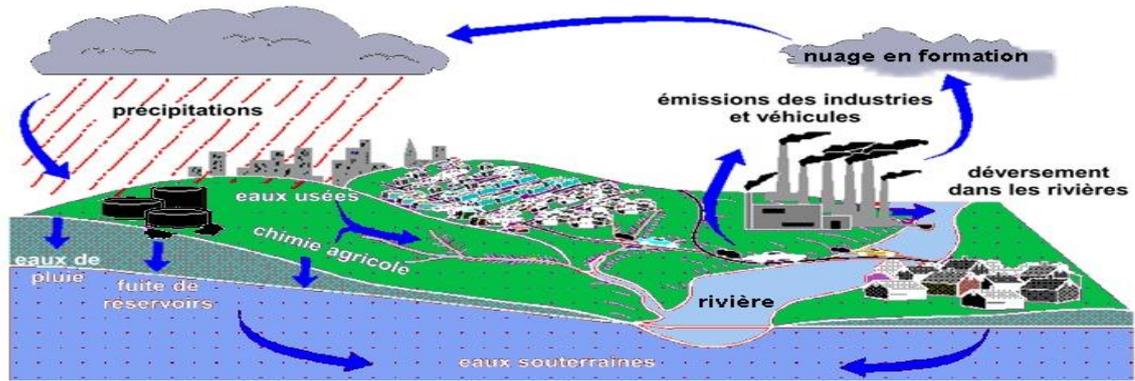


Figure 2 : Cycle de pollution (Carion, 2016).

### 1.6. Les conséquences de la pollution

- Affectation de la croissance et de la santé des végétaux (Garrec, 2019).
- Altération de la capacité de reproduction des animaux (Ratcliffe, 1970).
- Effet indésirable indiqué sur la santé humaine en raison des activités minières (Abouian Jahromi et al., 2020).
- Graves implications pour les fonctions clés de l'écosystème du sol, telles que l'activité microbienne du sol et le cycle des nutriments, le cycle de l'azote (N) (est un prédicteur clé de la stabilité écologique et de la gestion dans l'écosystème terrestre) (Iqbal et al., 2020).
- Effet néfaste de la contamination par les hydrocarbures pétroliers (PH) sur la diversité bactérienne du sol (Dong et al., 2020).
- Le transport maritime continue de générer des impacts négatifs sur l'environnement marin, y compris la pollution de l'air, les émissions de gaz à effet de serre (Walker et al., 2019).
- Effet néfaste de la pollution du plastique sur le développement économique (Cordier et al., 2020).

## 2. La dépollution de l'environnement

Les techniques de remédiation des sites pollués peuvent être basées sur quatre principes distincts: les techniques physiques- chimiques, thermiques et biologiques (Esrael, 2015).

**a. La dépollution physique -chimique**

Les traitements classiques de dépollution des sols contaminés basée sur des méthodes physico-chimiques sont : la neutralisation chimique, l'incinération, l'adsorption sur charbon actif ou sur résines, la lixiviation des sols par des solvants ou encore la photo-oxydation (**Nouri et Haddioui, 2016**).

Concernant les processus bio-physicochimique certains processus conduisent à une disparition partielle ou complète du polluant dans le système aquifère (volatilisation, dégradation), d'autres provoquent un effet retard (dissolution, adsorption, complexation), certains enfin engendrent des réactions irréversibles (fixation irréversible, dégradation complète (**Chéry et Mouvet, 2000**)).

➤ **Avantages et inconvénients des traitements chimiques de dépollution**

La dépollution des sols et nappes par oxydation chimique *in situ* est destiné a dégradé le polluant cible en composés moins toxiques si possible jusqu'à la minéralisation (**Simonnot et Croze,2012**). Les avantages et les inconvénients de cette technique chimique sont présentés dans le **Tableau 2**.

**Tableau 2 : Avantages et inconvenants de l'oxydation chimique in situ (Anonyme, 2004).**

	Permanganate de potassium ou de sodium	Fenton (peroxyde d'hydrogène)	Ozone	Persulfate
Avantages	plus stable plus de chance de dégrader les polluants non touchés lors de la phase d'injection.  large gamme de PH	Beaucoup de retour d'expérience	Production d'O <sub>2</sub> , stimule l'activité biologique et aide à la volatilisation des polluants.  facilité d'application dans la zone non saturée	*moins d'interaction avec la matière organique  stable  peut être combiné avec le permanganate
Inconvénients	Production de MnO <sub>2</sub> dans le sol perte de perméabilité.  trace en métaux dans le produit industriel.	inefficace dans des environnements alcalins  peu stable : difficulté de mise en place  peu stable : problème de sécurité	peu stable : difficulté de mise en place  peu stable : problème de sécurité  émission gazeuses en surface	Localement conditions fortement acide  peu de retour d'expérience

### b. Dépollution thermique

Les procédés thermiques utilisent la chaleur pour détruire les polluants (comme l'incinération), les isoler (exemple adsorption thermique, thermolyse), ou les rendre inerte (exemple vitrification) (Colombano et al., 2010). Ils sont utilisés pour éliminer les polluants dans les sols telles que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), biphényles polychlorés (PCB), dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) (Zhao et al., 2019). La désorption thermique est l'une des méthodes couramment utilisées pour assainir les sols contaminés (Kastanek et al., 2016).

### c. La bio dépollution

La bio dépollution est un traitement biologique (David, 2013), qui consiste à utiliser des organismes vivants, plus particulièrement des bactéries ou des biofilms bactériens, pour éliminer les polluants toxiques des différents milieux naturels (Dhahri, 2014).

La bio dépollution, recèle un formidable potentiel pour éliminer les métaux lourds et substances chimiques avec l'utilisation des souches sauvages mais aussi les organismes génétiquement modifiés, qui constituent des outils plus efficaces de bio dépollution (Anonyme, 2009).

Actuellement, « l'environnement » et la « biotechnologie » sont parmi les sujets les plus discutés. L'émergence de problèmes environnementaux complexes et le potentiel de la biotechnologie pour y faire face a lancé des défis ces derniers temps. Les applications de la biotechnologie environnementale ont principalement visé à prévenir et à atténuer la dégradation de l'environnement par l'utilisation de la biotechnologie avec un accent sur la biorestauration des sols et de l'eau (Mukherjee et Ghosh, 2016).

## 3. La bio dépollution et la biotechnologie environnementale

### 3.1. Historique de la biotechnologie environnementale

La biotechnologie c'est l'application de la science et de la technologie aux organismes vivants, ainsi qu'à leurs parties, produits, pour modifier les matériaux vivants ou non vivants afin de produire des connaissances, biens et services (Evans et Furlong, 2011).

Les procédés biotechnologiques ont déjà été utilisés dans la protection de l'environnement bien avant l'invention du terme biotechnologie par la mise au point des installations municipales d'épuration des eaux usées (Durantt, 1999). Elle est appliquée dans

divers domaine comme l'agriculture, la conservation des ressources, de la protection de l'environnement, de la surveillance de l'environnement contaminé et de la gestion des déchets (Singh, 2017).

A nos jours les nouvelles biotechnologies ont permis l'élaboration de tests très performants, à base d'enzymes, qui permettent d'évaluer la teneur en certains polluants ou produits toxiques des sols, de l'eau et des aliments. En outre, certains organismes modifiés permettent de dépolluer et réhabiliter certains sites (Dref, 2018).

### 3.2. Intérêts de la biotechnologie environnementale

Il y'a un intérêt croissant pour la biotechnologie environnemental en raison d'un besoin mondial pour maintenir un sol, un air et une eau propre (Wackett, 2000). Parmi ces intérêts on peut citer :

- Les biosurfactants (chapitre 2,page 29) qui sont particulièrement utile dans les techniques de remédiation (Kubicki et al, 2019).
- La production de biocarburants à partir de ressources biologiques on utilisant des micros algues est plus favorable pour l'environnement (Colonna et al., 2020).
- Les Rhizobactéries bénéfiques pour les plantes améliorent l'efficacité de l'utilisation des nutriments et de l'eau, la dynamique de l'influence du recyclage des minéraux et la tolérance des plantes à d'autres stress environnementaux en améliorant la santé des sols (Aeron et al., 2020).
- l'importance des biofilms associés aux plantes et aux bactéries du sol et leur importance pour les pratiques d'agriculture verte (Solanki et al., 2020).

### 3.3. L'importance de la biotechnologie environnementale en Algérie :

Le service de biotechnologie et l'environnement à l'institut Pasteur en Algérie est chargée de mener des études et des travaux de recherche. Ces derniers visent la valorisation par voix biologiques de la biomasse et des déchets agro-industriels pour une gestion plus efficace des déchets ; la production de métabolites à partir de déchets ou de biomolécules (enzymes, bio pesticides, molécules antagonistes) et l'utilisation du vivant pour traiter ou dépolluer un milieu (bio remédiation, biodégradation, couplage photo dégradation-biodégradation de polluants organiques en milieux aqueux) (Anonyme, 2014).

De plus, l'Algérie est impliquée dans de nombreux projets, parmi lesquels :

- Projet de code de conduite pour les biotechnologies intéressant les ressources génétiques utiles à l'alimentation et l'agriculture, initié par la FAO en 1995.
- Lois modèles africaines sur la sécurité en biotechnologie et sur la protection des droits des communautés locales (**Anonyme , 2003**).

La bioremédiation diffère des autres biotechnologies industrielles. Le principal moteur est la conformité réglementaire plutôt que le profit de la fabrication (**Gillespie et Philp, 2013**).

### 3.4. La bioremédiation dans le monde :

Une enquête mondiale sur l'utilisation des technologies de bioremédiation pour lutter contre la pollution de l'environnement. Il y avait des répondants de tous les continents (sauf l'Antarctique), bien que du Nord L'Amérique était comparativement surreprésentée (**O. Elekwachi, 2014**).

Les brevets de bioremédiation proviennent de plusieurs pays, la Chine se classant la première (**Quintella, Mata et Lima, 2019**). L'Allemagne et les Pays-Bas sont clairement les leaders européens (**Raphael et Glass, 1995**).

### 3.5. Notion de bioremédiation

Le terme bioremédiation provient de deux mots: «bios» signifiant vie, ce qui indique que nous parlons d'organismes vivants et de «remédiation» signifie résoudre un problème (**Kumar et al., 2019**). D'après **Robichaud (2019)**, la bioremédiation est une approche définie par l'utilisation de plantes, de champignons et de consortiums microbiens pour dégrader ou détoxifier des contaminants environnementaux.

Selon les recherches, la bioremédiation se repose sur une technologie inventive qui s'applique aux réductions des polluants dans l'eau et les terres polluées. Les micro-organismes jouent un rôle essentiel en utilisant le génie génétique et des organismes génétiquement modifiés peuvent être générés (**Verma et Kuila, 2019**). Récemment, les nanoenzymes peuvent offrir une capacité de bioremédiation potentielle à un large éventail de polluants (**Sharma et al., 2018**).

### a. Bioremédiation *in situ*

La biorestauration *in situ* une option intéressante ne nécessite que l'injection d'un donneur d'électrons pour stimuler l'activité des communautés bactériennes indigènes pour la réduction des métaux dissimulateurs ou des sulfates. Ceci est souvent réalisé en injectant une source de carbone organique telle que l'acétate, l'éthanol ou la mélasse. Le processus de stimulation de la croissance microbienne de cette manière est appelé biostimulation *in situ* (Campbell, 2009).

### b. Bioremédiation *Ex situ*

Lorsque la bioremédiation se déroule hors site, nous appelons cela la bioremédiation *ex situ*. Quand le matériau est retiré de l'environnement, il peut être mis dans des bioréacteurs, de grands récipients où le matériels contaminé peut être surveillé et les conditions de biorestauration peuvent être contrôlées (Maitra, 2018).

## 3.6. Modes de bioremédiation

### a. La bioaugmentation

Cette technologie consiste à introduire des cultures de microorganismes à la surface du milieu contaminé dans l'objectif d'augmenter la biodégradation des contaminants organiques. Elle est largement utilisée pour décontaminer les sites contenant des hydrocarbures (Abdelly, 2006). La bioaugmentation est principalement efficace dans les sites où les concentrations de polluants sont élevées (Lyon et Vogel, 2011).

### b. La biostimulation

La biostimulation est une technique d'assainissement très efficace, rentable et écologique (Tribadai et al., 2018). Elle consiste à stimuler les conditions du site pour le développement de micro-organismes indigènes en optimisant les conditions telles que l'aération, l'ajout de nutriments( phosphore, azote), le pH et le contrôle de la température (Fernández Rodríguez et al., 2014). Parmi toutes les techniques de bioremédiation, la biostimulation est considérée comme la méthode la plus efficace pour l'assainissement des hydrocarbures (Adams et al., 2015).

### c. Le compostage

Le compostage est un processus contrôlé de dégradation des constituants organiques d'origine végétale et animale, par une succession de communautés microbiennes évoluant en condition aérobies, entraînant une montée en température, et conduisant à l'élaboration d'une matière organique humifiée et stabilisée. Le produit ainsi obtenu est appelé compost (**Francou, 2004**). La matière première utilisée pour le compostage peut être constituée uniquement ou d'un mélange de biodéchets (**Alphonse et al., 2020**).

### d. Biolixiviation

Le biolixiviation comprend l'utilisation de micro-organismes pour des procédés d'extraction de métaux à partir de minerais sulfurés (**Johanna et Johnny, 2019**). Une grande variété de micro-organismes est largement utilisée, principalement des bactéries et des champignons filamenteux, qui participent au cycle des inorganiques et composés organiques, permettant la transformation de minéraux (**Miranda Arroyave et al., 2019**).

### e. Biofiltration

Le principe de la biofiltration repose sur l'utilisation d'un matériau filtrant de type granulaire colonisé par une biomasse épuratrice et à travers lequel transite l'effluent à traiter (**Rocher et al., 2008**). Contrairement à la filtration physico-chimique conventionnelle, la biofiltration est utilisée pour réduire la fraction biodégradable de matière organique naturelle dissoute (**Kirisits et al., 2019**).

### f. La phytoremédiation

Les plantes sont un filtre naturel et métabolisent les substances produites naturellement, et par conséquent, l'utilisation de plantes pour l'élimination des contaminants dans l'eau et le sol est la technologie émergente connue sous le nom de phytoremédiation (**Mishra et al., 2020**).

Cette technique est connue par utilisation des plantes et ces micro-organismes associés pour éliminer, stabiliser et transformer les polluants dans le sol, l'eau et l'atmosphère. Des plantes naturelles ou génétiquement modifiées peuvent être utilisées (**Ansari et al., 2015**). Certaines plantes permettent de transformer (phytoremédiation) ou stabiliser (phytostabilisation) les polluants dans les sols (**Louati, 2014**).

## 3.7. Choix de de méthode de remédiation selon le biotope

Le taux d'efficacité du traitement choisi dépendra du mariage entre les caractéristiques particulières de la situation étudiée et les avantages présentés par la technologie retenue (Dufresne, 2013), ainsi que les conditions environnementales qui jouent un rôle très important dans le contrôle de la croissance et l'activité bactérienne durant la biodégradation, par conséquent, il est très important d'étudier l'effet des facteurs physico-chimiques sur la biodégradation pour une implantation de la biodégradation comme une technologie de bioremédiation (Mesbaiah et Badis, 2013) (Tableaux N°3 et 4).

**Tableau N° 3 : Les technologies privilégiées en fonction de la situation étudiée (Dufresne, 2013).**

Exemples de situations possibles	Technologies privilégiées
Contamination sous un bâtiment	Technologie in-situ
Contamination dans un sol argileux	Technologie Ex-situ
Contamination par les métaux	Technologies thermiques ou excavation
Contamination qui doit être gérée rapidement	Incinération, lavage des sols ou excavation
Contamination organique dans un sol sableux	Technologie in-situ

**Tableau N° 4: Les conditions environnemental qui affectent les paramètres de la bioremédiation (Dufresne, 2013).**

Paramètres environnementales	Condition requise pour l'activité microbienne	Valeur optimale pour une dégradation de l'huile
<b>Humidité du sol</b>	25-28% de la capacité de rétention d'eau	30 à 90%
<b>PH du sol</b>	5,5-8,8	6,5 à 8,0
<b>Contient de l'oxygène</b>	Aérobique. Rempli d'air minimum espace poreux de 10%	10 à 40%
<b>Contenu nutritif</b>	N et p pour la croissance microbienne	C : N : P = 100 : 10 : 1

### 3.7. Réseaux communautaires associés aux plantes utilisés dans la bioremédiation

Les biorémédiateurs sont des agents biologiques utilisés pour la bioremédiation afin de nettoyer les sites contaminés. Les communautés microbiennes du sol sont les acteurs-clés des systèmes de bioremédiation. Parmi ces microorganismes, on trouve les « plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) ou « plant growth-promoting fungi (PGPF) » qui bénéficient des rhizodépôts produits par la plante et vivent en général à la surface de la racine : ce sont des épiphytes (Andre, 2014). D'autres, les endophyte qui colonisent les organes intérieurs des plantes, mais qui n'ont pas d'effets pathogènes sur leurs hôtes (Gunatilaka, 2006).

Les PGPF associés aux racines et au sol appartiennent aux différents genres a savoir *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* et *Trichoderma* (Motaher et Farjana, 2020). Ils possèdent une capacité d'augmentation de la croissance des plantes et l'amélioration du sol en raison de la production et la libération de métabolites secondaires (régulateurs de croissance des plantes, phytohormones et substances biologiquement actives), et en facilitant la disponibilité et l'absorption des nutriments du sol à partir de l'environnement racinaire aussi ils peuvent être exploités pour la biorestauration de la contamination par les métaux (Singh et al., 2015).

La grande variété des voies métaboliques utilisées par les endophytes en fait des outils précieux pour la biorestauration, qui peuvent être utilisés pour l'assimilation du méthane, la fixation de l'azote, la biorestauration des polluants (par exemple, les pesticides, les herbicides, les insecticides, la pétrochimie, les polychlorobiphényles, les phénols) et la biotransformation de substances organiques. D'autre part, ils peuvent produire des métabolites secondaires qui ont une influence sur les propriétés antifongiques et antibactériennes (Stępniewska et Kuźniar, 2013).

Les différentes espèces bactériennes telles que *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas putida* peuvent être appliqués efficacement pour l'élimination du Cr. *Penicillium chrysogenum*, *Scedosporium apiospermum*, *Penicillium digitatum* et *Fusarium solani* sont également décrits pour les capacités de dégradation des polychlorobiphényles (PCB). *Saccharomyces cerevisiae* est l'espèce de levure largement appliquée pour la biosorption des métaux lourds comme Cr, Pb, Zn, Hg, Cd et Ni (Pal et al., 2020).

Ces bactéries sont très utiles pour la biorestauration car elles sont des biosorbants essentiels pour le traitement des écosystèmes contaminés et elles ont la capacité de se propager dans des conditions contrôlées et peuvent également supporter des conditions environnementales extrêmes (Amer et al., 2015) (Tableaux 5 et 6).

