

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

Union - Discipline – Travail

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Institut National Polytechnique

Félix HOUPHOUËT-BOIGNY de Yamoussoukro



THÈSE

N° d'ordre : 117/2022

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE FELIX HOUPHOUËT-BOIGNY

Mention : Sciences des procédés chimiques alimentaires et environnementaux

Spécialité : Microbiologie, Sécurité alimentaire et Environnement

Thème :

DÉGRADATION MICROBIOLOGIQUE DU GLYPHOSATE ET DE LA
CYPERMÉTHRINE PAR DEUX ESPÈCES BACTÉRIENNES (*BACILLUS SUBTILIS*
ET *PSEUDOMONAS SP*) SÉLECTIONNÉES ET ISOLÉES DES SOLS DE CULTURE
MARAÎCHÈRE À ABIDJAN ET DANS QUELQUES ZONES PÉRIPHÉRIQUES
URBAINES

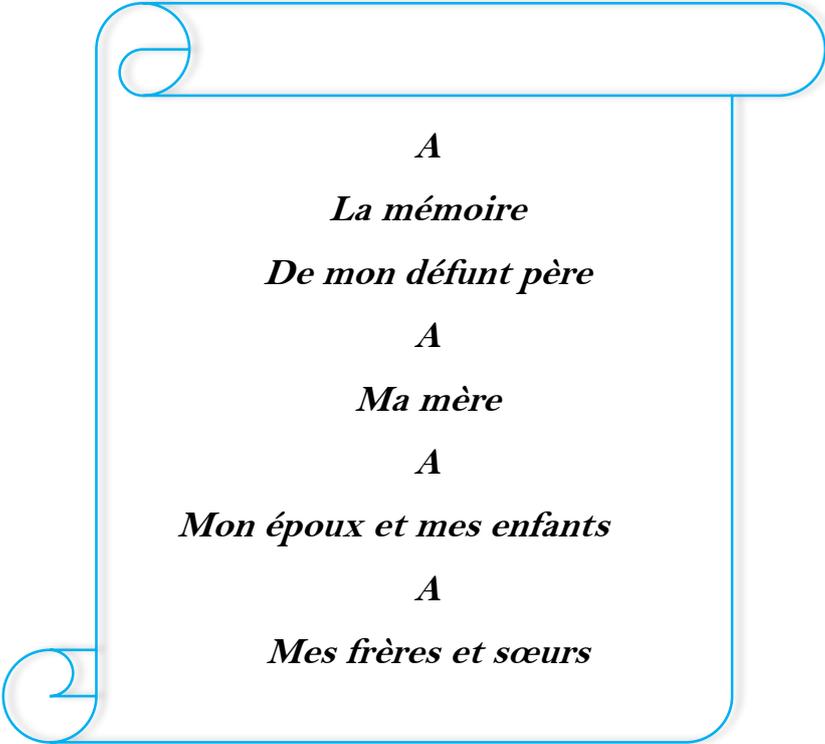
Présentée et soutenue publiquement le 29 Juin 2022 par

ANI BEFIASSOU PERPETUE Epse MAMBE

JURY

M. ASSIDJO N. EMMANUEL	Professeur titulaire INP-HB	Président
M. KRA KOUASSI A. SEVERIN	Maître de conférences UFHB	Rapporteur
M. DABONNE SOUMAILA	Professeur titulaire UNA	Rapporteur
M. AHONZO-NAMKE L. S	Professeur titulaire UFHB	Examineur
M. ELLEINGAND F. ERIC	Professeur titulaire INHP-HB	Directeur de thèse

DÉDICACE



A

La mémoire

De mon défunt père

A

Ma mère

A

Mon époux et mes enfants

A

Mes frères et sœurs

*« Nous avons vu contaminer le sol, les eaux et les aliments.....
L'homme, ne lui en déplaise, appartient lui aussi à la nature. Comment
pourrait-il échapper à une pollution si complète du monde entier. »*

Rachel Carson. Printemps Silencieux, 1962

REMERCIEMENTS

Je remercie **l'Éternel Dieu tout puissant** pour son assistance tout au long de cette thèse. Merci à LUI qui a tout disposé en ma faveur et qui a bien voulu que je passe par cette aventure.

Cette thèse est le fruit d'un travail collectif de nombreuses personnes qui ont contribué à sa réalisation ; c'est pourquoi, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à toutes ces personnes qui ont pris part à la concrétisation de ce travail.

D'emblée, je remercie Monsieur **YAO Kouassi Benjamin**, Professeur titulaire, Directeur de l'Ecole Doctorale Polytechnique (EDP) pour les immenses efforts qu'il déploie pour la bonne marche de l'EDP.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **ELLEINGAND F. Éric**, Professeur titulaire, Enseignant chercheur, Directeur scientifique de cette thèse pour la supervision des travaux ; vous avez été un père, un maître et une boussole pour moi. Durant ces années de thèse, j'ai apprécié vos qualités humaines et professionnelles, vous êtes un homme au grand cœur, merci infiniment de m'avoir guidée et soutenue dans la réalisation de ce travail. Malgré vos nombreuses occupations vous avez été présent et disponible. Merci pour votre investissement et vos longues heures de correction. Que DIEU vous le rende au centuple.