**Tableau 5 : Exemple de bactéries, Archéobactéries et levures largement utilisées et étudiées en bioremédiation (Bhatnagar et Kumari, 2013).**

Organismes	Genre / espèce	Produits chimiques /éléments toxiques
Bactérie	<i>Arthrobacter sp.</i>	p-nitrophenol
	<i>Bacillus sp.</i>	Cu, Zn, Cd, Pb, Fe, Ni, Ag, Th, Ra et U
	<i>Citrobacter sp.</i>	U
	<i>Cupriavidus</i>	Zn et Cu
	<i>Metallidurans</i>	Zn et V
	<i>Escherichia coli</i>	V et Zn
	<i>Escherichia hermannii</i>	Pb, Cu, V et Cr
	<i>Enterobacter cloacae</i>	phenolics, heterocyclics and (PAHs)
	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	Fe
	<i>Geobacter</i>	Th et U
	<i>Metallireducens</i>	Cd, Pb, Fe, Cu, U, Ra, Ni, Ag, Zn, Th et Atrazine
	<i>Micrococcus sp.</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique
Archeobactéries	<i>Ralstonia eutropha</i>	Cu, Zn, Cd, Pb, Fe, Ni, Ag, Th, Ra et U
	<i>Streptomyces sp.</i>	Cd, Cu, Ni, et Zn
Levure	<i>Filo crenarchaeota</i>	
		<i>Cd</i>
		<i>Cd</i>
		<i>Zn et Cd</i>
		<i>Hg</i>
		<i>Pb</i>
		<i>Cu, Zn, Cd, Pb, Fe, Ni, Ag, Th, Ra, U et</i>
		<i>Hg</i>
	<i>Candida utilis</i>	
	<i>Hansenula anomala</i>	
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	
	<i>Rhodotorula rubra</i>	
	<i>Streptomyces sp</i>	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	

**Tableau N° 6 : Exemples d'algues et de champignons largement utilisés et étudiés en bioremédiation (Bhatnagar et Kumari, 2013).**

Organismes	Genre / espèce	Produits chimiques /éléments toxiques

<p><b>Algues</b></p>	<p><i>Ascophyllum nodosum</i> <i>Anabaena inaequalis</i></p> <p><i>Chlorella vulgaris</i></p> <p><i>Cladophora glomerata</i></p> <p><i>Cyanobacteria Nostoc sp</i> <i>Oedogonium rivulare</i> <i>Oscillatoria spp.</i> <i>Sargassum spp.</i> <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Spirogyra spp</i></p>	<p>Pb, Cu et Cr Cr Cd, Ag, Cu, Th, Zn, Pb, Ni, Ra, Fe et U</p> <p>Cu, Pb, Cd, Cr, Ni, Fe, Zn, Mn, Sr et Cs Pb, Hg et Cd Cr, Ni, Zn, Fe, Mn Cu, Pb, Cd Cu, Pb, Cd et Co Pb, U, Cd, Ni, Zn, Cu et Cr Cd et Zn Ni, Cr, Fe et Mn</p>
<p><b>Champignons</b></p>	<p><i>Aspergillus tereus</i> <i>Aspergillus niger</i></p> <p><i>Funalia trogii</i> <i>Ganoderma lucidumk</i> <i>Penicillium</i></p> <p><i>Pleurotus ostreatus</i></p>	<p>Cr Pb, Zn, Cd, Cr, Cu, Ni</p> <p>Hg, Cd et Zn Cr et Cu Pb, Fe, Ni, Ra, Th, U, Cu, Zn, Ag, et Cd</p> <p>PAHs et Orange 3, 4- (4nitrophenylazo) aniline</p>

Les *Pseudomonas* spp .fluorescents sont les principales bactéries parmi les PGPR qui peuvent supprimer les agents pathogènes du sol ou favoriser la croissance des plantes ( **Urashima et al., 2005**) ainsi ils sont utilisée pour la bioremédiation des sols contaminée par les métaux lourds et les pesticides (**Meliani et Bensoltane,2016;Ojuederie et Babalola,2017**).

### 3.8. Avantages et les limites de la bioremediation

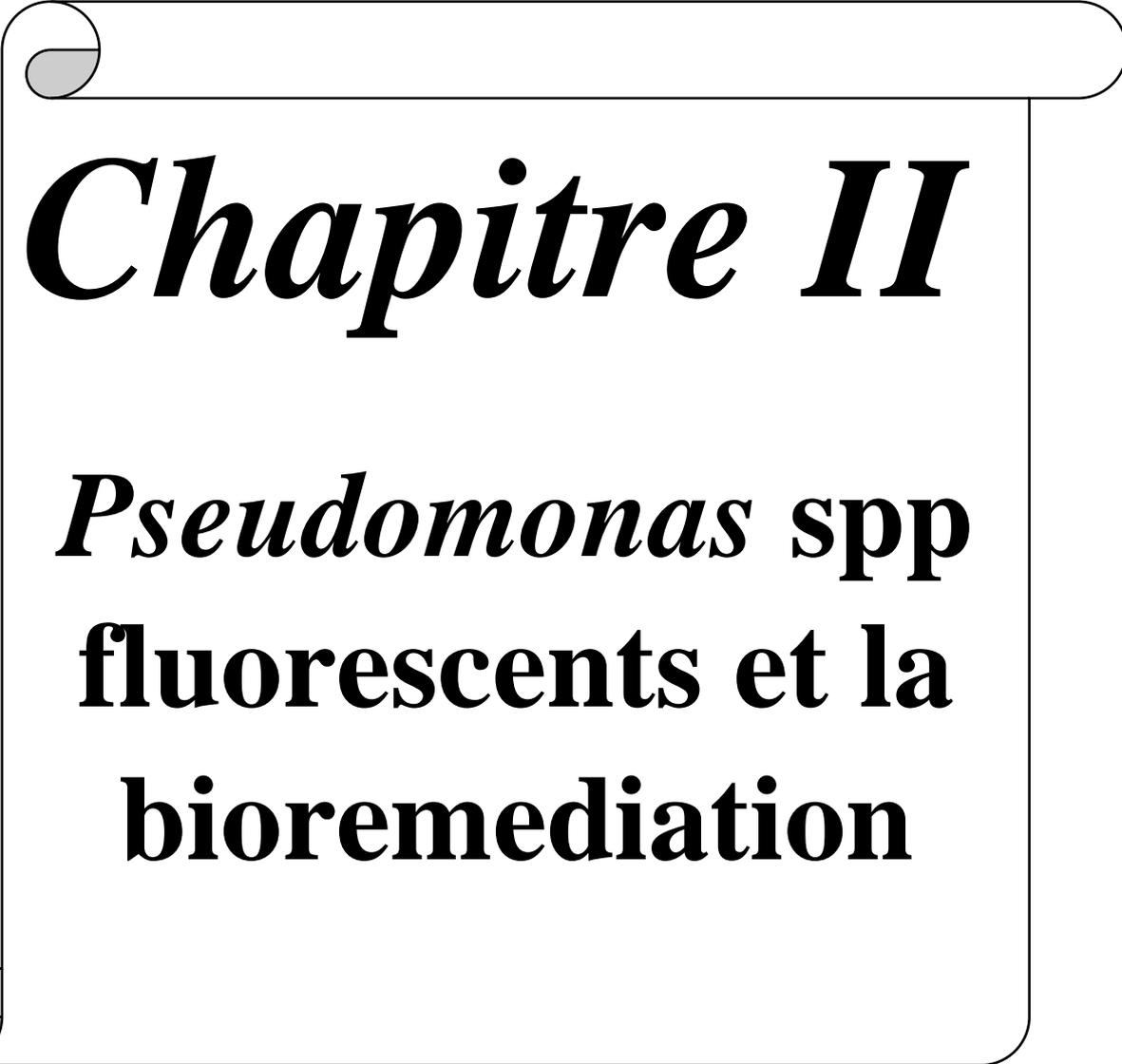
Comme toute technique la bio remédiation possède des avantages et des points faibles :

#### a. Avantages

- Parmi les traitements les plus rentables (VOGEL, 2001).
- Moins coûteuse que les procédés chimiques ou thermiques (Verdin et al., 2004).
- Méthode respectueuse de l’environnement et à haute performances (Giovannella et al., 2020).
- La bioremédiation est une alternative écologique et socialement acceptable aux approches d'assainissement conventionnelles (Dangi et al., 2019) ; **Vasilyeva et al., 2020**).

#### b. Les limites

- La bioremédiation se déroule lentement pour de nombreux produits chimiques (B. Janssen and Stucki, 2020).
- Les processus biologiques sont souvent très spécifiques. Les facteurs importants du site nécessaires au succès comprennent la présence de populations microbiennes métaboliquement capables, des conditions de croissance environnementales appropriées et des niveaux appropriés de nutriments et de contaminants.
- La bioremédiation est limitée aux composés biodégradables. Tous les composés ne sont pas sensibles à une dégradation rapide et complète.
- Il est difficile d'extrapoler des études en laboratoire et à l'échelle pilote aux opérations sur le terrain à grande échelle (**Barman, 2020**).

A decorative scroll frame with a black outline and rounded corners. The top and bottom edges are slightly curved, and there are small grey circular accents at the top-left and bottom-left corners, suggesting the frame is a scroll.

# *Chapitre II*

*Pseudomonas* spp  
fluorescents et la  
bioremediation

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des bactéries rhizosphériques majeures (Jayamohan *et al.*, 2018), ils se distinguent généralement visuellement des autres *Pseudomonas* par leur capacité à produire un pigment fluorescent jaune-vert soluble dans l'eau (Dowling et O'Gara, 1994).

Ce groupe taxonomique présente un large éventail de propriétés bénéfiques pour les plantes et contient des souches de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) capables de la phytostimulation et de la phytoprotection (Vacheron *et al.*, 2016) ; Par différentes mécanismes la fixation associative à l'azote, la solubilisation du phosphate et la production de métabolites antimicrobiens (Meyer *et al.*, 2010) ,la production de enzymes lytiques et résistance systémique induite (ISR) (Widnyana *et al.*, 2019).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents synthétisent des lipopeptides cycliques (CLP) aux propriétés antibiotiques et biosurfactantes(Nielsen *et al.*, 2002) ;leurs espèces comme (*Ps.fluorescens*, *Ps. putida*) ont un rôle écologique au sein du micro-environnement du sol en raison de leur traits métaboliques variés (Chinivasagam *et al.*, 2020).

### 1. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents

Le genre *Pseudomonas* a été décrit par Migula en 1894 selon leurs caractéristiques morphologiques (Coignet, 2014) . Il contient des bactéries ubiquitaires (Meghdas *et al.*, 2004) ; abondantes dans la rhizosphère (Botelho et Mendonça-Hagler, 2006) ; certains vivent en association avec les plantes, soit comme épiphytes facultatives, soit comme parasites (Faity, 2009).

La flexibilité génétique des *Pseudomonas* leur offre le pouvoir de vivre dans la plupart des niches environnementales ainsi une résistance élevée aux substances antimicrobiennes (Moore *et al.*, 2006). Ils remplissent plusieurs fonctions bénéfiques, y compris la santé des plantes et la bioremédiation des sols (Brandt *et al.*, 2006).

Ce genre comprend un grand nombre d'espèces et plusieurs groupes et sous-groupes (Duman *et al.*, 2020) . De nombreuses méthodes sont utilisées dans la classification de ce genre en se basant sur les caractéristiques génétiques et écologiques, le pouvoir pathogène et la structure antigénique (Mezaache, 2012).

Le genre *Pseudomonas* contient principalement des *Pseudomonas* spp. fluorescents, ainsi que quelques espèces non fluorescentes (Bossis *et al.*, 2000):

## Chapitre II : *Pseudomonas* spp. fluorescents et la bioremediation

---

- *Pseudomonas* fluorescents phytopathogènes à cytochrome c oxydase positif tels que *P. cichorii*, *P. marginalis* et *P. tolaasii* et des souches non-phytopathogènes, non nécrogéniques telles que *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis*, *P. aureofaciens* et l'espèce type *P. aeruginosa*
- *Pseudomonas* spp. fluorescents phytopathogènes nécrogènes à cytochrome c oxydase négatif : *P. syringae* et *P. viridiflava*
- *Pseudomonas* spp. non fluorescents : *P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes* et *P. pseudoalcaligenes*

Ce sont des Gram négatives de 0,5 à 1µm de diamètre, possèdent des flagelles polaires (Diaw et al., 2018) et non sporulées (Novik et al., 2015). Les cellules sont des bâtonnets courts et les colonies sont grandes avec une surface irrégulière, opaque, produisant des pigments fluorescents verts (Yahia et al., 2020). Il ont un métabolisme aérobie strict mais il peuvent utilisée l'arginine et -ou le nitrate pour une respiration anaérobie (Boukerma, 2012).

Ces bâtonnets sont prototrophes produisant des antibiotiques et des enzymes hydrolytiques (Sebihi, 2016). Ils sont des germes psychotrophes qui se développent à des températures minimales autour de 0 ° avec un optimum de croissance à 30C° (Rajmohan et al., 2002). Leur développement est inhibé en dessous de Ph 4 et il est ralenti entre Ph 4 et 5, aussi il est favorisé lorsque l'activité de l'eau est supérieure à 0,98 (Bornert, 2000).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents se cultivent aussi sur des milieux minéraux synthétique, avec une source simple de carbone comme l'acétate ou la pyruvate (Meliani, 2012). Les tests biochimiques de la fluorescence sont réalisés sur milieux King A et B. Les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents pures sont conservées en milieu LB ( ) plus 15 % de glycérol à -20°C (Rabhi, 2011). Ils peuvent être identifiées rapidement par le système API 20 E (Anwar O et al., 2020). Ce groupe contient des espèces qui produisent la pyoverdine à savoir, *P.aeruginosa*, *P.chlororaphis sub sp. P.chlororaphis*, *P.fluorescens*, *P .monteilli*, *P.putida*, *P.plecoglossidica*, *P. simiae*, *P.syringae* (Trapet, 2015).

Les chercheur ont rapporté qu'un seuil d'homologie de 99% de la séquence d'ADN de l'ARNr 16S était suffisant pour caractériser deux bactéries comme des espèces différents (Tran et al., 2017). Le génotype végétal et le sol influence la distribution des *Pseudomonas* spp. fluorescents telluriques (Toua et al., 2008).

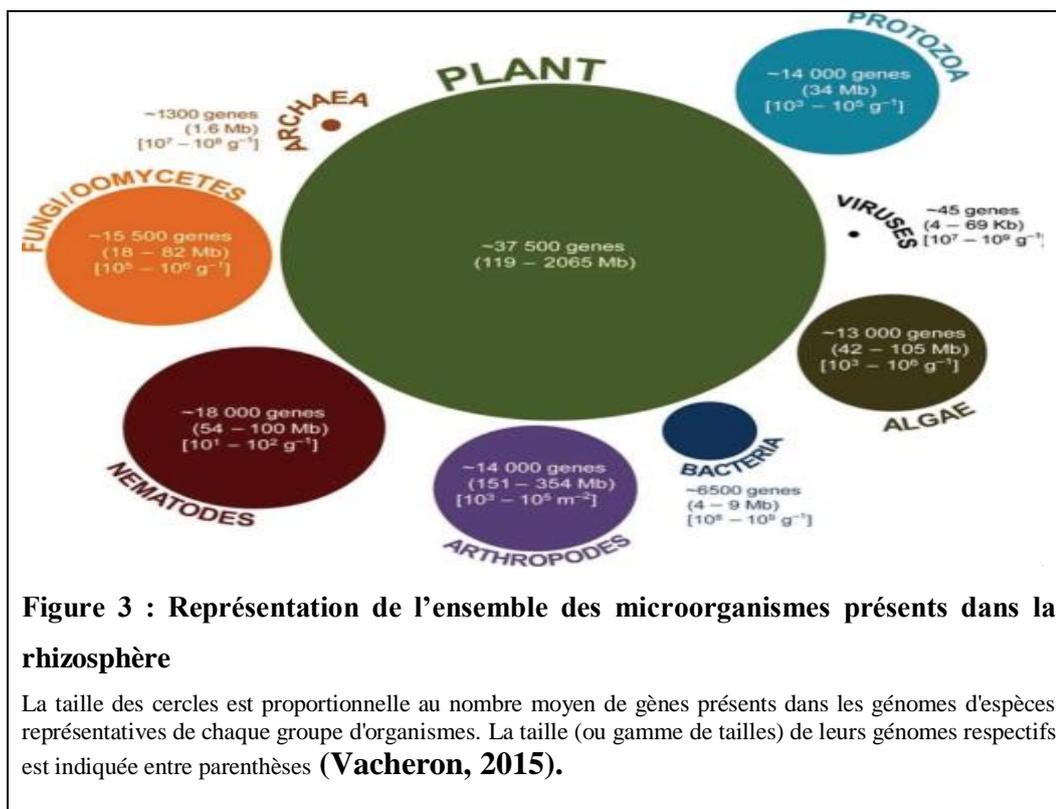
Les *Pseudomonas* spp. fluorescents représentent un modèle d'étude pour la compréhension des interactions avec les microorganismes et avec la plante ainsi la

compréhension des mécanismes d'action et des conditions permettant l'optimisation des effets bénéfiques de ces rhizobactéries (Benchabane et al., 2013).

Ils sont utilisées en agriculture comme biofertilisants ou biopesticides (Balki et Zenasni, 2019). Certains peuvent être utilisés pour la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures (Jyothi et Umamaheswara, 2009). De plus, les espèces de *Pseudomonas* sont capables pour faire face à des conditions environnementales défavorables telles que les hautes et basses température, concentrations élevées de sel, ainsi qu'une faible activité d'eau, oxygène et disponibilité des nutriments (Riveros-Rosas et al., 2019).

### 2. Les interactions plantes - *Pseudomonas* spp. fluorescents

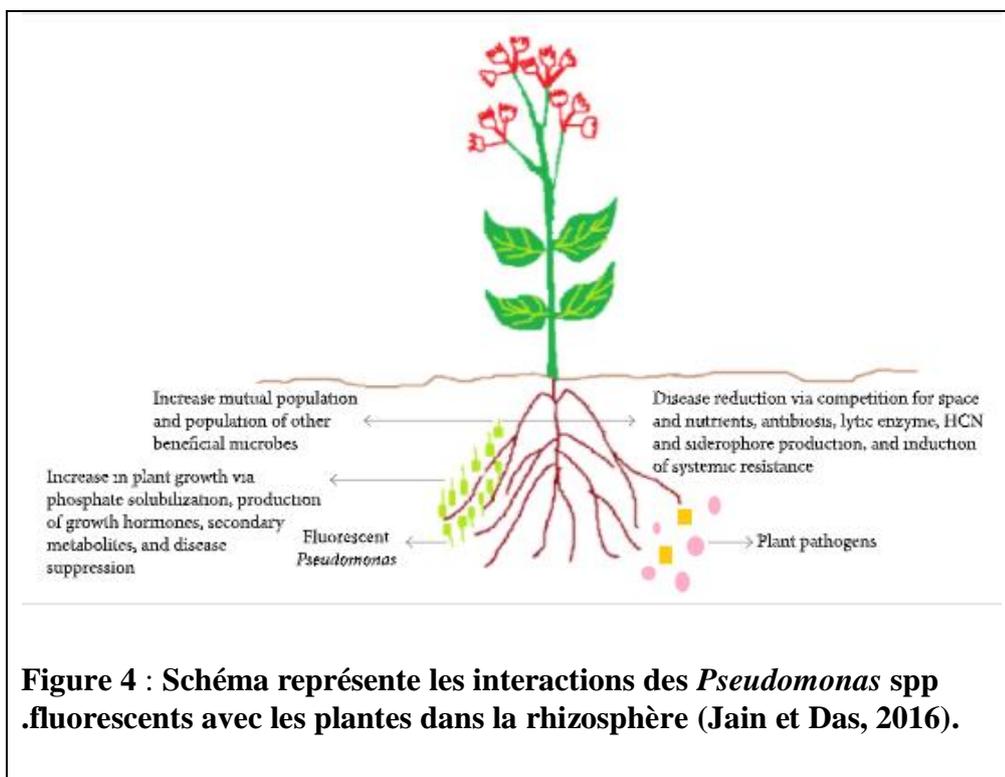
Les plantes sont en constante interaction avec des microorganismes (bactéries, champignons, oomycètes) à la fois au niveau de leur phyllosphère et de leur rhizosphère (Claire, 2017) (Figure 3). Elles nourrissent une grande variété de la communauté microbienne de la rhizosphère par leurs exsudats racinaires (Okutani et al., 2020) qui sont la source de carbone (C) (Pett-Ridge, 2019).



Les bactéries de *Pseudomonas* spp. fluorescent habitent l'environnement qui entoure la plante, les racines et même l'intérieur des racines, ils peuvent conduire à une augmentation de la croissance des plantes, généralement due à la suppression de microorganisme phytopathogène

(Mercado-Blanco et Bakker, 2007) et sont impliqués dans la lutte biologique (Sivasakthi et al., 2014). Leurs sidérophores (sids) majoritaires pyoverdines (pvds) possèdent un rôle dans la nutrition en fer et l'immunité de la plante (Lurthy, 2020) (Figure 4).

Certains *Pseudomonas* spp. fluorescents endophytes possèdent une activité antibactérienne et antifongique (Korejo et al., 2017) et d'autres peuvent être utilisées comme agents de lutte biologique pour gérer certains pathogènes (Niem et al., 2020). Des souches endophytes individuelles de *Pseudomonas fluorescens* peuvent être utilisées en tant que biofertilisants (Lally et al., 2017).



### 3. Les métabolites secondaires

#### a. Les hormones de croissances

Les phytohormones jouent un rôle essentiel dans la régulation de la croissance des plantes et de leur réponse au stress (Ansary et al., 2012). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents produisent différents types de phytohormones comme l'acide indole-3-acétique (IAA), gibbérellines et les cytokinines qui peuvent augmenter la surface et la longueur des racines et favorisent le développement des plantes (Sharma et al., 2018). Ainsi, ils ont une influence sur les réponses physiologiques chez ces dernières (Kumudini et Patil, 2019).

#### b. Les enzymes

Les enzymes sont des catalyseurs qui, dans les conditions douces de température, de pH et de pression des cellules, effectuent des réactions chimiques à une vitesse étonnamment élevée. Ils se caractérisent par une efficacité et une spécificité remarquable. Les substrats sont les substances sur lesquelles les enzymes agissent (Blanco and Blanco, 2017).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents produisent des enzymes comme la cellulase, la pectinase, la chitinase et la protéase qui sont impliqués dans la suppression de l'agent pathogène (van Loon, 2007).

### c. Les sidérophores

Les sidérophores sont des substances de bas poids moléculaire, peuvent chélater le  $Fe^{3+}$  puis le transférer dans l'intermembrane des cellules microbiennes pour assurer leur croissance normale. En outre, ces composés peuvent également mobiliser et transférer les ions métalliques, tels que  $Ni^{2+}$  et  $Cd^{2+}$  (Jiang et al., 2019). En cas de carence en fer les PGPR, en particulier les *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent les produire (Yazdi et al., 2018).

Les sidérophores qui sont largement répandus parmi les bactéries sont de trois types basés sur la nature chimique de leurs sites de coordination (Rr et al., 2019). Ces molécules ont de nombreux secteurs d'applications vu leurs propriétés de chélation des métaux et de leur rôle clé dans la croissance bactérienne et la virulence (Schalk et al., 2020). Ils sont utilisés dans la thérapie de corrélation environnementale, les porteurs d'antibiotiques, les inhibiteurs des enzymes métalliques, la promotion de la croissance et le biocontrôle des plantes et des phytopathogènes. L'élimination des hydrocarbures pétroliers du milieu marin, la bioremédiation des sols et la médication des éléments inhabituels de la terre ont été également signalés (Ab-Zaid et al., 2020).

La pyoverdine (jaune-vert), pigment des *Pseudomonas fluorescents* (Figure 5), transporteur de fer est soluble dans l'eau. Connu en tant que pigment fluorescent, représente un marqueur prêt pour la différenciation bactérienne. Elle joue une fonction physiologique importante pour satisfaire l'exigence absolue en fer de ces bactéries aérobies (Meyer, 2000).

Les exemples les plus connus qui produisent ce pigment incluent les pathogènes ou des espèces non pathogènes telles que : *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *P. syringae* ou *P. fluorescens* (Ringel et Brüser, 2018). Les sidérophores agissent comme un agent de lutte biologique contre les phyto-pathogènes nocifs et comme un biocapteur ainsi il peut être utilisé en bioremédiation (Saha et al., 2015) et en médecine pour tuer les bactéries à l'aide des récepteurs des sidérophores (Butaité, 2017).



**Figure N°5 : Les *Pseudomonas* spp. fluorescent sous la lumière UV (Anonyme ,2020).**

### **d. Molécules volatiles**

Les molécules volatiles sont généralement considérées comme un métabolite secondaire (Blumer et Haas, 2000). Ils sont des molécules organiques caractérisées par un faible poids moléculaire (< 300 Da) et présentent une forte pression de vapeur ( $\geq 0,01$  kPa à 20 °C). Grâce à ces propriétés physiques, ils peuvent traverser les membranes cellulaires végétales, une fois libérées dans le sol par les racines des plantes, jouant ainsi un rôle important dans l'interaction des végétaux avec leur environnement (Kaddes et al., 2020).

Le cyanure d'hydrogène (HCN) est un inhibiteur efficace du cytochrome c oxydase de la chaîne respiratoire et d'autres métallo-enzymes. Il est rencontré chez 88,89% des *Pseudomonas* d'un sol rhizosphérique. Chez les *Pseudomonas*, la biosynthèse de l'HCN à partir de la glycine, comme premier précurseur, est codée par trois gènes (hcn A, B, C) (Arif, 2018).

Il a été démontré que le HCN inhibe (i) plusieurs maladies fongiques des racines, (ii) le développement de symptômes de maladie dans les feuilles des semis et (iii) la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes *in vitro* (Rijavec et Lapanje, 2017).

### **e. Les antibiotiques**

La présence d'agents antimicrobiens dans les concentrations sous-inhibitrices peut avoir un effet important dans de nombreux types d'environnement et mérite des recherches plus approfondies (Mat'átková et al., 2019).

Les antibiotiques sont des substances à forte activité biologique et résistantes à la décomposition biologique. Les bactéries du groupe des *Pseudomonas* spp fluorescents peuvent être déterminées par leur capacité à produire des métabolites antibiotiques, tels que la pyolutéorine, la pyrrolnitrine, la phénazine, la pyocyanine, pour supprimer les agents pathogènes fongiques transmis par le sol (**Prabhukarthikeyan Keerthana, 2018**).

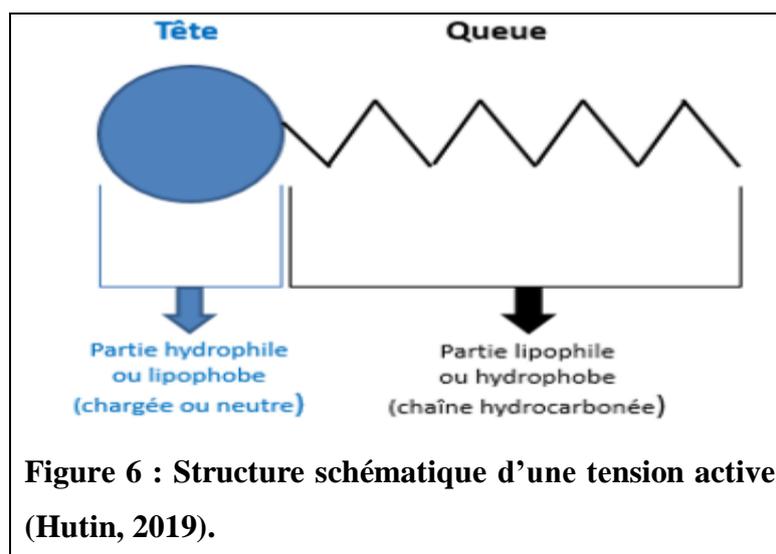
*Pseudomonas fluorescens* 2P24 produit du 2,4-diacétylphloroglucinol (2,4DAPG) comme principal composé antibiotique qui protège les plantes contre les maladies transmises par le sol (**Li et al., 2018**).

*Pseudomonas fluorescens* FD6 secrètent des antibiotiques comme les pyrrolnitrine (PRN), 2,4-diacétylphloroglucinol (2,4-DAPG) et les pyolutéorine (PLT). Ces deux dernier sont essentiels pour la lutte biologique contre les maladies transmises par le sol ( **Zhang et al., 2020**).

### f. Les tensioactifs (biosurfactants)

Les tensioactifs sont des composés amphipathiques qui ont une partie hydrophobe dirigée vers la surface et une partie hydrophile qui est dirigée vers la solution. Ils sont des produits extracellulaires ou des composants qui se trouvent dans les membranes cellulaires des procaryotes et des eucaryotes. Les biosurfactants sont classés en quatre grandes catégories: les glycolipides, les acides gras, les lipopeptides et les types polymères (**Araújo et al, 2020**).

La capacité de produire des biosurfactants lipopeptidiques cycliques est un phénotype courant chez les *Pseudomonas* spp .fluorescents associées aux racines. Ils réduisent la tension interfaciale entre deux phases et peuvent être utilisés dans les textiles, la bioremédiation environnementale et la récupération des combustibles fossiles ainsi que dans les industries cosmétiques, pharmaceutiques et alimentaires. Les bio-surfactants sont des métabolites biodégradables et peuvent être produits à partir de ressources renouvelables par de nombreuses bactéries (**Huang et Tang, 2007**).



#### 4. Intérêt des métabolites secondaire des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la bioremédiation des sols

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont utilisés pour l'assainissement des polluants du sol tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les biphényles polychlorés (PCB) et les pesticides persistants (Stelting et al., 2012). En plus, les souches de *Pseudomonas fluorescens* pourraient détoxifier certains polluants organiques et inorganiques, les métaux lourds (Wasi et al., 2013) et les eaux usées (Agarry et al., 2008). Ce groupe est utile dans la bioremédiation *in situ* des sols contaminés par le chlorpyrifos. Les résultats ont montré 89% de dégradation (Vidya Lakshmi et al., 2008).

Les rhamnollipides des *Pseudomonas* spp. fluorescents aide à dégrader les hydrocarbures, aussi leurs consortiums sont des agents biologiques utiles dans la bioremédiation environnementale (Kaczorek et Olszanowski, 2011). Ainsi, les pyoverdine de ce groupe utilisée pour l'élimination du fer des flocons d'amiante est une stratégie innovante de bioremédiation bactérienne (David et al., 2020).

#### 5. *Pseudomonas* spp. fluorescents et l'architecture de sol

La réussite de la méthode biologique de dépollution réside non seulement dans le choix de l'agent biologique mais également dans la maîtrise des conditions physicochimiques du sol qui permettront son bon développement. La présence de l'accepteur d'électrons adéquat est nécessaire, le pH doit être proche de 7, la température doit être optimale (proche de 25 °C), un taux d'humidité compris entre 25 à 85 % est requis en plus le sol doit être suffisamment perméable. Par ailleurs, il faut être sûr qu'il n'y aura pas de développement de micro-organismes antagonistes ou dangereux pour l'environnement. C'est un exemple de conditions favorable testé

pour une bioremediation par *P.fluorescens* d'un sol pollué par des hydrocarbures (Verdin et al., 2004).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents semblent avoir un certain degré d'endémicité, c'est-à-dire la spécificité de certaines espèces / souches à différents endroits (Lopes et al., 2018). La souche type M7D1T qui a présenté un ensemble de gènes associés à PGPR est un bon candidat à utiliser pour la récupération de sols contaminés (Poblete-Morales et al., 2020).

D'autre part, la biodiversité des sols est vulnérable à tant de menaces telles que le changement climatique, la pollution, les espèces envahissantes et la plus importante l'agriculture intensive (Tiwari et al., 2020). Certaines bactéries de groupe *Pseudomonas* spp. fluorescents ont développé un système de signalisation, le chimiotactisme, favorisant l'accès aux Hydrocarbure Aromatique Polycyclique. Ces mécanismes interviennent via des chimiorécepteurs et des voies de signalisation, et provoquent un déplacement des bactéries selon le gradient de concentration du polluant (Martin, 2011).

### 6. Mécanismes impliqués par les *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la bio remédiation des sols

#### a. La résistance

Le but fondamental de tous les mécanismes de résistance consiste à réduire les concentrations intracellulaires de métaux afin de minimiser leur effet toxique. Les principaux mécanismes de résistance sont l'efflux, la liaison (intracellulaire ou extracellulaire), absorption réduite et transformation en formes moins toxiques. Les mécanismes varient non seulement avec le microbe mais aussi avec le métal (Tripathi et Srivastava, 2006).

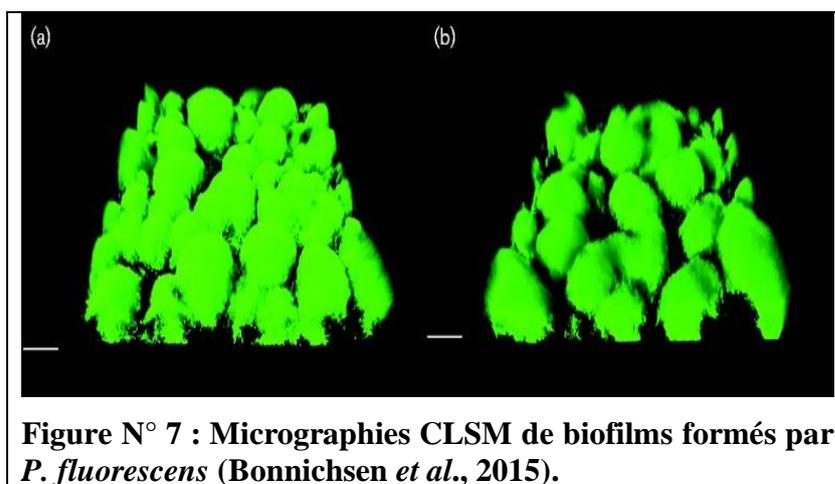
Un plasmide de la bactérie *Pseudomonas fluorescens*, pMOL28 (180 kb), héberge un opéron responsable de la résistance inductible au cobalt et nickel (cnr), et code pour un efflux dépendant de système d'énergie ; le plasmide est autotransmissible et a été transféré à d'autres souches sensibles au nickel (Park et al., 2003).

#### b. Le biofilm

La bioremediation avec le biofilm présente une alternative plus sûre parce que les cellules d'un biofilm ont une meilleure adaptation et survie (surtout pendant les périodes de stress) car ils

sont protégés au sein de la matrice ; dans ce cas l'utilisation des xénobiotiques est accélérée. Les biofilms aussi soutiennent une densité de biomasse élevée qui facilite les processus de minéralisation en maintenant des conditions optimales de pH, de concentrations localisées de soluté et de potentiel redox au voisinage des cellules. *Pseudomonas fluorescens* peut dégrader l'*o*-Cresol, naphthalene, phénol et le 1, 2,3-trimethylbenzene (Singh *et al.*, 2006).

En plus le biofilm (**Figure 7**) intervient en détoxification (bioaccumulation des métaux), plus particulièrement dans le traitement des déchets riches en matière organique (par méthanisation anaérobie) (Dhahri, 2014).



### c. Le quorum sensing :

Le mécanisme du quorum sensing (QS) microbien possède des applications dans la détection et la bioremédiation des contaminants environnementaux. Il joue un rôle clé dans la tolérance au stress, la formation de biofilm, ainsi que dans la régulation des propriétés de virulence. Ce mécanisme fournit une sensibilité électrochimique à plusieurs micro-organismes, permettant ainsi leur potentiel de biodétection de différents contaminants métalliques comme l'arsenic, le plomb, le zinc, le cuivre, mais aussi le QS possède une influence sur le métabolisme bactérien, en particulier lors de la biodégradation. Cet effet a été confirmé dans la dégradation des hydrocarbures par les *Pseudomonas* (Sarkar *et al.*, 2020).

Le QS joue un rôle affirmatif dans la dégradation des HAP ; La dégradation des HAP par une bactérie marine *P. aeruginosa* N6P6 était augmenté de façon significative avec l'augmentation de l'expression des gènes QS (*lasI* et *rhlII*). L'augmentation dans l'expression génique du QS améliore la croissance du biofilm et la production d'EPS résultant en dégradation augmentée des HAP ; La production d'émulsifiants induite par QS par les bactéries aide à

## **Chapitre II : *Pseudomonas* spp. fluorescents et la bioremediation**

---

disperser l'huile et permet aux bactéries de se développer en offrant une plus grande surface(Neelam et *al.*, 2016).

# ***Chapitre III***

**Application des *Pseudomonas*  
spp . fluorescents *dans la*  
*bioremediation* des sols  
contaminés par le pétrole**

La vaste consommation mondiale des hydrocarbures a entraîné une grave contamination de l'environnement (Varjani et al., 2020). La bioremédiation représente une approche durable de l'assainissement des sols contaminés par les hydrocarbures pétroliers avec des alternatives telles que l'élimination dans les désorption thermique (Cunningham et al., 2020).

Certaines bactéries utilisent les hydrocarbures comme source de carbone et d'énergie. A cet effet, ces bactéries ont été ciblés comme agents de remédiation (Sarkar et al., 2020). Plusieurs souches capables de dégrader les hydrocarbures appartiennent aux genres : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacteria*, et *Nocardia* (Hassaine, 2016). Les *Pseudomonas* spp fluorescents sont des candidats efficaces pour la biodegradation des hydrocarbures pétroliers (PHC) (Huang, 2020).

### **1. Les hydrocarbures pétroliers**

Les hydrocarbures sont les composés organiques les plus simples et ne contiennent que carbone et hydrogène mais ils peuvent être à chaîne droite ou à chaîne ramifiée avec la même formule empirique mais montrant des différences par rapports aux propriétés (Speight, 2011). Ils sont différenciés sur la base de leur longueur de chaîne, saturation ou de leur structure. Les hydrocarbures sont divisés en deux catégories principales sur la base de la structure et constituants chimiques en aliphatiques et aromatiques. Les aliphatiques contiennent des chaînes d'atomes de carbone reliées entre elles, tandis que les aromatiques contiennent un ou plusieurs cycles benzéniques liés ensemble (Epps, 2006).

Le pétrole est dérivé à partir de matières organiques produites par des restes biologiques dans les sédiments par transformation thermique. La dispersion de la matière organique insoluble dans la roche sédimentaire est souvent appelée «kérogène» qui est considérée comme précurseur du pétrole (Jiang et al., 2016).

### **2. Origine du pétrole**

Le pétrole, en latin "petroleum" qui signifie «huile de roche» (Vieira et al., 2007), est un liquide naturel, huileux et inflammable composé principalement d'hydrocarbures. Il est généralement obtenu sous la surface de la terre (Gad, 2014).