Je remercie également Monsieur **OUATTARA Koffi Nouho**, Maître de conférences, Enseignant chercheur et l'initiateur de ce travail. En me proposant ce travail de recherche, vous avez été celui-là même qui m'a encouragé dans ce projet. J'ai été ému par votre simplicité relationnelle et votre immense esprit d'ouverture. Je ne cesserai de vous remercier pour la confiance que vous avez placée en moi. Recevez ce travail comme le vôtre et soyez-en remercié.

Aux membres du jury

A Monsieur le Président, Monsieur **ASSIDJO N. Emmanuel**, Professeur Titulaire de L'INP-HB, Enseignant chercheur. Vous avez bien voulu nous faire l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Nous vous prions d'accepter toutes nos reconnaissances.

A Monsieur **DABONNE Soumaïla**, Professeur Titulaire à l'Université Nangui Abrogoua, Enseignant chercheur et à Monsieur **KRA Kouassi A. Severin**, Maître de Conférences de l'Université Félix Houphouët- Boigny, Enseignant chercheur, vous avez accepté de juger et d'instruire cette thèse. Nous vous prions d'accepter l'expression de notre profonde gratitude.

A Monsieur **AHONZO-NIAMKE L. Sébastien**, Professeur titulaire, Enseignant à l'Université Félix Houphouët- Boigny, Directeur de l'Ecole Doctorale Biologie Environnement et Santé, merci de faire partie de ce jury de thèse en tant qu'examineur. Nous vous exprimons notre profonde et respectueuse gratitude.

Un très grand merci à Monsieur **EKAZA Euloge**, Maître de Conférences pour m’avoir transmis une partie de son savoir en m’initiant aux techniques de biologie moléculaire; merci infiniment d’avoir éveillé mon intérêt pour la recherche. Je ne cesserai jamais de vous remercier.

J’exprime ma profonde gratitude et mes vifs remerciements à Monsieur **Traoré Karim Sory**, Professeur Titulaire pour m’avoir accueillie au sein du LANADA. Recevez ici l’expression d’une reconnaissance sincère et infinie. Je voudrais associer à ces remerciements Monsieur **Kossonou N’guettia Roland**, Chargé de recherche, Chercheur au LANADA ainsi que toute l’équipe du Laboratoire Central d’Agrochimie et d’Ecotoxicologie (LCAE) pour le travail analytique réalisé.

Mes remerciements vont également à l’endroit des **Docteurs Soro Doudjo, Abro Koutouan, Kakou Ernest, Kadjo Vincent, Koua Saman Hervé, Yobouet Antoinette, Kouadio Floresse, Diallo Koffi et Mr Oyou**. Merci pour votre implication effective dans le bon déroulement de cette thèse.

J’exprime ma profonde gratitude à l’ensemble du personnel de l’Institut Pasteur de Côte d’Ivoire (IPCI) et du Laboratoire National d’Essai de Qualité, de Métrologie et d’analyses (LANEMA) particulièrement aux collègues et amis **Zadi Zouzouko Pierre Luc, Bregui Bada Olivier, Bléoué Marina, Yapi Evariste, Koffi Mélissa, Kouakou Jean Noël et Koné Seydou**. Merci pour votre immense contribution à la réalisation des travaux de cette thèse.

Mes remerciements s’adressent à tous les acteurs de la filière maraîchage, aux agriculteurs maraîchers qui en acceptant de participer à l’étude ont contribué à sa réalisation. Merci également aux présidents de coopérative de producteurs de légumes des 3 sites d’étude. Nos remerciements s’adressent aussi à l’Agence Nationale d’Appui au Développement Rural (ANADER) et à la Direction de la Protection des Végétaux et du Contrôle Qualité (DPVCQ).

J’adresse mes remerciements au pasteur **Don Joseph** pour les prières et le soutien spirituel. J’associe toute la communauté Internationale pour les conquérants du Christ (MICC) à ces remerciements.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	i
REMERCIEMENTS	iv
TABLE DES MATIÈRES	vii
LISTE DES TABLEAUX	xiii
LISTE DES FIGURES	xv
SIGLES ET ABBREVIATIONS	xviii
RÉSUMÉ.....	xxii
INTRODUCTION.....	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	5
CHAPITRE I: CULTURE MARAÎCHÈRE ET UTILISATION DES PESTICIDES	6
I.1 Généralités sur les pesticides	6
I.1.1 Historique.....	6
I.1.2 Définition des pesticides	7
I.1.3 Classification des pesticides	7
I.1.4 Formulation des pesticides.....	8
I.1.4.1 Matière active.....	8
I.1.4.2 Diluant.....	8
I.1.4.3 Adjuvants	9
I.1.5 Mode d'action des pesticides	9
I.2 Culture maraîchère et pesticides	9
I.3 Importance de l'utilisation des pesticides	10
I.3.1 Importance sur l'économie	10
I.3.2 Importance sur le rendement.....	10
I.3.3 Utilisation des pesticides en Côte d'Ivoire	11
I.4 Effets des pesticides sur la santé et l'environnement.....	12
I.4.1 Impacts des pesticides sur l'environnement.....	12