### **3. Composition chimique**

Le pétrole a une composition complexe formée principalement d'hydrocarbures aliphatiques et aromatiques et des concentrations plus faibles d'asphaltènes, de résines et de métaux (Viesser *et al.*, 2020), avec un ou plusieurs atomes d'azote, de soufre et / ou d'oxygène (Schobert, 2013)

### **4. Pollution et la toxicité du pétrole**

Une détérioration de l'environnement où le déversement et la fuite des hydrocarbures pétroliers pendant la production, le stockage et le transport du pétrole, le raffinage et le traitement, ainsi que les déversements et les rejets d'hydrocarbures pétroliers se produisent souvent à la suite d'accidents d'éruption pendant le développement d'un champ pétrolier (Xu *et al.*, 2018).

La toxicité d'une substance est déterminée en mesurant ses effets sur l'organisme entier, un organe, un tissu, une culture cellulaire ou une espèce sélectionnée. Des indicateurs tels que DL50 ou CL50 sont utilisés pour mesurer la toxicité de composés chimiques (Trzciński, 2020).

Le diagnostic de toxicité pétrolière peut être simple ou très difficile selon les circonstances. Les produits pétroliers raffinés (par exemple, l'essence, le kérosène, le diesel, le naphtha de pétrole et les distillats) peuvent contenir des composés toxiques supplémentaires, notamment des métaux lourds, des surfactants-émulsifiants, des additifs anti-usure et des antioxydants (Wilson, 2012).

### **5. Impact de la pollution des pétrolières sur l'environnement et les êtres vivants**

Les produits pétroliers et les huiles sont des contaminants fréquents du sol et posent un grave problème environnemental (Ouriache *et al.*, 2020).

#### **a. Sol**

La contamination des sols par les hydrocarbures pétroliers est généralement causée par des écoulements et des émissions atmosphériques (Bouزيد, 2019). Les hydrocarbures pétroliers se diffusent horizontalement et migrent également vers le bas par gravité, ce qui donne un blocage des pores du sol. Ils sont difficiles à être séparés du sol et peuvent être fortement absorbés à la matière organique et encapsulés dans le sol (Zhang *et al.*, 2020).

L'hydrocarbure de pétrole provoque une détérioration des propriétés biochimique et physico-chimique du sol (Wu *et al.*, 2014) ainsi il provoque des effets néfastes sur les microorganismes du sol et les activités enzymatiques (Ahmed *et Fakhruddin*, 2018). L'entrée

## **Chapitre III : Application des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la bioremediation des sols contaminés par le pétrole**

---

du polluant pétrolier pourrait également réduire la teneur en AP (phosphore disponible) et AN (disponible azote) dans le sol, modifiez le rapport carbone / azote (C / N), rapport carbone-phosphore (C / P), pH et EC (conductivité électrique) (Wang et al., 2020).

### **b. Végétaux**

La pollution pétrolière cause une diminution de la diversité et de la richesse végétale (Arellano et al., 2017). La réduction de la croissance et la hauteur de la tige des plantes résulte de l'effet toxique direct de pétrole sur ces derniers. L'absence de graines viables entraîne un manque de germination (Odukoya et al., 2019) et une inhibition de la croissance des feuilles et l'apparition de lésions nécrotiques (Glibovytska et Karavanovych, 2018).

Les éléments minéraux sont moins disponibles pour les plantes dans les sols pollués par les hydrocarbures en raison de leur immobilisation par des micro-organismes en raison d'un rapport C / N élevé, du revêtement des particules du sol avec de l'huile, de la prévention de la dissolution des espèces mobiles et des effets négatifs du pétrole sur les bactéries impliquées dans le cycle de l'azote du sol. Plusieurs études ont noté également que les plantes poussant sur des sols pollués par les hydrocarbures pétroliers étaient gravement endommagées par des ravageurs (Tumanyan et al., 2017).

### **c. Santé humaine**

Les hydrocarbures pétroliers pénètrent dans le corps humain soit par voie cutanée, soit par une inhalation ou une ingestion qui provoque des effets indésirables principalement sur les systèmes gastro-intestinal (GI), respiratoire et nerveux (Coppock et Christian, 2007). Le pétrole peut entraîner une altération de la fonction pulmonaire dans les cas d'asthme et d'effets thrombotiques chez les personnes atteintes d'une maladie coronarienne (Swiha, 2019). Les hydrocarbures pétroliers ont des effets cancérigènes et immunotoxiques (Liamin, 2017), tératogènes et mutagènes pour l'homme (Varjani et al., 2017). La concentration, la durée de l'exposition et la voie d'exposition, ont un impact direct sur la santé humaine (Benlaribi et Djebbar, 2020).

## **6. Etapes d'utilisation des *Pseudomonas* spp. fluorescent dans la bioremediation**

### **6.1. Critères de sélection des *Pseudomonas* spp. fluorescents pour la bioremédiation**

### Chapitre III : Application des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la bioremediation des sols contaminés par le pétrole

---

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont caractérisées par une croissance rapide au laboratoire (Oulebsir-Mohandkaci et al., 2020). Ils peuvent pousser dans un milieu minimum (Novik et al., 2015).

Le potentiel de dégradation des micro-organismes a été utilisé dans plusieurs applications. C'est la base de la bioremédiation donc il faut être équipé de la connaissance des caractéristiques physiologiques, des capacités biochimiques, écologie et plasticité génétique du micro-organisme ou des consortiums utilisés dans le processus (Kumar et Sharma, 2019).

Les bactéries de groupe *Pseudomonas* spp. fluorescents sont polyvalentes, présentes dans divers habitats et peuvent même se développer dans l'eau distillée. Ils ont un impact significatif sur l'écologie (Önal et al., 2020). Ils décomposent la plupart des produits chimiques à travers les hydrolases qu'ils synthétisent (Wang et al., 2012). Ils sont génétiquement modifiables comme la souche de *P.putida* qui contient des plasmides XYL, NAH, CAM et OCT et peuvent dégrader, l'octane, le salicylate et le naphthalène (Kumar et al., 2020). Ils Possèdent un potentiel de dégradation des résidus en utilisant la bioremediation *in situ* (Reddy et al., 2020).

#### 6.2 Au niveau du laboratoire (*in vitro*)

Les bactéries utilisées dans la technique de bioremediation (recherches et applications) y compris ceux qui appartiennent au groupe de *Pseudomonas* spp. fluorescent sont souvent isolés des environnements contaminés comme le cas des *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas citronellolis* KHA isolées en Algérie par Benchouk (2016). Comme elles peuvent être également isolées des rivières comme le cas d'une étude menée au Niger (Renner et al., 2019) et une autre en chine ou ils ont utilisé *Pseudomonas stutzeri* pour le même but (Qian et al., 2020).

Les échantillons du sol sont collectés avec une spatule propre et transférés dans des emballages en plastique stérilisés, transportés au laboratoire dans les 12 h qui suit les prélèvements et analysés dans le même jour en utilisant les techniques microbiologiques standard, d'enrichissement et de purification (Mahmoud et al., 2020).

#### A. Criblage

### **Chapitre III : Application des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la bioremediation des sols contaminés par le pétrole**

---

D'après les études menées par **Roberderina et al. (2019)**, afin de tester la tolérance des souches isolées pour la dégradation du pétrole, elles doivent être cultivées sous différentes concentrations de pétrole (250, 500, 1000 et 1500 mg / L). Les résultats qui révèlent une résistance à des niveaux élevés de concentration (1500 mg / L) sont les plus performantes et sont retenues pour l'essai de dégradation du pétrole.

Pour les bactéries endophytes, la vérification de la capacité de dégradation du pétrole et ces dérivés s'effectue dans des plaques ELISA, exposant ainsi les bactéries à une solution de milieu minimal de DCPIP (sel de sodium de 2,6-dichloroindofénol) et le pétrole ou le dérivé testé. Une lecture positive de la dégradation s'observe par décoloration du DCPIP (**Oliveira et al., 2012**).

La conservation des espèces de *Pseudomonas* isolées peut être effectuée dans un réfrigérateur,

maintenu à 4 ° C pour une utilisation ultérieure (**Okparanma et al., 2009**).

#### **B-Identification**

Les systèmes miniaturisés permettent une identification rapide et efficace des *Pseudomonas* spp fluorescents. La recherche effectuée par une équipe scientifique a prouvé la rapidité et l'efficacité des systèmes API 20E, API NFT et Biolog version 3.0 pour l'identification des bactéries de ce groupe ainsi que l'électrophorèse des protéines (**Lacroix et al., 2005**).

La méthode de Caractérisation physiologique des bactéries se fait selon les critères suivants : production de lévane, réaction d'oxydase, activité pectinolytique, production d'arginine déshydrolyase et le test d'hypersensibilité sur tabac.

L'identification moléculaire est préférable vu la complexité de la taxonomie des *Pseudomonas spp fluorescent* comme l'outil biopuces ADN notamment le logiciel de sélection de sondes nommé PhylArray, l'hybridation ADN-ADN ou ARNm-ADN, le clonage-séquençage, les empreintes génétiques, la température Gradient Gel Electrophoresis (TGGE), la Ribosomal Intergenic Spacer Analysis (RISA) et la Denaturing High-performance Liquid Chromatography (DHPLC) (**Milton, 2012**).

#### **6-3A l'échelle pilote**

### Chapitre III : Application des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la bioremediation des sols contaminés par le pétrole

---

L'étude de dégradation à l'échelle pilote pourrait être appliquée dans le macrocosme puis après vérification de l'efficacité de la dégradation des souches / consortiums et de la capacité de leur survie ainsi que les conditions optimales, elle pourra être utilisée sur le terrain (Katarína et al., 2019). Les recherches sur les biosurfactants ont montré leurs importances pour la dégradation du pétrole (He et al., 2020) ainsi que les enzymes secrétés par le groupe des *Pseudomonas* spp fluorescent (Medić et al., 2020)

Les biosurfactant agissent en diminuant l'interface de tension huile-eau et agissent en empêchant la coalescence des gouttes d'huile dans l'eau (Ron et Rosenberg, 2002). Les bactéries capables de produire des biosurfactants peuvent utiliser le pétrole comme source de carbone. une expérience à l'échèle pilote a démontré que les souches de *P. aeruginosa* produisant un biosurfactant sont capables de dégrader le pétrole brut, même en présence de salinité (Ebadi et al., 2017)

Les étapes à cette échelle commencent par la production des biosurfactants. Cet exemple traite le cas de *P. aeruginosa* et de *Bacillus* ou les isolats ont été activés par croissance pendant une nuit et incubés à 30 ° C sous agitation à 200 tr / min pendant sept jours en utilisant une boue huileuse. Après épuisement du glucose, la production de biosurfactant a été vérifiée par la mesure de la tension superficielle entre une suspension cellulaire / couche du surnageant. Le taux de dégradation a atteint les 95% à 30C° (Lima et al., 2011).

Selon (Peekate and Abu, 2018), l'efficacité des biosurfactants secrétés par *P.fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa* pour la dégradation des dérivés des hydrocarbures comme le pétrole était plus élevé que son agent biologique. Cette recherche a été réalisée dans un labo nigérien à l'échelle pilote en prouvant d'abord la production des biosurfactant et avec une quantification du pétrole dans les échantillons de sol. Des essais à la même échelle prouvent la performance des enzymes du groupe *Pseudomonas* spp fluorescent dans cette opération pour atteindre des taux élevés de dégradation (Li et al., 2020).

Des enzymes secrétées par les espèces du groupe *Pseudomonas* spp. fluorescents du sol comme les déshydrogénase, catalases, et polyphénols et oxydases ont montré de bonnes capacités de dégradation du pétrole brut ainsi que l'uréase qui a été le plus efficace (Kumar et al., 2014).

La dégradation du pétrole et l'essence par les enzymes secrétés à partir des bactéries du groupes *Pseudomonas* spp fluorescent tel que *P.aeruginosa* PSA5 représente une opportunité promotrice pour l'application en bio remédiation vu les résultats spectaculaires qui

### Chapitre III : Application des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la bioremediation des sols contaminés par le pétrole

arrivent jusque à 84°° (Parthipan et al., 2017) D'autre part, l'enzyme alkane hydroxylase secrété par *P.aeruginosa* DN1 prouve cette réussite *in vitro*, D'autres études à l'échèle pilote ont été effectués dans le but de confirmer ces résultats mais dans des spectres plus larges (Meng et al., 2018).

Les résultats de l'étude de la biodégradation du naphtalène en bioreacteur pilote (figure n°8) à différentes concentrations initiales par l'enzyme dioxygénase secrété par *Pseudomonas* spp fluorescents ont montré une absence de la phase de latence. Ce qui reflète la bonne adaptation des cellules à la source de carbone et au milieu utilisé. La dégradation a dépassé les 80% après 15 jours d'incubation à une température constante (30°C) (Abouseoud, 2007).

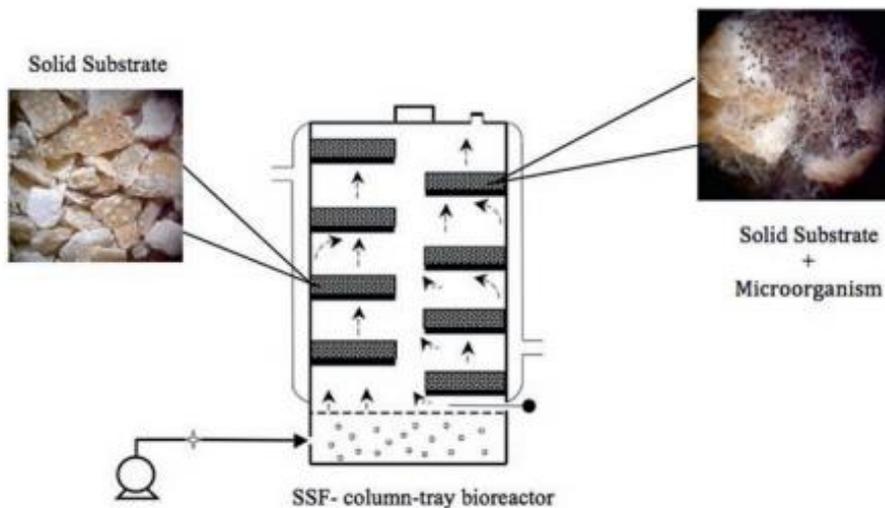


Figure N°8 : Schéma d'un bioreacteur (Arora et al., 2020).

#### 6.4. L'utilisation de l'ingénierie pour augmenter la performance des *Pseudomonas* spp. fluorescents

Le *Pseudomonas fluorescens* ATCC 17400 a été génétiquement modifiée pour la dégradation du polluant 2,4-dinitrotoluène. Une souche recombinante désignée MP a été construite par transfert conjugatif à partir de Burkholderia sp. souche DNT du mégaplasmide pJS1, qui contient les gènes DNT de la dégradation du polluant. L'introduction des gènes DNT dans le Chromosome ATCC 17400 de *P. fluorescens* en utilisant un plasmide de délivrance à base de Tn5 d'intégration chromosomique a généré une souche dégradante stable pendant longtemps, qui a été désignée RE. En plus la présence de *P. fluorescens* RE dans les sols

### **Chapitre III : Application des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la bioremediation des sols contaminés par le pétrole**

---

contenant les niveaux de 2,4-dinitrotoluène mortels pour les plantes ont considérablement diminué les effets toxiques de ce composé sur la croissance d'*Arabidopsis thaliana* (Monti et al., 2005).

#### **6.2. Application des *Pseudomonas* spp fluorescent à grande échelle pour la bioremediation du sol pollué par les hydrocarbures pétroliers**

Le principal défi dans la conception d'une stratégie de bioremédiation est de déterminer les principaux facteurs qui limitent l'activité microbienne et sélectionnent les conditions de traitement appropriées. Les facteurs limitants susceptibles de se produire sur un site contaminé peuvent faire référence aux aspects physiques, chimiques ou biologiques. Les facteurs biologiques qui limitent la biodégradation peuvent inclure une faible activité et une faible densité de bactéries indigènes ainsi que les interactions entre les agents dégradants et d'autres organismes (Fuentes et al. 2014). En raison des risques, l'autorisation de bio remédiation par les bactéries est refusée pour des applications à grandes échelles dans la plupart des pays (Lahti, 2020).

Des études ont montré que les produits de bioremédiation peuvent être efficaces au laboratoire, mais nettement moins sur le terrain. En effet, les études en laboratoire ne peuvent pas toujours simuler des conditions du monde réel complexes telles que l'hétérogénéité spatiale, les interactions biologiques, les effets climatiques et les limitations du transport de masse des nutriments. Par conséquent, les études sur le terrain et les applications sont les tests ultimes ou la démonstration la plus convaincante de l'efficacité des produits de bioremédiation

Par rapport aux produits microbiens, très peu d'additifs nutritifs ont été développés et commercialisés spécifiquement comme agents de bioremédiation commerciaux pour le nettoyage des déversements d'hydrocarbures (Nilanjana Das, 2010).

#### **7. Les limites d'utilisation des *Pseudomonas* spp fluorescents dans la bioremediation des hydrocarbures pétroliers**

1-Les opérations de bio remédiations des sols exposent les personnels a des nombreux risques biologiques nécessiteraient d'être étudiés donc il faudra évaluer ces risques liés aux microorganismes mis en œuvre et l'exposition des opérateurs durant les phases du traitement biologique (Vogel, 2008).

### **Chapitre III : Application des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la bioremediation des sols contaminés par le pétrole**

---

2-Pour la bioremediation, il est difficile de savoir les microorganismes réellement pathogènes pour l'homme ;ils existent des *Pseudomonas* qui surinfectent des plaies, dans d'autre cas ya les *Pseudomonas fluorescens*,*Pseudomonas alcaligenes*,*Pseudomonas mendocina* qui sont connus pour leurs dégradation des alcanes et qui sont manipulé autant que souches identifiées, possible d'évaluer le danger pour les opérateurs immunodéprimées laire de la pulvérisation des bactéries sur les tertres ou autre étapes de bioremediation(**Lahoussine,2013**).

3-Des résultats obtenus au laboratoire montrent que des souches appartenant à des taxons bactériens aussi connus et étudiés que le genre *Pseudomonas* pourraient s'insérer dans la liste des bactéries naturellement transformables *in situ*, lors de la décharge de foudre dans un sol, les perturbations électriques ainsi générées pourraient être à l'origine de la pénétration passive de l'ADN extracellulaire présent dans l'environnement immédiat des micro-organismes telluriques (**simont,2000**) .

4-La présence dans les nuages de bactéries aérosolisées capables de former des noyaux de glace à l'origine des précipitations et impliquées dans le déclenchement de la foudre, telles que la bactérie phytopathogène à répartition mondiale *Pseudomonas syringa*, qui peut être impliquée dans le transfert horizontal de gènes chez les bactéries rhizosphériques (**Blanchard,2014**).



***Conclusion***

***Et***

***Perspectives***

## Conclusion et perspectives

---

La pollution représente un des défis importants pour la santé humaine et la diversité des écosystèmes à court ou à long terme dans le monde entier, elle est d'origine anthropique, c'est-à-dire produits issue des activités humaines.

Ce problème ne peut être résolu par des outils conventionnels et des stratégies traditionnelles comme les traitements physico-chimiques qui ils ont un risque d'apparition d'autres polluants et leur performance est variable.

La bioremédiation dans laquelle des micro-organismes sont utilisés est une technologie émergente qui peut être utilisée pour la gestion complète de divers groupes de polluants environnementaux. Elle représente une approche durable efficace, rentable performant et plus appropriée.

Les *Pseudomonas spp. fluorescents* sont capable de synthétiser grande variété des métabolites les hormones de croissance, les antibiotiques, cyanure d'hydrogène (HCN) qui sont utilisée dans des différentes secteurs telle que le contrôle des agentes pathogènes.

Les *Pseudomonas spp fluorescents* ainsi leur rôle dans la remédiation des environnements pollué, grâce à leur capacité de dégradation d'une large gamme des polluant telle que les métaux lourds et les pesticides.

L'utilisation des *Pseudomonas spp. fluorescents* dans la bioremédiation des sols pollue par les hydrocarbures pétroliers représente un outil très sollicités efficace et rapide.

### Perspectives

La capacité des *Pseudomonas spp fluorescents* et leurs métabolites de dégrader l'hydrocarbure pétrolier est prouvé mais il existe des limites qui empêchent leur application a grand échelle surtout vu la complexité de la taxonomie et le métabolisme de ce groupe.

A l'issu des résultats des articles consultés il serait souhaitable de :

- Faire plus de recherche sur le métabolisme des *Pseudomonas spp fluorescent* et savoir les nouvelles sur sa taxonomie.
- Augmenter la concentration du polluant afin de déterminer l'aptitude maximale des souches à biodégrader les hydrocarbures.
- Essayer d'autres molécules pour la stimulation de la dégradation du pétrole d'une part et la stimulation des bactéries indigènes d'une autre part.

## Conclusion et perspectives

---

-Faire des essais à l'échelle moléculaire pour sélectionner des gènes de dégradation afin de favoriser le transfert horizontal des gènes de la bactérie choisie vers des espèces du groupe ***Pseudomonas spp. fluorescent.***

-Suivre la bioremédiation pour une période plus longue.

- Faire l'application à plus grande échelle du procédé de bioremédiation des sols pollués par le pétrole est nécessaire.

---

## *Partie matériel et méthodes*

Identification et caractérisation des bactéries  
rhizosphériques et endophytes du palmier dattier

Cas des : *Pseudomonas* spp.fluorescent

## 1-Objectif du travail

L'objectif de notre travail porte sur l'identification et la caractérisation des bactéries endophytes et rhizosphériques, le cas des *Pseudomonas* spp. fluorescents. L'isolement a été effectué à partir du sol et les racines du palmier dattier. Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de phytopathologie de l'université de Saad dahleb Blida -1- pendant 3 semaines interrompu par l'apparition du covid -19- ou toutes les universités du pays ont été fermées. Nous présentons dans cette petite partie de notre travail les techniques et les étapes qui nous ont permis l'isolement des bactéries endophytes et rhizosphériques du palmier dattier.

## 2- le palmier dattier

Le palmier dattier *Phoenix dactylifera* est la plante monocotylédone de la famille des Arécacées c'est un palmier de 15-30 m de haut, les fruits sont appelés dattes, cette plante résiste au froid comme à la sécheresse ; ce dattier est réparti dans tous les grands ensembles désertiques chauds du globe situés aux latitudes tropicales et subtropicales. Il est très présent dans toute l'Afrique saharienne (Bouguédoura et al., 2017).

## 3-Matériel et méthode

### 3-1 le matériel végétal et le sol

L'isolement des endophytes (bactéries) a été effectué à partir des racines et du sol du palmier dattier (figure n° 09) qui ont été collectées à partir de plusieurs zones de prélèvements situées au niveau de wilaya de Bechar.



Figure n°9 : racines et sol du palmier dattier

Identification et caractérisation des bactéries rhizosphériques et endophytes du palmier dattier cas de *Pseudomonas* spp. fluorescent

### 3-2 Méthode

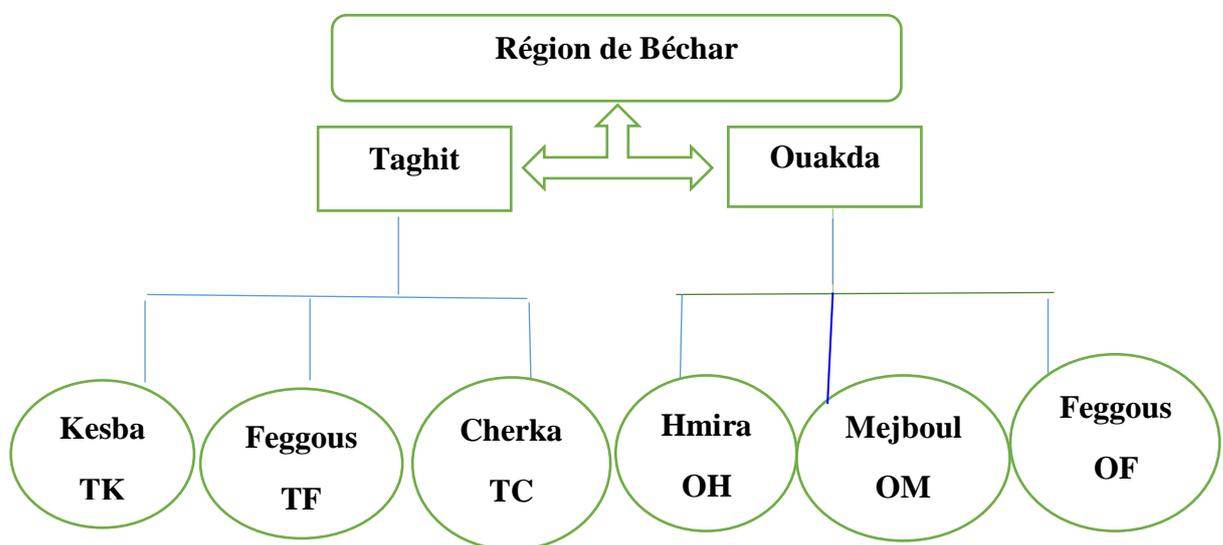
#### 3-2-1 Echantillonnage

La collecte des échantillons a été faite pendant les mois de février et mars dans deux zones Taghit et Oukda au niveau de trois sites pour chaque zone de prélèvement (figure n°10), dans la wilaya de Béchar (située à 1150Km au sud-ouest de la capitale Alger). Béchar est caractérisée par un climat de type saharien avec un hiver tempérée et une grande aridité.

Afin d'assurer un bon isolement des bactéries endophytes, le matériel végétal (racines du palmier dattier) a été pris aléatoirement à partir de palmiers sains. L'âge des palmiers dattier varie entre 10 ans et 30 ans ; les échantillons de racines sont placés dans des sacs stériles pour les transporter au laboratoire.

Pour le sol des échantillons ont été pris à partir de même endroits aux alentours des racines du palmier dattier et transporté au laboratoire dans les mêmes conditions d'asepsies.

Nous avons programmé le codage des boîtes Pétri selon la localisation de l'opération d'échantillonnage comme il est présenté dans la (figure n°10).



**Figure n°10 : La localisation de l'opération d'échantillonnage et le codage des boîtes Pétri**

#### 3-2-2 Préparation du milieu de culture King B

Pour la préparation du milieu de culture King B on a suivi les étapes selon le protocole affiché au niveau de laboratoire de phytopathologie.

Identification et caractérisation des bactéries rhizosphériques et endophytes du palmier dattier cas de *Pseudomonas* spp. fluorescent

On a versé 990 ml d'eau distillée dans un ballon et on a ajouté 10 ml de glycérol, l'étape suivante été l'ajout de 33 g de poudre d'hydraté du milieu King B et l'homogénéisation du mélange (figure n°11).

Après on a versé cette quantité dans des flacons stérilisés de 200, 200,600 ml, ces derniers ont été mis dans l'autoclave pour la stérilisation et après refroidissement le milieu a été coulé dans des boite Pétri.



**Figure n°11 : Milieu King B préparé pour l'isolement des bactéries endophytes et rhizosphériques fluorescents**

### 3-2-3isolement des bactéries

#### a-isolement des bactéries endophytes à partir des racines du palmier dattier

Les échantillons de racines de palmier dattier ont été lavé à l'eau du robinet pour enlever les débris du sol, puis rincés plusieurs fois avec de l'eau distillée stérile, ils ont subi une désinfection dans de l'hypochlorite de sodium (Na OCL) à 3% pendant 3 minutes suivie de trois rinçages successifs dans l'eau distillée stérile pendant 1,2, 3 minutes respectivement (figure n°12).

Après un séchage sur un papier filtre stérile, les échantillons ont été découpés en fragment de quelque millimètres de long ; ces fragments racinaires ont été déposés dans des boites Pétri contenant un milieu de culture et incubés à 25° pendant 3 jours.

Les boites ont été constatées chaque jour pour contrôler la croissance des bactéries qui poussent à partir des fragementes des racines pour les isoler et les purifier.

Identification et caractérisation des bactéries rhizosphériques et endophytes du palmier dattier cas de *Pseudomonas* spp. fluorescent

Pour s'assurer que la désinfection des racines est suffisante et que les isollements contenant seulement des endophytes, la technique d'empreinte a été réalisé en déposant les fragments de racines dans des boites Pétri pendant une minute sur le milieu KING B, en absence de développement des colonies à partir des empruntes profondes, le protocole de stérilisation de surface a été considéré comme valable et correct pour les isollements des endophytes.



**Figure n°12 : Préparation des racines pour l'isolement des bactéries endophytes**

b- isolement des bactéries rhizosphériques à partir du sol

Les bactéries rhizosphériques ont été obtenus par isolement à partir du sol ; les échantillons de sol ont été préalablement séché, broyé et calibré par tamisage. 10 g de sol ont été transféré dans 90 ml d'eau distillée stérile contenue dans un Erlenmeyer. Le mélange est ensuite mis en agitation pendant 30 min pour obtenir une bonne dilacération des particules.

Afin de faciliter le dénombrement des colonies une série de dilution est réalisée à partir de la solution mère dont la concentration est de  $10^{-1}$ , et pour obtenir une solution de  $10^{-2}$ , 1 ml de la solution mère est transférée dans 9 ml d'eau distillée stérile. Ainsi une série de dilution est réalisée dans des tubes à essai de  $10^{-2}$  jusqu'au  $10^{-5}$  ; après 100ul de chaque dilution ont été étalée sur le milieu de culture (King B) contenu dans des boites Pétri. Pour chaque dilution on a ensemencé 3 boites de Pétri.

L'incubation est faite à  $26^{\circ}$  pendant 2 jours (figure n°13), après on a passé au dénombrement de colonies et on a constaté la présence de la couleur verte (la fluorescence) dans plusieurs boites mais le travail a été interrompu à ce stade par l'apparition du corvide 19 ou toutes les universités au niveau national et même international ont été fermé.

Identification et caractérisation des bactéries rhizosphériques et endophytes du palmier dattier cas de *Pseudomonas* spp. fluorescent

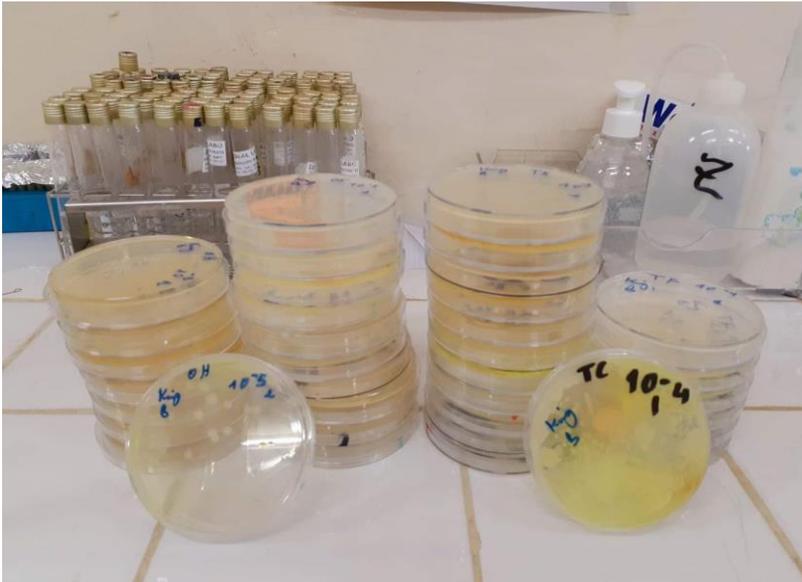
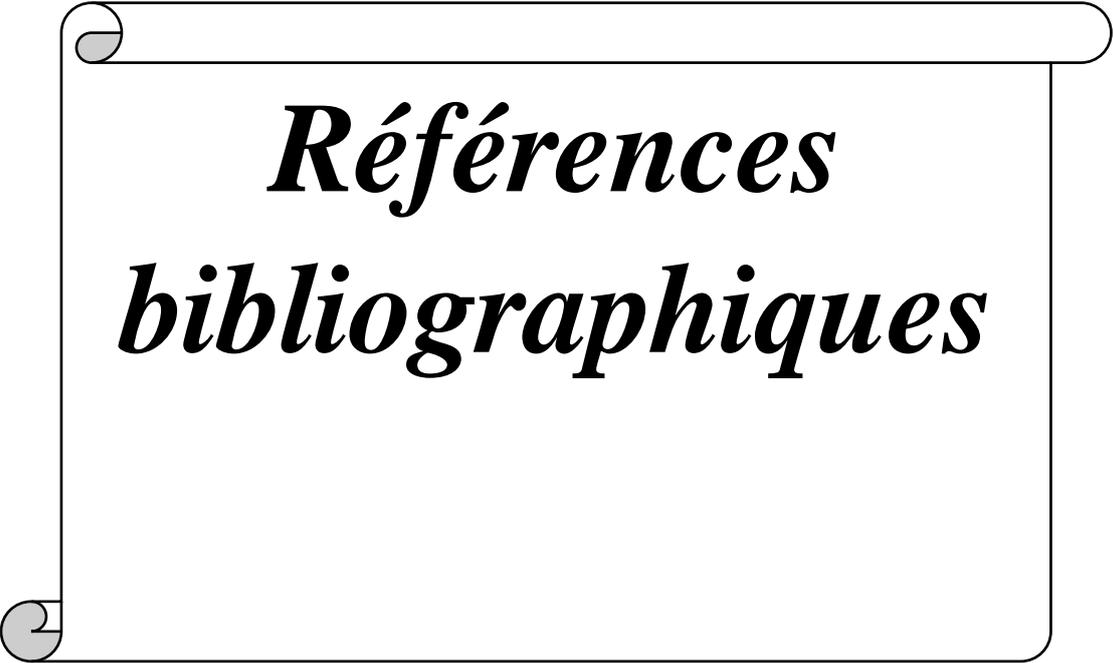


Figure n°13 : Bactéries rhizosphériques isolées à partir du sol du palmier dattier.



***Références  
bibliographiques***

**Abdelly, C., 2006.**

Bioremédiation / Phytoremédiation 32.

**Abouian Jahromi, M., Jamshidi-Zanjani, A., Khodadadi Darban, A., 2020.** Heavy metal pollution and human health risk assessment for exposure to surface soil of mining area: a comprehensive study. *Environ Earth Sci* 79, 365. <https://doi.org/10.1007/s12665-020-09110-3>

**Abouseoud, M., 2007.** Contribution a la dégradation du naphtalène par cellules libres et immobilisés de *Pseudomonas* spp (thèse de doctorat). Houari boumedien -alger-, algerie.

**Abo-Zaid, G.A., Soliman, N.A.-M., Abdullah, A.S., El-Sharouny, E.E., Matar, S.M., Sabry, S.A.-F., 2020.** Maximization of Siderophores Production from Biocontrol Agents, *Pseudomonas aeruginosa* F2 and *Pseudomonas fluorescens* JY3 Using Batch and Exponential Fed-Batch Fermentation. *Processes* 8, 455. <https://doi.org/10.3390/pr8040455>

**Adams, G.O., Fufeyin, P.T., Okoro, S.E., Ehinomen, I., 2015.** Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review 3, 12. <https://doi.org/DOI:10.12691/ijebb-3-1-5>

**Aeron, A., Khare, E., Jha, C.K., Meena, V.S., Aziz, S.M.A., Islam, M.T., Kim, K., Meena, S.K., Pattanayak, A., Rajashekara, H., Dubey, R.C., Maurya, B.R., Maheshwari, D.K., Saraf, M., Choudhary, M., Verma, R., Meena, H.N., Subbanna, A.R.N.S., Parihar, M., Shukla, S., Muthusamy, G., Bana, R.S., Bajpai, V.K., Han, Y.-K., Rahman, M., Kumar, D., Singh, N.P., Meena, R.K., 2020.** Revisiting the plant growth-promoting rhizobacteria: lessons from the past and objectives for the future. *Arch Microbiol* 202, 665–676. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01779-w>

**Agarry, S.E., Durojaiye, A.O., Yusuf, R.O., Aremu, M.O., Solomon, B.O., Mojeed, O., 2008.** Biodegradation of phenol in refinery wastewater by pure cultures of *Pseudomonas aeruginosa* NCIB 950 and *Pseudomonas fluorescence* NCIB 3756. *IJEP* 32, 3. <https://doi.org/10.1504/IJEP.2008.016894>

**Agnello, A.C., Bagard, M., van Hullebusch, E.D., Esposito, G., Huguenot, D., 2016.** Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation, phytoremediation, bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation. *Science of The Total Environment* 563–564, 693–703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.061>

**Ahmed, F., Fakhruddin, A., 2018.** A Review on Environmental Contamination of Petroleum Hydrocarbons and its Biodegradation. *International Journal of Environmental Sciences* 11, 8.

<https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.19080%2FIJESN.R.2018.11.555811>

**AL BARAKEH, Z., 2012.** Suivi de pollution atmosphérique par système multi-capteurs – méthode mixte de classification et de détermination d’un indice de pollution. École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne.