I.4.2 Eaux	13
I.4.3 Faune.....	13
I.4.4 Sol	13
I.4.5 Air	14
I.4.6 Impacts sur la santé humaine	14
I.4.7 Impacts sur les microorganismes	15
I.5 Devenir des pesticides dans l'environnement.....	15
I.5.1 Processus abiotiques	16
I.5.2 Processus biotiques	16
I.5.2.1 Biodégradation par les microorganismes	16
I-6 Etat des lieux du glyphosate et de la cyperméthrine.....	18
I.6.1 Glyphosate	18
I.6.2 Cyperméthrine.....	20
I.7 Devenir du glyphosate et de la cyperméthrine.....	23
1.7.1 Devenir du glyphosate.....	23
1.7.2 Devenir de la cyperméthrine	24
I.8 Bactéries du sol	25
I.8.1 Bactéries modèles utilisées dans l'étude.....	26
I.8.1.1 <i>Bacillus subtilis</i>	26
I.8.1.2 <i>Pseudomonas sp.</i>	27
I.9 Impact des pesticides sur les communautés bactériennes du sol	29
I.10 Plasticité génomique bactérienne.....	30
I.11 Biodégradation	31
CHAPITRE II: MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	33
II.1 MATÉRIEL	34
II.1.1 Matériel biologique.....	34
II.2 MÉTHODES	35

II.2.1 Description des sites d'étude	35
II.2.2 Méthode d'enquête	37
II.2.3 Echantillonnage des sols.....	37
II.2.4 Analyses des paramètres physico-chimiques des échantillons de sol	39
II.2.4.1 Mesure du pH	39
II.2.4.2 Granulométrie	39
II.2.4.3 Détermination de la matière organique (MO)	39
II.2.4.4 Détermination du taux d'humidité (H)	40
II.2.4.5 Activité de l'eau (Aw)	40
II.2.4.6 Détermination de la teneur en azote total	40
II.2.4.7 Détermination de la teneur en chlorure	41
II.2.4.8 Détermination de la teneur en calcium et magnésium.....	42
II.2.5 Dosage par chromatographie des résidus de pesticide dans les sols	43
II.2.5.1 Prétraitement des échantillons de sol.....	43
II.2.5.2 Extraction des résidus de pesticide des sols	44
II.2.5.2.1 Extraction du glyphosate	44
II.2.5.2.2 Extraction de la cyperméthrine, du profénofos et de la carbendazime.....	44
II.2.5.3 Quantification des résidus de pesticide par HPLC	44
II.2.6 Isolement et identification de <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas sp.</i>	46
II.2.6.1 Procédure d'isolement des souches bactériennes	46
II.2.6.1.1 Isolement de <i>Pseudomonas sp.</i>	46
II.2.6.1.2 Isolement de <i>Bacillus subtilis</i>	46
II.2.6.3 Caractérisation morphologique et biochimique des isolats sélectionnés.....	46
II.2.6.3.1 Caractérisation macroscopique et microscopique des isolats.....	46
II.2.6.3.2 Caractérisation biochimique des isolats sélectionnés	46
II.2.6.3.3 Purification et conservation des souches isolées	47
II.2.6.4 Identification moléculaire des isolats sélectionnés.....	47

II.2.6.4.1 Préparation et prétraitement des isolats sélectionnés	47
II.2.6.4.2 Extraction de l'ADN total.....	47
II.2.6.4.3 Amplification génomique des gènes.....	48
II.2.6.4.4 Révélation des produits de la PCR	49
II.2.7 Séquençage des gènes des meilleures souches bactériennes	49
II.2.8 Evaluation de la capacité de dégradation des isolats sélectionnées.....	50
II.2.8.1 Etude de la tolérance des bactéries isolées aux pesticides choisis	50
II.2.8.2 Dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine en condition contrôlée.....	51
II.2.8.3 Effet du glucose, du sucrose et de l'amidon sur la dégradation	54
II.2.8.4 Identification des métabolites principaux	54
II.2.9 Analyses statistiques.....	54
CHAPITRE III: RÉSULTATS ET DISCUSSION	55
III.1. Enquête socio-démographiques des acteurs du maraîchage.....	56
III.1.1 Résultats des enquêtes	56
III.1.1.1 Typologie des producteurs maraîchers.....	56
III.1.1.2 Utilisation des produits phytosanitaires par les producteurs maraîchers	57
III.1.1.3 Pesticides répertoriés.....	58
III.1.1.4 Source d'approvisionnement des pesticides et stockage des pesticides.....	59
III.1.1.5 Méthode d'épandage des pesticides et doses appliquées	59
III.1.1.6 Moyens de protection et fréquence de traitement des cultures	60
III.1.1.7 Délai avant récolte et gestion des emballages après usage	60
III.1.2 DISCUSSION	62
III.1.3 CONCLUSION PARTIELLE.....	64
III.2 Caractéristiques des sols et détermination des résidus de pesticides dans les sols	65
III.2.1 Résultats	65
III.2.1.1 Caractéristiques physicochimiques des sols étudiés	65
III.2.1.2 Caractéristiques granulométriques des sols d'étude.....	67