**Alphonse, A.K., Martial, Y.S.D., Antoine, N.K., Pkagni, B., Thérèse, K.N.M., Nafan, D., 2020.** Réussir le compostage en fosses dans un système intégré (culture/élevage) à l’environnement des parcs à karité au Nord de la Côte d’Ivoire 9. <https://doi.org/doi.org/10.35759/JABs.v148.10>

**Amer, R.A., Mapelli, F., El Gendi, H.M., Barbato, M., Goda, D.A., Corsini, A., Cavalca, L., Fusi, M., Borin, S., Daffonchio, D., Abdel-Fattah, Y.R., 2015.** Bacterial Diversity and Bioremediation Potential of the Highly Contaminated Marine Sediments at El-Max District (Egypt, Mediterranean Sea). *BioMed Research International* 2015, 1–17. <https://doi.org/10.1155/2015/981829>

## Références bibliographiques

---

- Andre, O., 2014.** Interactions pathogènes et symbiotiques chez la légumineuse modèle *Medicago truncatula* : comparaison de la perception et des réponses de la plantes aux deux types d'interactions. Université de Toulouse.
- Ansari, A.A., Gill, S.S., Gill, R., Lanza, G.R., Newman, L. (Eds.), 2015.** Phytoremediation. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-10969-5>
- Ansary, M.H., Rahmani, H.A., Ardakani, M.R., Paknejad, F., Habibi, D., Mafakheri, S., 2012.** Effect of *Pseudomonas* fluorescent on proline and phytohormonal status of maize (*Zea mays* L.) under water deficit stress. *Annals of Biological Research* 3, 1054–1062.
- Anwar O, .Mohammad, Alkurtany, A.E.S., Hassan, A.A., 2020.** Evaluation of API 20E system in fluorescent *Pseudomonas* identification from button mushroom *Agaricus bisporus* cultivation casing soil. *Not Sci Biol* 12, 258–263. <https://doi.org/10.15835/nsb12210628>
- Araújo, S.C. da S., Silva-Portela, R.C.B., Lima, D.C. de, Fonsêca, M.M.B. da, Araújo, W.J., Silva, U.B. da, Napp, A.P., Pereira, E., Vainstein, M.H., Agnez-Lima, L.F., 2020.** MBSP1: a biosurfactant protein derived from a metagenomic library with activity in oil degradation. *Sci Rep* 10, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58330-x>
- Arellano, P., Tansey, K., Balzter, H., Tellkamp, M., 2017.** Plant Family-Specific Impacts of Petroleum Pollution on Biodiversity and Leaf Chlorophyll Content in the Amazon Rainforest of Ecuador. *PLOS ONE* 12, e0169867. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169867>
- Arif, F., 2018.** Effets du stress salin et d'osmoprotecteurs naturels sur la germination de blé dur (*triticum durum*) inoculé par *pseudomonas fluorescens* (Thesis). Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Arora, N.K., Mishra, J., Mishra, V. (Eds.), 2020.** Microbial Enzymes: Roles and Applications in Industries, Microorganisms for Sustainability. Springer Singapore, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-1710-5>
- BAKLI, M., ZENASNI, A., 2019.** ISOLATION OF FLUORESCENT PSEUDOMONAS SPP. STRAINS FROM RHIZOSPHERE AGRICULTURAL SOILS AND ASSESSMENT OF THEIR ROLE IN PLANT GROWTH AND PHYTOPATHOGEN BIOCONTROL. *Research Journal of Agricultural Science* 51, 1.
- Barman, D., 2020.** Bioremediation of Waste Waters and Application in Aquaculture - A Mini Review. *Research Biotica* 2, 20–25.
- Benchabane, M., Toua, D., Bakour, R., 2013.** Les *Pseudomonas* spp. fluorescents phytobénéfiques : Biocontrôle et phytostimulation.
- Benkaddour, B., 2018.** Contribution à l'étude de la contamination des eaux et des sédiments de l'Oued Chélif (Algérie) 193.
- BENOSMAN, A., 2019.** Contribution à l'étude de la rétention des polluants par des réseaux de polymères. Doctorat Classique en chimie 154.
- Bhatnagar, S., Kumari, R., 2013.** Bioremediation: A Sustainable Tool for Environmental Management – A Review 4, 20.
- B. Janssen, D., Stucki, G., 2020.** Perspectives of genetically engineered microbes for groundwater bioremediation. *Environmental Science: Processes & Impacts* 22, 487–499. <https://doi.org/10.1039/C9EM00601J>
- Blanchard, C., 2000.** Caractérisation de la mobilisation potentielle des polluants inorganiques dans les sols pollués 302.
- Blanco, A., Blanco, G., 2017.** Chapter 8 - Enzymes, in: Blanco, A., Blanco, G. (Eds.), *Medical Biochemistry*. Academic Press, pp. 153–175. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803550-4.00008-2>
- Blumer, C., Haas, D., 2000.** Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch Microbiol* 173, 170–177. <https://doi.org/10.1007/s002039900127>

## Références bibliographiques

---

- Bonnichsen, L., Bygvraa Svenningsen, N., Rybtke, M., de Bruijn, I., Raaijmakers, J.M., Tolker-Nielsen, T., Nybroe, O., 2015.** Lipopeptide biosurfactant viscosin enhances dispersal of *Pseudomonas fluorescens* SBW25 biofilms. *Microbiology* 161, 2289–2297. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000191>
- Bornert, G., 2000.** Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires. *Revue Méd. Vét.* 11, 8.
- Botelho, G.R., Mendonça-Hagler, L.C., 2006.** Fluorescent *Pseudomonads* associated with the rhizosphere of crops: an overview. *Brazilian Journal of Microbiology* 37, 401–416. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000400001>
- Boukerma, lamia, 2012.** effet des PGPR( *Pseudomonas* spp.fluorescent) sur le biocontrol et l'induction de la résistance systémique (irs) chez la tomate vis a vis de la fusariose vasculaire. (thèse de doctorat). blida -1-, algérie.
- Bouزيد, I., 2019.** Développement et évaluation d'une méthode à base de mousse pour l'oxydation améliorée de sols insaturés contaminés par des hydrocarbures (phdthesis). Université Bourgogne Franche-Comté.
- Brandt, K.K., Petersen, A., Holm, P.E., Nybroe, O., 2006.** Decreased abundance and diversity of culturable *Pseudomonas* spp. populations with increasing copper exposure in the sugar beet rhizosphere: Copper impact on *Pseudomonas* in rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology* 56, 281–291. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00081.x>
- Butaité, E., 2017.** Pyoverdine production and its social effects in natural communities of *Pseudomonas* bacteria (Dissertation). Butaité, Elena. Pyoverdine production and its social effects in natural communities of *Pseudomonas* bacteria. 2017, University of Zurich, Faculty of Science. University of Zurich, Zürich. <https://doi.org/10.5167/uzh-147572>
- Campbell, K.M., 2009.** Chapter 10 - Radionuclides in Surface Water and Groundwater, in: Ahuja, S. (Ed.), *Handbook of Water Purity and Quality*. Academic Press, Amsterdam, pp. 213–236. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374192-9.00010-8>
- Carbonnel, J.P., 1997.** POLLUER, POLLUTION [WWW Document]. Comité national français des Sciences Hydrologiques. URL <https://hydrologie.org/glu/FRDIC/DICPOLUE.HTM> (accessed 7.7.20).
- Chellaiah, E.R., 2018.** Cadmium (heavy metals) bioremediation by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *Appl Water Sci* 8, 154. <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0796-5>
- Chéry, L., Mouvet, C., 2000.** Principaux processus physico-chimiques et biologiques intervenant dans l'infiltration des produits polluants et leur transfert vers les eaux souterraines. *La Houille Blanche* 82–88. <https://doi.org/10.1051/lhb/2000079>
- Chinivasagam, H.N., Pepper, P.M., Blackall, P.J., 2020.** Impact of antibiotics on fluorescent *Pseudomonas* group and *Bacillus cereus* group isolated from soils exposed to effluent or waste from conventional and organic pig farming. *J Appl Microbiol* jam.14819. <https://doi.org/10.1111/jam.14819>
- Claire, V.-F., 2017.** Etude des interactions plantes-champignons symbiotiques et pathogènes : caractérisation d'effecteurs de symbiose pour détecter les points de vulnérabilité du système immunitaire des arbres. | Université de Lorraine. Sciences et Ingénierie des Ressources.
- COIGNET, S., 2014.** ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DES INFECTIONS À PSEUDOMONAS LUTEOLA CHEZ LE FURET. ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT.
- Colombano, S., Saada, A., Guerin, V., Bataillard, P., Bellenfant, G., Beranger, S., Hube, D., Blanc, C., Zomig, C., Girardeau, I., 2010.** Quelles techniques pour quels traitements - Analyse coûts -bénéfices (Rapport final No. BRGM-RP-58609-FR).
- Colonna, P., Duplan, J.-L., Legrand, J., Le Net, E., Boissonnet, G., Lorne, D., 2020.** Biofuels in the nexus energy-environment-food. *Note Académique, Académie de l'Agriculture de France* 3, 1–48.

## Références bibliographiques

---

- Coppock, R.W., Christian, R.G., 2007.** CHAPTER 54 - Petroleum, in: Gupta, R.C. (Ed.), Veterinary Toxicology. Academic Press, Oxford, pp. 615–639.  
<https://doi.org/10.1016/B978-012370467-2/50151-6>
- Cordier, M., Uehara, T., Baztan, J., Jorgensen, B., 2020.** Plastic pollution and economic growth: the influence of corruption and the lack of education.  
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.23198.97601>
- Cunningham, C.J., Kuyukina, M.S., Ivshina, I.B., Konev, A.I., Peshkur, T.A., Knapp, C.W., 2020.** Potential risks of antibiotic resistant bacteria and genes in bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soils. Environ. Sci.: Processes Impacts 22, 1110–1124. <https://doi.org/10.1039/C9EM00606K>
- Dangi, A.K., Sharma, B., Hill, R.T., Shukla, P., 2019.** Bioremediation through microbes: systems biology and metabolic engineering approach. Critical Reviews in Biotechnology 39, 79–98. <https://doi.org/10.1080/07388551.2018.1500997>
- David, C., 2013.** Risques biologiques et biodépollution des sols 6.
- David, S.R., Ihiwakrim, D., Regis, R., Geoffroy, V.A., 2020.** Efficiency of pyoverdines in iron removal from flocking asbestos waste: An innovative bacterial bioremediation strategy. Journal of Hazardous Materials 394, 122532.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122532>
- Dhahri, S., 2014.** Analyse topographique, mécanique et électrochimique à l'échelle sub-micrométrique de processus pilotés par les bactéries. UNIVERSITE MONTPELLIER II, France.
- Diaw, D., Fall-Ndiaye, M.A., Ali, O.Y., Sare, I.C., Diop, T.A., 2018.** Effet de la salinité sur la densité des isolats de *Pseudomonas* spp fluorescents de rhizosphère de plants de tomate, d'aubergine et d'oignon au Sénégal. Int. J. Bio. Chem. Sci 12, 1914.  
<https://doi.org/10.4314/ijbcs.v12i4.31>
- Dong, Z.-L., Wang, B.-S., Li, J., 2020.** Effects of Petroleum Hydrocarbon Contamination on Soil Bacterial Diversity in the Permafrost Region of the Qinghai-Tibetan Plateau. Soil and Sediment Contamination: An International Journal 29, 322–339. <https://doi.org/10.1080/15320383.2019.1710109>
- Dowling, D.N., O'Gara, F., 1994.** Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. Trends in Biotechnology 12, 133–141. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(94\)90091-4](https://doi.org/10.1016/0167-7799(94)90091-4)
- Dref, G.L., 2018.** Théories de l'évolution et biotechnologies: d'une controverse à l'autre (these de doctorat). france.
- Dua, M., A., S., Sethunathan, N., Johri, A., 2002.** Biotechnology and Bioremediation: Successes and Limitations. Applied microbiology and biotechnology 59, 143–52.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-002-1024-6>
- Dufresne, M., 2013.** Les Technologies De Traitement Des Sols Contaminés: Lesquelles Sont Durables ? UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE.
- Duman, M., Mulet, M., Saticioglu, I.B., Altun, S., Gomila, M., Lalucat, J., García-Valdés, E., 2020.** *Pseudomonas sivasensis* sp. nov. isolated from farm fisheries in Turkey. Systematic and Applied Microbiology 43, 126103.  
<https://doi.org/10.1016/j.syapm.2020.126103>
- durantt, john, 1999.** biotechnologie environnemental (scientifique). FÉDÉRATION EUROPÉENNE DE BIOTECHNOLOGIE, londre.
- Ebadi, A., Khoshkholgh Sima, N.A., Olamaee, M., Hashemi, M., Ghorbani Nasrabadi, R., 2017.** Effective bioremediation of a petroleum-polluted saline soil by a surfactant-producing *Pseudomonas aeruginosa* consortium. Journal of Advanced Research 8, 627–633. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.06.008>

## Références bibliographiques

---

- El-Naas, M.H., Surkatti, R., Al-Zuhair, S., 2016.** Petroleum refinery wastewater treatment: A pilot scale study. *Journal of Water Process Engineering* 14, 71–76.  
<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2016.10.005>
- Epps, A.V., 2006.** Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbons 171.
- Esrael, D., 2015.** Soils remediation by Multiphase Extraction: Numerical Model Development (Theses). INSA de Lyon.
- Evans, G.G., Furlong, J., 2011.** *Environmental Biotechnology: Theory and Application*. John Wiley & Sons.
- Faity, D., 2009.** FREQUENCE D'ISOLEMENT DES PSEUDOMONAS AU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE CVD DU CHU GABRIEL TOURE DE 2002 A 2008. Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS).
- Fashola, M., Ngole-Jeme, V., Babalola, O., 2016.** Heavy Metal Pollution from Gold Mines: Environmental Effects and Bacterial Strategies for Resistance. *IJERPH* 13, 1047.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph13111047>
- Fedeila, M., 2019.** ÉTUDE DE LA BIODIGRADATION DE POLLUANTS ORGANIQUES PRÉSENTS DANS LES EAUX DE REJETS DOMESTIQUES ET/OU INDUSTRIELS. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene(USTHB)Alger.
- Fernández Rodríguez, M.D., García Gómez, M.C., Alonso Blazquez, N., Tarazona, J.V., 2014.** Soil Pollution Remediation, in: *Encyclopedia of Toxicology*. Elsevier, pp. 344–355. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00579-0>
- Francou, C., 2004.** Stabilisation de la matière organique au cours du compostage de déchets urbains: influence de la nature des déchets et du procédé de compostage - recherche d'indicateurs pertinents 290.
- Gad, S.C., 2014.** Petroleum Hydrocarbons, in: Wexler, P. (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition). Academic Press, Oxford, pp. 838–840. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00899-X>
- GARREC, J.-P., 2019.** Quel est l'impact des polluants de l'air sur la végétation ? - Encyclopédie de l'environnement [WWW Document]. encyclopidie de l'environnement. URL <https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/impacts-polluants-air-sur-vegetation/> (accessed 7.14.20).
- Gillespie, A. links open overlay panellain M.M., Philp, jim C., 2013.** Bioremediation, an environmental remediation technology for the bioeconomy. *Trends in Biotechnology* 31, 329–332. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.015>
- Giovanella, P., Vieira, G.A.L., Ramos Otero, I.V., Pais Pellizzer, E., de Jesus Fontes, B., Sette, L.D., 2020.** Metal and organic pollutants bioremediation by extremophile microorganisms. *Journal of Hazardous Materials* 382, 121024.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121024>
- Glibovytska, N.I., Karavanovych, K.B., 2018.** Morphological and physiological parameters of woody plants under conditions of environmental oil pollution. *Ukrainian Journal of Ecology* 8, 322–327.
- Gouma, S., Fragoeiro, S., Bastos, A.C., Magan, N., 2014.** 13 - Bacterial and Fungal Bioremediation Strategies, in: Das, S. (Ed.), *Microbial Biodegradation and Bioremediation*. Elsevier, Oxford, pp. 301–323. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00013-3>
- GUERGOUR, S., 2014.** Elimination des polluants organiques contenus dans les eaux usées par Electro-Fenton. UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF-1 UFAS (Algérie).
- Gunatilaka, A.A.L., 2006.** Natural Products from Plant-Associated Microorganisms: Distribution, Structural Diversity, Bioactivity, and Implications of Their Occurrence <sup>±</sup>. *J. Nat. Prod.* 69, 509–526. <https://doi.org/10.1021/np058128n>

## Références bibliographiques

---

- Hassaine, A., 2016.** Biodégradation des Hydrocarbures (Pétrole brut et Kérosène) par la Microflore Microbienne des Eaux de la région de Skikda (PhD Thesis). Université de Annaba.
- He, S., Ni, Y., Lu, L., Chai, Q., Yu, T., Shen, Z., Yang, C., 2020.** Simultaneous degradation of n-hexane and production of biosurfactants by *Pseudomonas* sp. strain NEE2 isolated from oil-contaminated soils. *Chemosphere* 242, 125237. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125237>
- Huang, W.-C., Tang, I.-C., 2007.** Bacterial and Yeast Cultures – Process Characteristics, Products, and Applications, in: *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources*. Elsevier, Amsterdam, pp. 185–223. <https://doi.org/10.1016/B978-044452114-9/50009-8>
- Huang, X., 2020.** Characterization and genome-scale metabolic modeling of catechol-degrading *Pseudomonas fluorescens* isolated from a petroleum hydrocarbon-impacted site (Thesis). University of Saskatchewan.
- Hutin, A., 2019.** Les Tensioactifs. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.34205.97763>
- Iqbal, S., Xu, J., Allen, S.D., Khan, S., Nadir, S., Arif, M.S., Yasmeen, T., 2020. Unraveling consequences of soil micro- and nano-plastic pollution on soil-plant system: Implications for nitrogen (N) cycling and soil microbial activity. *Chemosphere* 260, 36. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127578>
- Jain, A., Das, S., 2016.** Insight into the Interaction between Plants and Associated Fluorescent *Pseudomonas* spp. *International Journal of Agronomy* 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/4269010>
- Jalliffier-Verne, I., 2015.** DÉBORDEMENTS D'ÉGOUTS UNITAIRES ET PROTECTION DES SOURCES D'EAU POTABLE : INTÉGRATION DES CHANGEMENTS GLOBAUX 242.
- Jan, S., Rashid, B., Azooz, M.M., Hossain, M.A., Ahmad, P., 2016.** Chapter 17 - Genetic Strategies for Advancing Phytoremediation Potential in Plants: A Recent Update, in: Ahmad, P. (Ed.), *Plant Metal Interaction*. Elsevier, pp. 431–454. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803158-2.00017-5>
- Jayamohan, N.S., Patil, S.V., Kumudini, B.S., 2018.** Validation of molecular heterogeneity of Fluorescent *Pseudomonas* spp. and correlation with their potential biocontrol traits against fusarium wilt disease. *Agriculture and Natural Resources* 52, 317–324. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.10.006>
- Jiang, D., Robbins, E.I., Wang, Y., Yang, H., 2016.** Palynological Evidence for Organic Petroleum Origin Theory, in: *Petrolipalynology*, Springer Geology. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 129–133. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-47946-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-662-47946-9_6)
- Jiang, J.-J., Wang, J.-F., Yang, P., Xu, Z.-M., He, T., Gao, Q., Wang, L.-L., Li, Q.-S., 2019.** Interactive effects between cadmium stabilized by palygorskite and mobilized by siderophores from *Pseudomonas fluorescens*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 181, 265–273. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.012>
- Johanna, Z., Johnny, Z., 2019.** Effluents Treatment Generated by Biolixiviation in the Extraction of Precious Metals through Selective Recovery of Iron, Copper and Zinc. *IJMPM* 4, 44–50. <https://doi.org/10.11648/j.ijmpem.20190402.12>
- Jullien, D., 2014.** La recherche des polluants dans les sols.
- Jyothi, N., Umamaheswara, 2009. PROTEASE AND UREASE PRODUCTION DURING UTILIZATION OF DIESEL BY FLUORESCENT PSEUDOMONAS SPECIES ISOLATED FROM LOCAL SOIL 1, 8.
- Kaczorek, E., Olszanowski, A., 2011.** Uptake of Hydrocarbon by *Pseudomonas fluorescens* (P1) and *Pseudomonas putida* (K1) Strains in the Presence of Surfactants: A Cell Surface