III.2.1.3 Résidus de pesticides dans les sols d'étude.....	68
III.2.1.4 Interaction entre les paramètres physicochimiques et pesticides	70
III.2.2 DISCUSSION	72
III.2.3 CONCLUSION PARTIELLE.....	75
III.3 Identification microbiologique et moléculaire des bactéries isolées des sols	76
III.3.1 Résultats	76
III.3.1.1 Caractères phénotypiques des isolats bactériens isolés des sols	76
III.3.1.2 Caractérisation moléculaire des bactéries isolées des sols.....	79
III.3.2 DISCUSSION	81
III.3.3 CONCLUSION PARTIELLE.....	82
III.4 Biodégradation du glyphosate et de la cyperméthrine	83
III.4.1 Résultats	83
III.4.1.1 Test de tolérance.....	83
III.4.1.2 Résultats de la biodégradation des pesticides par <i>B. subtilis</i> et <i>P. sp.</i>	87
III.4.1.3 Effet des différentes concentrations de pesticides sur la biodégradation.....	96
III.4.1.4 Effet des nutriments sur la biodégradation.....	99
III.4.1.5 Effet du consortia bactérien sur la dégradation	101
III.4.1.6 Métabolites principaux issus de la dégradation des pesticides	103
III.4.2 Séquençage et arbres phylogénétiques des souches performantes	106
III. 4.3 DISCUSSION	109
III.4.4 CONCLUSION PARTIELLE.....	113
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	115
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	119
ANNEXES	149
COMMUNICATIONS ET PUBLICATIONS	168

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	: Historique de l'évolution des pesticides des années 1900 à 2000.....	6
Tableau 2	: Classification des pesticides selon leur cible.....	7
Tableau 3	: Principaux codes internationaux et formulations correspondantes.....	8
Tableau 4	: Proportion de pesticides utilisés par cultures en Côte d'Ivoire.....	12
Tableau 5	: Caractéristiques physico-chimiques du glyphosate.....	20
Tableau 6	: Caractéristiques physico-chimiques de la cyperméthrine.....	23
Tableau 7	: Coordonnées géographiques des sites de prélèvement des sols.....	35
Tableau 8	: Conditions chromatographiques des pesticides recherchés.....	45
Tableau 9	: Liste des amorces pour la sélection de <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas sp.</i>	48
Tableau 10	: Conditions d'amplification de <i>Bacillus subtilis</i> et de <i>Pseudomonas sp.</i>	49
Tableau 11	: Concentrations de glyphosate et cyperméthrine.....	51
Tableau 12	: Valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des sols et écartypes correspondants.....	66
Tableau 13	: Valeurs moyennes des résidus de quatre pesticides (en mg/kg de sol) et écart-type de chaque résidu de pesticide par site d'étude [N= 30 échantillons composite de sol].....	69
Tableau 14	: Matrice de corrélation entre les paramètres physico-chimiques et résidus de pesticide des sols étudiés.....	71
Tableau 15	: Résultats des caractères biochimiques et morphologiques des souches de <i>Bacillus subtilis</i>	77
Tableau 16	: Résultats des caractères biochimiques et morphologiques des souches de <i>Pseudomonas sp.</i>	79
Tableau 17	: Résultats récapitulatifs de la culture et de la biologie moléculaire.....	81
Tableau 18	: Résultats du test de tolérance des souches de <i>Bacillus subtilis</i> et de <i>Pseudomonas sp</i> en présence des différentes concentrations de glyphosate.....	86
Tableau 19	: Résultats du test de tolérance des souches de <i>Bacillus subtilis</i> et de <i>Pseudomonas sp.</i> en présence des différentes concentrations de cyperméthrine.....	86
Tableau 20	: Pourcentage de dégradation du glyphosate à 50 mg/L et de la cyperméthrine à 10 mg/L sur milieu minimum (MM) à 25 °C après 168 heures d'essai.....	88
Tableau 21	: Pourcentage de dégradation du glyphosate à 50 mg/L et 360 mg/L et de la cyperméthrine à 50 mg/L et 10 mg/L par les microorganismes testés.....	90
Tableau 22	: Concentrations des métabolites AMPA et 3-PBA obtenus en début à (H0) et à la fin (H168) de l'expérimentation.....	105

LISTE DES FIGURES

Figure 1	: Répartition du chiffre d'affaire des pesticides dans le monde en 2011.....	10
Figure 2	: Processus et voies de dispersion des pesticides dans l'environnement.....	16
Figure 3	: Processus de métabolisation des molécules actives des pesticides.....	17
Figure 4	: Structure chimique de la molécule du glyphosate.....	19
Figure 5	: Structure chimique de la molécule de cyperméthrine.....	22
Figure 6	: Voies de dégradation du glyphosate dans le sol.....	24
Figure 7	: Voies de dégradation de la cyperméthrine dans l'environnement.....	25
Figure 8	: Voies de dégradation biotiques et abiotiques des pesticides.....	32
Figure 9	: Echantillons de sol de culture maraîchère.....	34
Figure 10	: Représentation générale du site expérimental.....	36
Figure 11	: Site de prélèvement des échantillons de sol de Songon.....	38
Figure 12	: Plan d'échantillonnage des sols.....	38
Figure 13	: Test <i>in vitro</i> de dégradation de la cyperméthrine par <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas sp.</i>	53
Figure 14	: Test <i>in vitro</i> de dégradation du glyphosate par <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas sp.</i>	53
Figure 15	: Répartition des producteurs selon l'âge.....	57
Figure 16	: Pourcentage d'utilisation des pesticides appliqués par zones d'étude.....	57
Figure 17	: Proportion des pesticides utilisés par les producteurs maraîchers.....	58
Figure 18	: Répartition des familles chimiques des pesticides utilisés par les producteurs.....	59
Figure 19	: Proportion des agriculteurs respectant les différents délais avant récolte.....	61
Figure 20	: Répartition des producteurs selon la gestion des emballages vides de pesticides.....	61
Figure 21	: Proportions granulométriques des sols de Port-Bouët, Bingerville, Songon....	68
Figure 22	: Pourcentage de positivité de sols de chaque pesticide.....	70
Figure 23	: Colonies présomptives de <i>Bacillus subtilis</i> sur gélose Mössel.....	77
Figure 24	: Colonies présomptives de <i>Pseudomonas sp.</i> sur milieu King B.....	78
Figure 25	: Profil électrophorétique de <i>Bacillus subtilis</i> sur gel d'agarose à 1,5 %.....	80
Figure 26	: Profil électrophorétique de <i>Pseudomonas sp.</i> sur gel d'agarose à 1,5 %.....	80
Figure 27	: Mise en évidence de la tolérance des souches de <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas sp.</i> sur milieu LB. (A) : croissance de la souche BT en présence des différentes concentrations de glyphosate. (B): Zone d'inhibition induite par la souche Psp15 en présence des différentes concentrations de cyperméthrine	84

Figure 28	: Cinétique de croissance des souches bactériennes sur milieu MM en présence de la cyperméthrine à 10 mg/L comme seule source de carbone et d'énergie à 25 °C pendant 168 heures.....	92
Figure 29	: Cinétique de croissance des souches bactériennes sur milieu MM en présence du glyphosate à 50 mg/L comme seule source de carbone et d'énergie à 25 °C pendant 168 heures.....	92
Figure 30	: Courbe de la croissance des souches de <i>Bacillus subtilis</i> BT [A] et <i>Pseudomonas sp.</i> Psp5 [B] et suivi de la dissipation du glyphosate à 50 mg/L à 25 °C pendant 168 heures.....	94
Figure 31	: Courbe de la croissance des souches de <i>Bacillus subtilis</i> BT [A] et de <i>Pseudomonas sp.</i> Psp5 [B] et suivi de la dissipation de la cyperméthrine à 10 mg/L à 25 °C pendant 168 heures.....	95
Figure 32	: Effet des différentes concentrations de glyphosate [A] et de cyperméthrine [B] sur le taux de dégradation des souches bactériennes à 25 °C pendant 168 heures.....	97
Figure 33	: Comparaison du taux de dégradation des souches de <i>Bacillus subtilis</i> BT et <i>Pseudomonas sp.</i> Psp5 sur le milieu minimum en présence des différentes concentrations de glyphosate et de cyperméthrine à 25 °C après 168 heures d'essai.....	99
Figure 34	: Effets des nutriments sur le taux de dégradation par la souche de <i>Bacillus subtilis</i> BT et <i>Pseudomonas sp.</i> Psp5 à 25 °C après 168 heures d'essai sur milieu MM supplémenté de glyphosate[A] et de cyperméthrine [B].....	100
Figure 35	: Effet du consortium bactérien sur le taux de dégradation du glyphosate (50 g/L) et de la cyperméthrine (10 g/L) à 25 °C après 168 heures d'essai.....	102
Figure 36	: Chromatogramme de l'AMPA obtenu en début d'expérimentation à H0 et à la fin de la dégradation du glyphosate à H168 en milieu liquide en présence du glyphosate à 50 mg/L de la souche de <i>Bacillus subtilis</i> BT à 25 °C.....	104
Figure 37	: Chromatogramme du 3-PBA obtenu en début d'expérimentation à H0 et après dégradation de la cyperméthrine H168 en milieu liquide en présence de la cyperméthrine à 10 mg/L de la souche de <i>Bacillus subtilis</i> BT à 25 °C.....	104
Figure 38	: Arbre phylogénétique montrant les homologues proches des souches de <i>Bacillus subtilis</i> BT, ba1 et Ba3.....	107
Figure 39	: Arbre phylogénétique montrant les homologues proches des souches de <i>Pseudomonas sp.</i> Psp5, Psp6 et Psp9.....	108

SIGLES ET ABREVIATIONS

%	: Pourcentage
°C	: Degré Celsius
3-PBA	: Acide 3-phénoxybenzoïque
µl	: Microlitre
AgNO₃	: Nitrate d'argent
ARN	: Acide ribonucléique
ARNr	: Acide ribonucléique ribosomique
ADH	: Arginine Dihydrolase
AMPA	: Acide amino-méthyl phosphonique
ANADER	: Agence Nationale d'appui au Développement Rural
Biomol	: Biologie moléculaire
Ca	: Calcium
CL	: Concentration létale
DCVA	: Acide 3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2- diméthylcyclopropane carboxylique
DJA	: Dose journalière acceptable
DL50	: Dose létale 50
DDT	: Dichlorodiphényltrichloroéthane
DO	: Densité Optique
DPVCQ	: Direction de la Protection des Végétaux et du Contrôle Qualité
Eau ppi	: Eau pour préparation injectable
EDTA	: Ethylène diamine tétra acétique
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
ETBE	: Ethyl tert-butyl ether
FAO	: Food and Agriculture Organization
FMOC	: 9-fluorenylmethylchloroformate
g	: Gramme
GPS	: Global Positioning System
H	: Humidité
HPLC	: High performance liquid chromatography
IPCI	: Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry
K₂CrO₄	: Chromate de potassium
Kb	: Kilobase
LANADA	: Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole
LANEMA	: Laboratoire National d'Essai de Qualité et de Métrologie
LAPISEN	: Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse de l'Environnement et Et des Energies Nouvelles
LB	: Milieu Luria Bertani
LCAE	: Laboratoire Central d'Agrochimie et d'Ecotoxicologie
Min	: Minute
Mg	: Milligramme
MM	: Milieu minimum
mL	: Millilitre
Mgcl₂	: Chlorure de magnésium
MO	: Matière organique
MTBE	: Methyl tert-butyl éther
Nm	: Nanomètre
OMS	: Organisation Mondiale de la santé
Pb	: Paire de base
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PfBM	: Plateforme de Biologie Moléculaire
PGPR	: Plant growth promoting rhizobacteria
PSM	: Poste de sécurité microbiologique
rpm	: Rotation par minute
TiO₂	: Dioxyde de titane
Trs	: Tours
UFC	: Unité formant colonie