## Références bibliographiques

---

- Modification. *Water Air Soil Pollut* 214, 451–459. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0436-7>
- Kaddes, A., Fauconnier, M.-L., Sassi, K., Berhal, C., Nasraoui, B., Jijakli, H., 2020.** Efficacité des Composés Organiques Volatils fongiques (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 24, 81–98.
- Kastanek, F., Topka, P., Soukup, K., Maletérova, Y., Demnerova, K., Kastanek, P., Solcova, O., 2016.** Remediation of contaminated soils by thermal desorption; effect of benzoyl peroxide addition. *Journal of Cleaner Production* 125, 309–313. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.03.134>
- Katarína, D., Slavomíra, M., Hana, D., Katarína, L., Hana, H., 2019.** The Adaptation Mechanisms of Bacteria Applied in Bioremediation of Hydrophobic Toxic Environmental Pollutants: How Indigenous and Introduced Bacteria Can Respond to Persistent Organic Pollutants-Induced Stress?, in: Kudom Donyinah, S. (Ed.), *Persistent Organic Pollutants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79646>
- Kirisits, M.J., Emelko, M.B., Pinto, A.J., 2019.** Applying biotechnology for drinking water biofiltration: advancing science and practice. *Current Opinion in Biotechnology* 57, 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.05.009>
- Korejo, F., Noreen, R., Ali, S.A., Humayun, F., Rahman, A., Sultana, V., Ehteshamul-Haque, S., 2017.** EVALUATION OF ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL POTENTIAL OF ENDOPHYTIC FLUORESCENT PSEUDOMONAS ASSOCIATED WITH SALVADORA PERSICA 49, 10.
- Kubicki, S., Bollinger, A., Katzke, N., Jaeger, K.-E., Loeschcke, A., Thies, S., 2019.** Marine Biosurfactants: Biosynthesis, Structural Diversity and Biotechnological Applications. *Marine Drugs* 17, 408. <https://doi.org/10.3390/md17070408>
- Kumar, A., Sharma, S. (Eds.), 2019.** *Microbes and Enzymes in Soil Health and Bioremediation, Microorganisms for Sustainability*. Springer Singapore, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-9117-0>
- Kumar, A., Kumar, Ajay, Singh, Rishikesh, Singh, Raghwendra, Pandey, S., Rai, A., Singh, V.K., Rahul, B., 2020.** Genetically engineered bacteria for the degradation of dye and other organic compounds, in: *Abatement of Environmental Pollutants*. Elsevier, pp. 331–350. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818095-2.00016-3>
- Kumar, P., Jyoti, B., Kumar, A., Paliwal, A., 2019.** Biotechnological and microbial standpoint cahoot in bioremediation, in: *Smart Bioremediation Technologies*. Elsevier, pp. 137–158. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818307-6.00008-1>
- Kumar, V., Sharma, A., Kumar, R., Bhardwaj, R., Kumar Thukral, A., Rodrigo-Comino, J., 2020.** Assessment of heavy-metal pollution in three different Indian water bodies by combination of multivariate analysis and water pollution indices. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* 26, 1–16. <https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1497946>
- Kumar, V., Singh, S., Manhas, A., Singh, J., Singla, S., Kaur, P., Data, S., Negi, P., Kalia, A., 2014.** Bioremediation of Petroleum hydrocarbon by using *Pseudomonas* species isolated from Petroleum contaminated soil. *Orient J Chem* 30, 1771–1776. <https://doi.org/10.13005/ojc/300436>
- Kumudini, B.S., Patil, S.V., 2019.** Role of Plant Hormones in Improving Photosynthesis, in: Ahmad, P., Abass Ahanger, M., Nasser Alyemeni, M., Alam, P. (Eds.), *Photosynthesis, Productivity and Environmental Stress*. Wiley, pp. 215–240. <https://doi.org/10.1002/9781119501800.ch11>
- Lacalle, R.G., Aparicio, J.D., Artetxe, U., Urionabarrenetxea, E., Polti, M.A., Soto, M., Garbisu, C., Becerril, J.M., 2020.** Gentle remediation options for soil with mixed chromium (VI) and lindane pollution: biostimulation, bioaugmentation, phytoremediation and vermiremediation. *Heliyon* 6, e04550. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04550>

## Références bibliographiques

---

- Lacroix, M., Vézina, L., Desjardins, S., Beaulieu, C., 2005.** Comparaison de techniques d'identification des *Erwinia* et des *Pseudomonas* responsables de la pourriture molle. *phyto* 76, 27–37. <https://doi.org/10.7202/706082ar>
- Lally, R.D., Galbally, P., Moreira, A.S., Spink, J., Ryan, D., Germaine, K.J., Dowling, D.N., 2017.** Application of Endophytic *Pseudomonas fluorescens* and a Bacterial Consortium to *Brassica napus* Can Increase Plant Height and Biomass under Greenhouse and Field Conditions. *Front. Plant Sci.* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02193>
- Lauzent, M., 2018.** Etude de l'écodynamique des polluants organiques persistants et des micropolluants halogénés d'intérêt émergent dans les milieux aquatiques 391.
- L.B., L.B., 2010.** Marées noires : les espèces surmontent la pollution étape par ... - Science & Vie [WWW Document]. URL <https://www.science-et-vie.com/archives/marees-noires-les-especes-surmontent-la-pollution-etape-par-etape-33533> (accessed 10.4.20).
- Lecomte, V., 2019.** Notions essentielles de l'écotoxicologie [WWW Document]. *Ecotoxicologie.fr*. URL <https://ecotoxicologie.fr/notions-essentielles> (accessed 8.2.20).
- Li, X., Gu, G.-Q., Chen, W., Gao, L.-J., Wu, X.-H., Zhang, L.-Q., 2018.** The outer membrane protein OprF and the sigma factor SigX regulate antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. *Microbiological Research* 206, 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.10.006>
- Li, Y.P., Pan, J.C., Ma, Y.L., 2020.** Elucidation of multiple alkane hydroxylase systems in biodegradation of crude oil *n* -alkane pollution by *Pseudomonas aeruginosa* DN1. *J Appl Microbiol* 128, 151–160. <https://doi.org/10.1111/jam.14470>
- Lima, T.M.S., Fonseca, A.F., Leão, B.A., Mounteer, A.H., Tótola, M.R., Borges, A.C., 2011.** Oil Recovery From Fuel Oil Storage Tank Sludge Using Biosurfactants. *Journal of Bioremediation & Biodegradation* 2, 1–5. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000125>
- Lirong, he, 2020.** Advances in Microbial Remediation of Organic Contaminated Soil. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 514, 052011. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/514/5/052011>
- Lopes, L.D., Davis, E.W., Pereira e Silva, M. de C., Weisberg, A.J., Bresciani, L., Chang, J.H., Loper, J.E., Andreote, F.D., 2018.** Tropical soils are a reservoir for fluorescent *Pseudomonas* spp. biodiversity: Expanding the Diversity of Fluorescent *Pseudomonas* spp. *Environ Microbiol* 20, 62–74. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13957>
- Louati, H., 2014.** Etude de la biorémediation de sédiments contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques: impact écologique sur la microflore et la méiofaune de la lagune de Bizerte 276.
- Lurthy, T., 2020.** Interactions *Pisum sativum*–*Pseudomonas*: conséquences sur la nutrition en fer, la croissance et l'immunité de la plante hôte (PhD Thesis). Université Bourgogne Franche-Comté.
- Lyon, D.Y., Vogel, T.M., 2011.** Bioaugmentation as a Strategy for the Treatment of Persistent Pollutants, in: Moo-Young, M. (Ed.), *Comprehensive Biotechnology* (Second Edition). Academic Press, Burlington, pp. 69–81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00366-4>
- Maitra, S., 2018.** EX SITU BIOREMEDIATION - AN OVERVIEW. *RJLBPCS* 04, 16. <https://doi.org/DOI:10.26479/2018.0406.34>
- Malik Muhammad, A., Muhammad, Q., Aroj, B., 2017.** PHYSIOLOGICAL AND PHYSICAL IMPACT OF NOISE POLLUTION ON ENVIRONMENT. *Earth sci. Pak.* 1, 8–10. <https://doi.org/10.26480/esp.01.2017.08.10>
- Martin, F., 2011.** Exploration de la biodiversité bactérienne dans un sol pollué par les hydrocarbures: analyse par marquage isotopique du potentiel métabolique et de la dynamique des communautés impliquées dans la dégradation 279.

## Références bibliographiques

---

- Massard-Guild, G., Mathis, C.-F., 2017.** A Brief Introduction to the History of Pollution: From Local to Global, in: *Microbial Ecotoxicology*, Springer International Publishing AG 2017. Paris, France.
- Mat'átková, O., Pospíšilová, D., Michailidu, J., Jaroš, P., Masák, J., 2019.** Effect of subinhibitory concentration of antibiotics on *Rhodococcus erythropolis* and *Pseudomonas fluorescens* biofilm formation. *Chem. Pap.* 73, 1113–1119. <https://doi.org/10.1007/s11696-018-0662-9>
- Mebirouk, H., Mebirouk, F., 2019.** LA POLLUTION A ANNABA : SOURCES, CONSEQUENCES ET MESURES PREVENTIVES. *Sciences & Technologie* 10.
- Medić, A., Lješević, M., Inui, H., Beškoski, V., Kojić, I., Stojanović, K., Karadžić, I., 2020.** Efficient biodegradation of petroleum n -alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons by polyextremophilic *Pseudomonas aeruginosa* strain with multidegradative capacity. *RSC Advances* 10, 14060–14070. <https://doi.org/10.1039/C9RA10371F>
- Meghdas, I., Hamze, M., Dabboussi, F., Baida, N., Izard, D., 2004.** TAXONOMIE DU GENRE PSEUDOMONAS: RÉTROSPECTIVE ET ACTUALITÉ. *Lebanese Science Journal* 5, 115.
- Meliani, A., 2012.** Contribution à l'étude de la diversité écologique et fonctionnelle des *Pseudomonas fluorescens*. Université D'Oran.
- Meliani, A., Bensoltane, A., 2016.** Biofilm-Mediated Heavy Metals Bioremediation in PGPR *Pseudomonas*. *J Bioremediat Biodegrad* 7. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000370>
- Meng, L., Li, W., Bao, M., Sun, P., 2018.** Promoting the treatment of crude oil alkane pollution through the study of enzyme activity. *International Journal of Biological Macromolecules* 119, 708–716. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.160>
- Mercado-Blanco, J., Bakker, P.A.H.M., 2007.** Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. *Antonie van Leeuwenhoek* 92, 367–389. <https://doi.org/10.1007/s10482-007-9167-1>
- Meyer, J.B., Lutz, M.P., Frapolli, M., Péchy-Tarr, M., Rochat, L., Keel, C., Défago, G., Maurhofer, M., 2010.** Interplay between Wheat Cultivars, Biocontrol *Pseudomonads*, and Soil. *Appl Environ Microbiol* 76, 6196–6204. <https://doi.org/10.1128/AEM.00752-10>
- Meyer, J.-M., 2000.** Pyoverdines: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of fluorescent *Pseudomonas* species. *Archives of Microbiology* 174, 135–142. <https://doi.org/10.1007/s002030000188>
- Mezaache, S., 2012.** LOCALISATION DES DÉTERMINANTS DE LA SUPPRESSION DE QUELQUES SOUCHES DE PSEUDOMONAS ISOLÉES DE LA RHIZOSPHERE DE LA POMME DE TERRE. (PhD Thesis). Université de Sétif 1-Ferhat Abbas.
- Mia, R., Selim, M., Shamim, A.M., Chowdhury, M., Sultana, S., Armin, M., Hossain, M., Akter, R., Dey, S., Naznin, H., 2019.** Review on various types of pollution problem in textile dyeing & printing industries of Bangladesh and recommendation for mitigation. *JTEFT* 5. <https://doi.org/10.15406/jteft.2019.05.00205>
- Miguel, A.S., 2012.** Phytoremédiation des organochlorés. Etude mécanistique et fonctionnelle des capacités épuratrices du système plante-rhizosphère 314.
- Militon, C., 2012.** Caractérisation des communautés procaryotiques impliquées dans la bioremédiation d'un sol pollué par des hydrocarbures et développement d'outils d'analyse à haut débit.
- Miranda Arroyave, L.M., Márquez Godoy, M.A., Ocampo Carmona, L.M., 2019.** Adaptation of *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans* strains on sphalerite concentrate from mining waste. *Respuestas* 24, 72–83. <https://doi.org/10.22463/0122820X.1839>
- Mishra, A., Mishra, S.P., Arshi, A., Agarwal, A., Dwivedi, S.K., 2020.** Plant-Microbe Interactions for Bioremediation and Phytoremediation of Environmental Pollutants and

## Références bibliographiques

---

- Agro-ecosystem Development, in: Bharagava, R.N., Saxena, G. (Eds.), *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety*. Springer Singapore, Singapore, pp. 415–436. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-3426-9\\_17](https://doi.org/10.1007/978-981-13-3426-9_17)
- Moneke, A.N., Okpala, G.N., Anyanwu, C.U., 2010.** Biodegradation of glyphosate herbicide in vitro using bacterial isolates from four rice fields 9, 8.
- Monti, M.R., Smania, A.M., Fabro, G., Alvarez, M.E., Argaraña, C.E., 2005.** Engineering *Pseudomonas fluorescens* for Biodegradation of 2,4-Dinitrotoluene. *Appl Environ Microbiol* 71, 8864–8872. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8864-8872.2005>
- Moore, E.R.B., Tindall, B.J., Martins Dos Santos, V.A.P., Pieper, D.H., Ramos, J.-L., Palleroni, N.J., 2006.** Nonmedical: *Pseudomonas*, in: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes: Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass*. Springer, New York, NY, pp. 646–703. [https://doi.org/10.1007/0-387-30746-X\\_21](https://doi.org/10.1007/0-387-30746-X_21)
- Motaher, H., Farjana, S., 2020.** Application and Mechanisms of Plant Growth Promoting Fungi (PGPF) for Phytostimulation, in: *Organic Agriculture*. IntechOpen.
- Mukherjee, J., Ghosh, D., 2016.** Environmental Biotechnology. *Chemical Engineering & Technology* 39, 1592–1592. <https://doi.org/10.1002/ceat.201690051>
- Narduzzi- Iondinsky, G., 2018.** La pollution de l'air tue 7 millions de personnes par an dans le monde [WWW Document]. *Les Inrockuptibles*. URL <https://www.lesinrocks.com/2018/05/02/actualite/societe/la-pollution-de-lair-tue-7-millions-de-personnes-par-dans-le-monde/> (accessed 7.9.20).
- Neelam, M., Supriya, K., Surajit, D., 2016.** Bacterial biofilms and quorum sensing: fidelity in bioremediation technology. <http://dx.doi.org/10.1080/02648725.2016.1196554>
- Nielsen, T.H., Sørensen, D., Tobiasen, C., Andersen, J.B., Christophersen, C., Givskov, M., Sørensen, J., 2002.** Antibiotic and Biosurfactant Properties of Cyclic Lipopeptides Produced by Fluorescent *Pseudomonas* spp. from the Sugar Beet Rhizosphere. *AEM* 68, 3416–3423. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.7.3416-3423.2002>
- Niem, J.M., Billones-Baijens, R., Stodart, B., Savocchia, S., 2020.** Diversity Profiling of Grapevine Microbial Endosphere and Antagonistic Potential of Endophytic *Pseudomonas* Against Grapevine Trunk Diseases. *Front. Microbiol.* 11, 477. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00477>
- Nouri, M., Haddioui, A., 2016.** Les techniques de dépollution des sols contaminés par les métaux lourds: une revue (The remediation techniques of heavy metals contaminated soils: a review) 13.
- Novik, G., Savich, V., Kiselev, E., 2015a.** An Insight Into Beneficial *Pseudomonas* bacteria, in: Shah, M.M. (Ed.), *Microbiology in Agriculture and Human Health*. InTech. <https://doi.org/10.5772/60502>
- Novik, G., Savich, V., Kiseleva, E., 2015b.** An insight into beneficial *Pseudomonas* bacteria. *Microbiology in agriculture and human health* 73–105.
- O. Elekwachi, C., 2014.** Global Use of Bioremediation Technologies for Decontamination of Ecosystems. *J Bioremed Biodeg* 05, 9. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000225>
- Odukoya, J., Lambert, R., Sakrabani, R., 2019.** Understanding the Impacts of Crude Oil and its Induced Abiotic Stresses on Agrifood Production: A Review. *Horticulturae* 5, 47. <https://doi.org/10.3390/horticulturae5020047>
- Okparanma, R.N., Ayotamuno, J.M., Araka, P.P., 2009.** Bioremediation of hydrocarbon contaminated-oil field drill-cuttings with bacterial isolates 10.
- Okutani, F., Hamamoto, S., Aoki, Y., Nakayasu, M., Nihei, N., Nishimura, T., Yazaki, K., Sugiyama, A., 2020.** Rhizosphere modelling reveals spatiotemporal distribution of daidzein shaping soybean rhizosphere bacterial community. *Plant, Cell & Environment* 43, 1036–1046. <https://doi.org/10.1111/pce.13708>

## Références bibliographiques

---

- Oliveira, N. de, Rodrigues, A.A., Alves, M.I.R., Filho, N.A., Sadoyama, G., Vieira, J.D.G., 2012.** Endophytic bacteria with potential for bioremediation of petroleum hydrocarbons and derivatives. *African Journal of Biotechnology* 11, 2977–2984. <https://doi.org/10.4314/ajb.v11i12>.
- Önal, N., Avşar, C., Aras, E.S., 2020.** Detection of multidrug-resistant *Pseudomonas* isolates and distribution of denitrifying functional genes. *International Journal of Environmental Health Research* 1–17. <https://doi.org/10.1080/09603123.2020.1720619>
- Origo, N., Wicherek, S., Hotyat, M., 2012.** Réhabilitation des sites pollués par phytoremédiation. *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement*. <https://doi.org/10.4000/vertigo.12633>
- Oulebsir-Mohandkaci, H., Tihar-Benzina, F., Belkacem, C.A., Belgrade, A.N., 2020.** Recherche de molécules bioactives d'intérêt à partir d'une collection de souches bactériennes rhizosphériques et étude de leur effet antifongique 6, 9.
- Pal, A.K., Singh, J., Soni, R., Tripathi, P., Kamle, M., Tripathi, V., Kumar, P., 2020.** The role of microorganism in bioremediation for sustainable environment management, in: *Bioremediation of Pollutants*. Elsevier, pp. 227–249. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819025-8.00010-7>
- Pandey, V.C., Singh, V., 2019.** Chapter 20 - Exploring the Potential and Opportunities of Current Tools for Removal of Hazardous Materials From Environments, in: Pandey, V.C., Baudh, K. (Eds.), *Phytomanagement of Polluted Sites*. Elsevier, pp. 501–516. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813912-7.00020-X>
- Park, J.E., Young, K.E., Schlegel, H.-G., Rhie, H.G., Lee, H.S., 2003.** Conjugative plasmid mediated inducible nickel resistance in *Hafnia alvei* 5-5. *Int Microbiol* 6, 57–64. <https://doi.org/10.1007/s10123-003-0101-8>
- Parthipan, P., Elumalai, P., Sathishkumar, K., Sabarinathan, D., Murugan, K., Benelli, G., Rajasekar, A., 2017.** Biosurfactant and enzyme mediated crude oil degradation by *Pseudomonas stutzeri* NA3 and *Acinetobacter baumannii* MN3. *3 Biotech* 7, 278. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0902-7>
- Peekate, P., Abu, G., 2018.** Étude de l'efficacité entre l'utilisation *Pseudomonas fluorescens* et son biosurfactant dans Bioremédiation des hydrocarbures pétroliers Sol contaminé 10.
- Pepper, I.L., 2019.** Chapter 5 - Biotic Characteristics of the Environment, in: Brusseau, M.L., Pepper, Ian L., Gerba, C.P. (Eds.), *Environmental and Pollution Science (Third Edition)*. Academic Press, pp. 61–87. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814719-1.00005-7>
- Pepper, I.L., Gerba, C.P., Brusseau, M.L. (Eds.), 2006.** *Environmental & pollution science*, 2nd ed. ed. Elsevier/Academic Press, Amsterdam ; Boston.
- Pett-Ridge, J., 2019.** Microbes Persist: What the Soil Microbiome Knows About the Carbon Cycle. *AGU Fall Meeting Abstracts* 13.
- Poblete-Morales, M., Carvajal, D., Almasia, R., Michea, S., Cantillana, C., Levican, A., Silva-Moreno, E., 2020.** *Pseudomonas atacamensis* sp. nov., isolated from the rhizosphere of desert bloom plant in the region of Atacama, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek* 113, 1201–1211. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01427-0>
- Prabhukarthikeyan, S.R., Keerthana, U., Raguchander, T., 2018.** Antibiotic-producing *Pseudomonas fluorescens* mediates rhizome rot disease resistance and promotes plant growth in turmeric plants. *Microbiological Research* 210, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.03.009>
- projet PNUE/FEM sur le développement d'un cadre national de biosécurité :, 2003.**
- Pushpanathan, M., Jayashree, S., Gunasekaran, P., Rajendhran, J., 2014.** 17 - Microbial Bioremediation: A Metagenomic Approach, in: Das, S. (Ed.), *Microbial Biodegradation and Bioremediation*. Elsevier, Oxford, pp. 407–419. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00017-0>