UIPP	: Union des Industries de la Protection des Plantes
USFDA	: US Food and Drug Administration
UV	: Ultraviolet
TSA	: Trypto-caséine soja agar
WHO	: World Health Organization

RÉSUMÉ

L'urbanisation rapide des villes ivoiriennes surtout d'Abidjan a engendré une forte demande en produits légumiers, ce qui a favorisé un développement des cultures maraîchères autour des villes et conduit à un usage considérable de pesticides chimiques. Cet usage récurrent de pesticide pose un véritable problème de pollution de l'environnement (eau, sol, air). Parmi les pesticides les plus utilisés en culture maraîchère figurent le glyphosate et la cyperméthrine. L'objectif de ce travail est d'évaluer les performances métaboliques de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp.* en vue de leur utilisation dans un processus de biodégradation des pesticides chimiques utilisés en culture maraîchère. Une enquête a été effectuée auprès des producteurs et des analyses ont été effectuées au laboratoire sur 35 échantillons de sols de culture maraîchère. Dix-sept (17) souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* ont été identifiées par des méthodes de microbiologie classique et moléculaires et soumises au test de dégradation individuellement et en consortium pendant 168 heures. L'effet des nutriments sur la dégradation a été évalué. La dégradation et la croissance des bactéries vis-à-vis des pesticides ont été suivies par la mesure de l'absorbance à 265, 480 et 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible. Les résultats du test de dégradation ont indiqué que les souches testées ont une croissance significative ($p < 0,05$) dans le milieu minimum supplémenté de pesticides, utilisant ces pesticides comme seule source de carbone et d'énergie pour leur croissance. L'évaluation des taux de dégradation a montré que six (6) souches bactériennes se sont distinguées par leur fort taux de dégradation situé entre 70 % et 93,01 %. L'effet des différentes concentrations sur la dégradation a montré que les concentrations élevées de glyphosate (360 g/L) et de cyperméthrine (50 g/L) ralentissaient et/ou inhibaient la croissance des souches dégradantes. L'apport des nutriments a amélioré les taux de dégradation de 3 % tandis que l'utilisation du consortium bactérien (*Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.*) a amélioré la dégradation de 5 %. Le consortium bactérien a donné les meilleurs résultats avec un taux de dégradation situé entre 90,78 % à 98,83 %. Les souches de *Bacillus subtilis* ont eu un meilleur taux de dégradation que *Pseudomonas sp.* Le séquençage a permis d'identifier ces souches dégradantes comme apparentées à *Bacillus subtilis subsp subtilis* et à *Pseudomonas fluorescens*. Les résultats de cette étude soulignent les capacités métaboliques des souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp.* qui colonisent les sols de culture maraîchère. L'utilisation de ces souches obtenues dans un processus de bioremédiation des sols contaminés par ces pesticides serait un énorme atout pour la protection de l'environnement et la santé de la population.

Mots clés : sol, culture maraîchère, pesticide, biodégradation, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas sp.*, glyphosate, cyperméthrine, Abidjan.

ABSTRACT

Rapid urbanisation of Ivorian cities, especially Abidjan, has led to a high demand of vegetables, which has encouraged the development of market gardening around the cities and led to a considerable use of chemical pesticides. A consequence of the recurrent use of pesticides is a widespread pollution of the environment (water, soil, air) that constitutes a potential risk to human health. This study was therefore initiated in order to evaluate the metabolic performance of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas sp.* for their use in a biodegradation process of chemical pesticides used in vegetable farming. To do this, a survey was carried out among producers and tests were carried out in the laboratory on 35 vegetable crop soil samples. Classical and molecular microbiology methods were used to detect and identify seventeen (17) *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas sp.* strains. After one hundred sixty-eight (168) hours of incubation of pesticide exposed to bacterial strains, the glyphosate and cypermethrin degradation by consortium and individual bacterial strains was assessed by UV visible spectrophotometer. Effects of nutrients and pesticide concentrations in the degrading capacity of the bacterial strains has also been investigated by measuring absorbance at 600 nm. Results indicated that the tested strains grew significantly ($p < 0.05$) in the minimum medium supplemented with different concentrations of pesticides, using these pesticides as the only carbon and energy source for their growth. Evaluation of degradation rates showed that six (6) bacterial strains stood out for their high degradation rates between 70 % and 93.01 %. Effects of different concentrations on degradation showed that high concentrations of glyphosate 360 g/L and cypermethrin 50 g/L inhibited the growth of degrading strains. Bacterial consortium gave the best results with a degradation rate between 90.78 % and 98.83 %. *Bacillus subtilis* strains had a better degrading capacity than *Pseudomonas sp.* Genetic identification by sequencing of the six best strains obtained identified these degrading strains as related to *Bacillus subtilis subsp subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. Results of this study highlight the metabolic capabilities of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas sp.* strains colonising vegetable soils. The use of these strains obtained in a process of bioremediation of soils contaminated by these pesticides would be a huge advantage for the protection of the environment and the health of the population.

Key words: Soil, vegetable, pesticide, biodegradation, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas sp.*, glyphosate, cypermethrin, Abidjan.

INTRODUCTION

Les pesticides ou produits phytosanitaires (**El Mrabet, 2008**) sont utilisés en agriculture pour la protection des cultures contre les insectes ravageurs, les champignons et les plantes adventices (**Akpo et al., 2016**). Depuis leur apparition il ya 900 ans avant Jésus Christ (JC) (**Khan, 1980**). Ils sont également utilisés pour d'autres applications non agricoles comme en hygiène, en santé publique, en soins vétérinaires, pour l'entretien des voiries et des espaces verts, etc. (**Pflieger, 2009**). La fin de la deuxième guerre mondiale a véritablement marqué le début de l'essor des pesticides de synthèse (**Savado, 2001**), depuis lors, l'on assiste à une utilisation massive de ces molécules de synthèse dans tous les domaines de l'activité humaine et particulièrement dans le secteur agricole. L'intensification de l'agriculture, particulièrement l'agriculture maraîchère a entraîné l'utilisation croissante des pesticides chimiques, contribuant ainsi à l'amélioration significative des cultures légumières (**Cissé et al., 2003**). La forte et rapide croissance démographique et l'urbanisation accélérée des villes africaines parmi lesquelles Abidjan, entraînent une hausse importante des besoins alimentaires, d'où la prolifération des parcelles agricoles à la périphérie de celles-ci (**Chenal et al., 2018**). L'agriculture maraîchère apparait ainsi comme une véritable solution pour répondre aux problèmes de besoins alimentaires. Cette agriculture est quasi-dépendante des pesticides chimiques à cause de la pression parasitaire à laquelle elle fait face (**Kanda et al., 2014**). L'agriculture maraîchère utilise ainsi les pesticides chimiques. Malheureusement, cette utilisation de pesticides a des répercussions négatives sur l'environnement, sur les organismes non cibles et sur la santé humaine (**Bodereau, 2011**). En effet, les pesticides chimiques font partie des polluants les plus dangereux pour l'environnement à cause de leur stabilité, leur mobilité et leurs effets à long terme sur les organismes vivants (**Ayad, 2012**). Du fait de leur écotoxicité, de leur potentiel de bioaccumulation et de leurs actions endocriniennes, les molécules de pesticide présentent un risque pour l'environnement (**Mamy et al., 2008**).

En Côte d'Ivoire, des travaux scientifiques font état de l'utilisation massive, abusive, répétée et incontrôlée des pesticides chimiques dans le maraîchage (**Tano et al., 2011**). Cette utilisation abusive entraîne la présence des résidus de pesticides dans les légumes et l'environnement (**Soro et al., 2019**). Le sol reste un compartiment clé car il est une ressource difficilement renouvelable (**Barriuso et al., 1996**) et le premier récepteur des pesticides (**Carles, 2016**). Une proportion des pesticides appliquée lors du traitement des cultures arrive au sol, par application directe et/ou par lessivage du feuillage (**Ayad, 2012**). En effet, lors de l'épandage, la partie des pesticides non interceptée par la plante atteint le sol et peut altérer ses propriétés chimiques et biologiques (**Carles, 2016**). Ainsi, il est donc crucial de contrôler, de réduire et/ou d'éliminer les résidus de pesticide des sols de culture maraîchère.

Au cours de ces trois décennies, un large éventail de méthodes a été développé dans le but de contribuer à l'élimination et/ou la réduction des résidus de pesticides dans les sols de culture soumis à répétition aux pesticides chimiques. Ces méthodes reposent en partie sur des techniques physiques, chimiques et biologiques (Verardo, 2016). Les techniques physico-chimiques (incinération, photochimie, etc.) bien qu'efficaces sont onéreuses, difficiles à mettre en œuvre (Samake, 2008; Agarry and Latinwo, 2015) et nécessitent l'usage des solutions parfois toxiques pour l'environnement. Parmi les différentes techniques d'élimination des résidus de pesticides des sols, les processus biologiques basés sur l'utilisation des microorganismes offrent de nombreux avantages en terme de coût, d'efficacité (Verardo, 2016; Zhan et al., 2018) et sont respectueuses de l'environnement (Rani and Dhaniala, 2014; Agarry and Latinwo, 2015).

Ces 20 dernières années ont été marquées par une augmentation spectaculaire de l'intérêt pour les mécanismes de biodégradation orientés vers la protection de l'environnement (Roger and Jacq, 2000). La biodégradation étant la décomposition partielle ou totale d'un produit par un agent biologique, elle sous-entend l'élimination d'un composé en des produits simples tels que l'eau, le dioxyde de carbone (CO₂), etc. (Roger and Jacq, 2000). L'étude de la biodégradation des pesticides chimiques utilisés en maraîchage constitue un enjeu scientifique important étant donné que la majorité des pesticides dans le monde entier est utilisée dans la culture des fruits et légumes (OMS, 1991). L'usage intensif, répétitif, incontrôlé et inapproprié des pesticides en maraîchage est un véritable problème de santé publique (Kaki, 2014) et une source de contamination des sols; ce qui est préjudiciable à la fertilité des sols, à la sécurité alimentaire et *in fine* à la santé de la population. Les espèces bactériennes telles *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp* présentent un potentiel important dans la dégradation et l'élimination des polluants des sols car disposent de plusieurs avantages métaboliques tels la production de nombreuses enzymes qui leur confèrent un haut potentiel antifongique, antibactérien et une bonne capacité à dégrader de nombreuses molécules xénobiotiques (Avşar et al., 2017). De nombreuses études ont été concentrées sur la capacité de ces microorganismes dans la lutte biologique des sols pollués. En effet, ils ont été utilisés dans la biodégradation des sols de culture pollués par la cyperméthrine, le monocrotophos, le profenofos, le glyphosate (Majid et al., 2012 ; Chen et al., 2012 ; Kannahi and Radhika, 2014).