## Références bibliographiques

---

- Quintella, C.M., Mata, A.M.T., Lima, L.C.P., 2019.** Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils. *Journal of Environmental Management* 241, 156–166.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.019>
- Rabhi, nour el houda, 2011.** Isolement de *Pseudomonas* spp. fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels (mémoire de Magister en génie microbiologie). Université de sétif, Algérie.
- Rainelli, P., 1996.** Pollution des sols. *Étude et Gestion des Sols* 14.
- Rajmohan, S., Dodd, C.E.R., Waites, W.M., 2002.** Enzymes from isolates of *Pseudomonas fluorescens* involved in food spoilage. *J. Appl. Microbiol.* 93, 205–213.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01674.x>
- Raphael, T., Glass, D.J., 1995.** Bioremediation in Germany: Markets, technologies, and leading companies 28, *Biore.*
- Ratcliffe, D.A., 1970.** Changes Attributable to Pesticides in Egg Breakage Frequency and Eggshell Thickness in Some British Birds. *Journal of Applied Ecology* 7, 67–115.  
<https://doi.org/10.2307/2401613>
- Reddy, D.O., Milliken, C.E., Foreman, K., Fox, J., Simpson, W., Brigmon, R.L., 2020.** Bioremediation of Hexanoic Acid and Phenanthrene in Oil Sands Tailings by the Microbial Consortium BioTiger™. *Bull Environ Contam Toxicol* 104, 253–258.  
<https://doi.org/10.1007/s00128-019-02776-x>
- Rijavec, T., Lapanje, A., 2017.** Cyanogenic *Pseudomonas* spp. Strains are concentrated in the rhizosphere of alpine pioneer plants. *Microbiological Research* 194, 20–28.  
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.09.001>
- Ringel, M.T., Brüser, T., 2018.** The biosynthesis of pyoverdines. *Microb Cell* 5, 424–437.  
<https://doi.org/10.15698/mic2018.10.649>
- Riveros-Rosas, H., Julián-Sánchez, A., Moreno-Hagelsieb, G., Muñoz-Clares, R.A., 2019.** Aldehyde dehydrogenase diversity in bacteria of the *Pseudomonas* genus. *Chemico-Biological Interactions* 304, 83–87. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.03.006>
- Robichaud, K., 2019.** Bioremédiation de sols en milieu nordique Des ressources locales pour traiter une variété d'hydrocarbures pétroliers et autres contaminants avec la phytoremédiation, la mycoremédiation et l'aide de matières résiduelles fertilisantes (Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph. D.) en sciences biologiques). Université de Montréal, Canada.
- Rocher, V., Paffoni, C., Gonçalves, A., Azimi, S., Gousailles, M., 2008.** La biofiltration des eaux résiduaires urbaines : retour d'expérience du SIAAP. *rseau* 21, 475–485.  
<https://doi.org/10.7202/019169ar>
- Romero-Freire, A., 2015.** Influence of soil properties on the toxicity of metal-polluted soils: comparison of different bioassay methods.
- Ron, E.Z., Rosenberg, E., 2002.** Biosurfactants and oil bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology* 13, 249–252. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00316-6](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00316-6)
- Rr, B., Ismail, S., Aj, I., Pa, B., 2019.** Siderophore production by plant growth promoting microorganisms 8, 3.
- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B., Bhattacharjee, S., Tribedi, P., 2015.** Microbial siderophores and their potential applications: A review. *Environmental science and pollution research international* 23. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4294-0>
- Salanitro, J.P., Dorn, P.B., Huesemann, M.H., Moore, K.O., Rhodes, I.A., Rice Jackson, L.M., Vipond, T.E., Western, M.M., Wisniewski, H.L., 1997.** Crude Oil Hydrocarbon Bioremediation and Soil Ecotoxicity Assessment. *Environ. Sci. Technol.* 31, 1769–1776.  
<https://doi.org/10.1021/es960793i>
- Sarkar, J., Roy, A., Sar, P., Kazy, S.K., 2020.** Accelerated bioremediation of petroleum refinery sludge through biostimulation and bioaugmentation of native microbiome, in:

## Références bibliographiques

---

- Emerging Technologies in Environmental Bioremediation. Elsevier, pp. 23–65.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819860-5.00002-X>
- Schalk, I.J., Rigouin, C., Godet, J., 2020.** An overview of siderophore biosynthesis among fluorescent *Pseudomonads* and new insights into their complex cellular organization. *Environ Microbiol* 22, 1447–1466. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14937>
- Schobert, H., 2013.** Chemistry of Fossil Fuels and Biofuels. Cambridge University Press, Cambridge. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511844188>
- Sebihi, F.Z., 2016.** Effet PGPR des souches de *Pseudomonas fluorescens* isolées de la rhizosphère du blé cultivé dans la région de Constantine. UNIVERSITÉ DES FRÈRES MENTOURI-CONSTANTINE.
- Sharma, B., Dangi, A.K., Shukla, P., 2018.** Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review. *Journal of Environmental Management* 210, 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.075>
- Sharma, S., Sharma, A., Kaur, M., 2018.** Extraction and evaluation of gibberellic acid from *Pseudomonas* spp. Plant growth promoting rhizobacteria. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7, 2790–2795.
- SIMONNOT, M.-O., CROZE, V., 2012.** Traitement des sols et nappes par oxydation chimique in situ [WWW Document]. Ref: TIP452WEB - “Opérations unitaires. Génie de la réaction chimique.” URL <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/genie-des-procedes-et-protection-de-l-environnement-42327210/traitement-des-sols-et-nappes-par-oxydation-chimique-in-situ-j3983/> (accessed 8.3.20).
- Singh, M., Srivastava, P.K., Verma, P.C., Kharwar, R.N., Singh, N., Tripathi, R.D., 2015.** Soil fungi for mycoremediation of arsenic pollution in agriculture soils. *Journal of Applied Microbiology* 119, 1278–1290. <https://doi.org/10.1111/jam.12948>
- Singh, R., Paul, D., Jain, R.K., 2006.** Biofilms: implications in bioremediation. *Trends in Microbiology* 14, 389–397. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.07.001>
- Singh, R.L., 2017.** Introduction to Environmental Biotechnology, in: Singh, R.L. (Ed.), Principles and Applications of Environmental Biotechnology for a Sustainable Future, Applied Environmental Science and Engineering for a Sustainable Future. Springer, Singapore, pp. 1–12. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-1866-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-10-1866-4_1)
- Sivasakthi, S., Usharani, G., Saranraj, P., 2014.** Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *Afr. J. Agric. Res.* 9, 13. <https://doi.org/doi:10.5897/AJAR2013.7914>
- Solanki, M.K., Solanki, A.C., Kumari, B., Kashyap, B.K., Singh, R.K., 2020.** Chapter 12 - Plant and soil-associated biofilm-forming bacteria: Their role in green agriculture, in: Yadav, M.K., Singh, B.P. (Eds.), New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms. Elsevier, pp. 151–164. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64279-0.00012-8>
- Speight, J.G., 2011.** Chapter 9 - Chemical and Physical Properties of Hydrocarbons, in: Speight, J.G. (Ed.), Handbook of Industrial Hydrocarbon Processes. Gulf Professional Publishing, Boston, pp. 325–353. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7506-8632-7.10009-X>
- Srivastava, M., Srivastava, A., Yadav, A., Rawat, V., 2019.** Source and Control of Hydrocarbon Pollution, in: Hydrocarbon Pollution and Its Effect on the Environment. IntechOpen.
- Stelting, S., Burns, R.G., Sunna, A., Visnovsky, G., Bunt, C.R., 2012.** Immobilization of *Pseudomonas* sp. strain ADP: A stable inoculant for the bioremediation of atrazine. *Applied Clay Science* 64, 90–93. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2011.12.006>
- Stępniewska, Z., Kuźniar, A., 2013.** Endophytic microorganisms—promising applications in bioremediation of greenhouse gases. *Appl Microbiol Biotechnol* 97, 9589–9596. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5235-9>

## Références bibliographiques

---

- Swiha, S., 2019.** Optimisation du suivi de l'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques pendant la grossesse avec le développement et la validation de méthodes analytiques et biologiques (phdthesis). Université Sorbonne Paris Cité.
- Tahseen, R., Arslan, M., Iqbal, S., Khalid, Z.M., Afzal, M., 2019.** Enhanced degradation of hydrocarbons by gamma ray induced mutant strain of *Pseudomonas putida*. *Biotechnol Lett* 41, 391–399. <https://doi.org/10.1007/s10529-019-02644-y>
- Tanti, B., Buragohain, A.K., 2013.** Biodegradation of Petroleum Tar by *Pseudomonas* Spp. From Oil Field of Assam, India. *Bioremediation Journal* 17, 107–112. <https://doi.org/10.1080/10889868.2013.786017>
- Tiwari, G., Jangir, A., Malav, L.C., Kumar, S., 2020.** Soil Biodiversity: Status, Indicators and Threats. *Biotica Research Today* 2, 353–355.
- TOUA, D., BENCHABANE, M., BAKOUR, R., 2008.** Diversités taxonomique et trophique de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents isolées de palmeraies. *Revue des régions arides* 1123–1129.
- Tran, P.N., Savka, M.A., Gan, H.M., 2017.** In-silico Taxonomic Classification of 373 Genomes Reveals Species Misidentification and New Genospecies within the Genus *Pseudomonas*. *Front. Microbiol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01296>
- Trapet, P., 2015.** Incidence physiologique et étude du mode d'action de la pyoverdine de *Pseudomonas fluorescens* chez *Arabidopsis thaliana*: liens avec l'homéostasie du fer, la croissance et les défenses 270.
- Tribedi, P., Goswami, M., Chakraborty, P., Mukherjee, K., Mitra, G., Bhattacharyya, P., Dey, S., 2018.** Bioaugmentation and biostimulation: a potential strategy for environmental remediation. *JMEN* 6, 223–231. <https://doi.org/10.15406/jmen.2018.06.00219>
- Tripathi, V.N., Srivastava, S., 2006.** Extracytoplasmic storage as the nickel resistance mechanism in a natural isolate of *Pseudomonas putida* S4. *Can. J. Microbiol.* 52, 287–292. <https://doi.org/10.1139/w05-133>
- Tumanyan, A.F., Tyutyuma, N.V., Bondarenko, A.N., Shcherbakova, N.A., 2017.** Influence of Oil Pollution on Various Types of Soil. *Chem Technol Fuels Oils* 53, 369–376. <https://doi.org/10.1007/s10553-017-0813-7>
- Urashima, Y., Suga, Y., Hori, K., 2005.** Growth Promotion of Spinach by Fluorescent *Pseudomonas* Strains under Application of Organic Materials. *Soil Science and Plant Nutrition* 51, 841–847. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2005.tb00119.x>
- Vacheron, J., 2015.** Sélection des rhizobactéries phytostimulatrices par la plante: impact sur la distribution des propriétés phytobénéfiques chez les *Pseudomonas fluorescens* (thèse de doctorat). Université Claude Bernard - Lyon I, France.
- Vacheron, J., Moënné-Loccoz, Y., Dubost, A., Gonçalves-Martins, M., Muller, D., Prigent-Combaret, C., 2016.** Fluorescent *Pseudomonas* Strains with only Few Plant-Beneficial Properties Are Favored in the Maize Rhizosphere. *Front. Plant Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01212>
- Van Loon, L.C., 2007.** Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur J Plant Pathol* 119, 243–254. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9165-1>
- Varjani, S., Upasani, V.N., Pandey, A., 2020.** Bioremediation of oily sludge polluted soil employing a novel strain of *Pseudomonas aeruginosa* and phytotoxicity of petroleum hydrocarbons for seed germination. *Science of The Total Environment* 737, 139766. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139766>
- Varjani, S.J., Gnansounou, E., Pandey, A., 2017.** Comprehensive review on toxicity of persistent organic pollutants from petroleum refinery waste and their degradation by microorganisms. *Chemosphere* 188, 280–291. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.005>

## Références bibliographiques

---

- Vasilyeva, G., Kondrashina, V., Strijakova, E., Ortega-Calvo, J.-J., 2020.** Adsorptive bioremediation of soil highly contaminated with crude oil. *Science of The Total Environment* 706, 48. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135739>
- Vavasseur, A., 2014.** Bioremédiation des sols et des eaux : application aux pollutions chimique et nucléaire Bioremediation of soil and water: application to chemical and nuclear pollutions. *POLLUTION ATMOSPHERIQUE* 7.
- VENDEL, F., 2011.** Modélisation de la dispersion atmosphérique en présence d'obstacles complexes : application à l'étude de sites industriels. *L'ECOLE CENTRALE DE LYON et TOTAL*.
- Verdin, A., Lounès-Hadj Sahraoui, A., Durand, R., 2004.** Les agents de la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures polycycliques aromatiques. *Déchets, sciences et techniques* 30–37. <https://doi.org/10.4267/dechets-sciences-techniques.2155>
- Verma, S., Kuila, A., 2019.** Bioremediation of heavy metals by microbial process. *Environmental Technology & Innovation* 14, 100369. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100369>
- Vidya Lakshmi, C., Kumar, M., Khanna, S., 2008.** Biotransformation of chlorpyrifos and bioremediation of contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation* 62, 204–209. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.12.005>
- Vieira, P.A., Vieira, R.B., de França, F.P., Cardoso, V.L., 2007.** Biodegradation of effluent contaminated with diesel fuel and gasoline. *Journal of Hazardous Materials* 140, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.06.048>
- Viesser, J.A., Sugai-Guerios, M.H., Malucelli, L.C., Pincerati, M.R., Karp, S.G., Maranhão, L.T., 2020.** Petroleum-Tolerant Rhizospheric Bacteria: Isolation, Characterization and Bioremediation Potential. *Scientific Reports* 10, 2060. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59029-9>
- VOGEL, T.M., 2001.** Bioremédiation des sols [WWW Document]. Ref: TIP452WEB - "Opérations unitaires. Génie de la réaction chimique." URL <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/genie-des-procedes-et-protection-de-l-environnement-42327210/bioremediation-des-sols-j3982/> (accessed 8.1.20).
- Wackett, L.P., 2000.** *Environmental biotechnology*. Elsevier 18, 3.
- Wang, J., Zhang, H., Zhang, X., Qin, S., Tan, H., Li, X., 2012.** Effects of long-term chlorimuron-ethyl application on the diversity and antifungal activity of soil *Pseudomonas* spp. in a soybean field in Northeast China. *Ann Microbiol* 2013, 7. <https://doi.org/DOI.10.1007/s13213-012-0479-7>
- Wang, Y., Wang, J., Leng, F., Chen, J., 2020.** Effects of Oil Pollution on Indigenous Bacterial Diversity and Community Structure of Soil in Fushun, Liaoning Province, China. *Geomicrobiology Journal* 1–12. <https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1817196>
- Wasi, S., Tabrez, S., Ahmad, M., 2013.** Use of *Pseudomonas* spp. for the bioremediation of environmental pollutants: a review. *Environ Monit Assess* 185, 8147–8155. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3163-x>
- Widnyana, I.K., Sumantra, I.K., Pandawani, N.P., Ariati, P.E.P., 2019.** Induction of total phenol and salicylic acid with *Pseudomonas* spp. suspension as indications increasing systemic resistance on vanilla plant. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 25, 480–485.
- Wilson, D.A. (Ed.), 2012.** *Petroleum Product Toxicosis*, in: *Clinical Veterinary Advisor*. W.B. Saunders, Saint Louis, pp. 441–442. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-9979-6.00552-3>
- Wu, G.Z., Wang, Y., Qi, H.B., Zhou, Y.M., Li, D., 2014.** The Analysis of Crude Oil Nature's Impact on Oil Pipeline Underground Divulging Pollutant Migration. *AMM* 675–677, 332–335. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.675-677.332>

## Références bibliographiques

---

- Xu, X., Liu, W., Tian, S., Wang, W., Qi, Q., Jiang, P., Gao, X., Li, F., Li, H., Yu, H., 2018.** Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil Pollution Under Aerobic Conditions: A Perspective Analysis. *Front. Microbiol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02885>
- K., Othman, M.S., Mostafa, D.N., Gomaa, M.M., Fahmy, M.A., Shaaban, R.H., Yahia, M.S., Mohamed, M.Kamel, A.M., Abdelhai, M.F., Radwan, W.H., Abu-Hussien, S.H., Selim, S.M., 2020.** Isolation and identification of antibiotic producing *Pseudomonas fluorescens* NBRC-14160 from Delta Soil in Egypt. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences* 0. <https://doi.org/10.21608/ajs.2020.22178.1152>
- Yazdi, S.A.F., Fotovat, A., Lakzian, A., Mashhadrizeh, A.A.H., 2018.** Identification of Bacterial Isolates of *Pseudomonas fluorescens* siderophore from Rhizosphere of Corn Fields and Evaluation of Iron Absorption by Corn 8, 10.
- Zeng, S., Ma, J., Yang, Y., Zhang, S., Liu, G.-J., Chen, F., 2019.** Spatial assessment of farmland soil pollution and its potential human health risks in China. *Science of The Total Environment* 687, 642–653. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.291>
- ZGHEIB, S., 2009.** FLUX ET SOURCES DES POLLUANTS PRIORITAIRES DANS LES EAUX URBAINES EN LIEN AVEC L'USAGE DU TERRITOIRE. Ecole Nationale Des Ponts Et Chaussees.
- Zhang, Q.X., Kong, X.W., Li, S.Y., Chen, Xi J., Chen, Xiao J., 2020.** Antibiotics of *Pseudomonas protegens* FD6 are essential for biocontrol activity. *Australasian Plant Pathol.* 49, 307–317. <https://doi.org/10.1007/s13313-020-00696-7>
- Zhao, C., Dong, Yan, Feng, Y., Li, Y., Dong, Yong, 2019.** Thermal desorption for remediation of contaminated soil: A review. *Chemosphere* 221, 841–855. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.079>
- Zhou, Z., Liu, J., Zeng, H., Zhang, T., Chen, X., 2020.** How does soil pollution risk perception affect farmers' pro-environmental behavior? The role of income level. *Journal of Environmental Management* 270, 110806. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110806>