Plusieurs travaux scientifiques portant sur la biodégradation des polluants chimiques ont été réalisés en Afrique et ont concernés la bio-dépollution des sols contaminés par les hydrocarbures, le sumithion, les organophosphorés ainsi que le pentachlorophénol (Toe, 1994 ; Savadogo et al., 2007 ; Kaboré-Ouédraogo et al., 2010 ; Benguenab, 2022).

En Côte d'Ivoire, la plupart des travaux menés sur les pesticides en culture maraîchère se sont intéressés à l'évaluation des pratiques culturales et des risques liés à l'utilisation des pesticides, aux mauvaises pratiques agricoles, à l'analyse des niveaux de contamination et la perception du risque sanitaire dans le maraîchage. Toutefois, quelques études ont été réalisées sur l'élimination des résidus de pesticide des sols de culture maraîchère et ont concerné l'utilisation des plantes pesticides (**Boni et al., 2017**).

Les questions de recherche suscitées par cette étude sont de savoir si les sols de culture maraîchère soumis à répétition aux pesticides chimiques contiennent-ils les résidus de ces pesticides? Aussi, ces sols contiennent-ils des souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp*? Ces souches bactériennes peuvent-elles être capables de dégrader les pesticides utilisés en maraîchage? Les hypothèses qui découlent de ces différentes questions seraient que les sols de culture maraîchère peuvent contenir des résidus de pesticide chimiques et également des souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp*. De plus, ces souches bactériennes seraient capables de dégrader les molécules de pesticide chimique utilisée en maraîchage.

Le travail qui fait l'objet de cette étude s'inscrit dans le cadre général de la biorémediation des sols et a pour objectif général de restaurer les sols de culture maraîchère par voie microbiologique par l'utilisation des souches starters de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp*. De façon spécifique, il s'agit de:

- (i) faire l'état des lieux de l'utilisation des pesticides chimiques en culture maraîchère par une enquête,
- (ii) Isoler, identifier, caractériser et sélectionner les bactéries du genre *Bacillus* et *Pseudomonas* à partir des sols de culture maraîchère soumis à répétition aux pesticides chimiques sur la base de leur aptitude métabolique,
- (iii) explorer le potentiel ou la capacité des bactéries seules et en consortium à dégrader *in vitro* les molécules de pesticide sélectionnées.

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I: CULTURE MARAÎCHÈRE ET UTILISATION DES PESTICIDES

I.1 Généralités sur les pesticides

I.1.1 Historique

Les pesticides communément appelés produits phytosanitaires sont des substances chimiques utilisés pour la croissance, la protection et la conservation des végétaux (El Mrabet, 2008). La première utilisation des pesticides remonte avant 1900, ils étaient à base d'extraits de végétaux (poivre, tabac), d'eau savonneuse, d'essence de térébenthine et d'eau saumâtre, etc. (Savadogo, 2001). L'année 1939 qui marque le début de la deuxième guerre mondiale a favorisé le développement et l'entrée des composés tels l'arsenic, les huiles d'essence, la nicotine, la pyrèthrine, le sulfure, les gaz de cyanite d'hydrogène, la roténone, la cryolite pour le contrôle des ravageurs de culture. Cette guerre a ouvert l'ère de la chimie avec l'introduction des composés synthétiques tels que le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) qui fut le tout premier pesticide de synthèse produit en grande quantité (Savadogo, 2001; Lompo, 2007) (Tableau 1).

Tableau 1: Historique de l'évolution des pesticides des années 1900 à 2000 (Batsch, 2011)

Evolution des produits			
	HERBICIDES	FONGICIDES	INSECTICIDES
Avant 1900	Sulfate de cuivre Sulfate de fer	Soufre Sels de cuivre	Nicotine
1900 - 1920	Acide sulfurique		Sels d'arsenic
1920 - 1940	Colorants nitrés		
1940 - 1950	Phytohormones		Organo-chlorés Organo-phosphorés
1950 - 1960	Triazines, Urées substituées Carbamates	Dithiocarbamates Phtalimides	Carbamates
1960-1970	Dipyridyles, Toluidines...	Benzimidazoles	
1970 - 1980	Amino-phosphonates Propionates...	Triazoles Dicarboximides Amides, Phosphites Morholines	Pyréthrinoïdes Benzoyl-urées (régulateurs de croissance)
1980 - 1990	Sulfonyl urées...		
1990 - 2000		Phénylpyrroles Strobilurines	

I.1.2 Définition des pesticides

Le terme « pesticide » est un mot emprunté à la langue anglaise. Il est composé de «pest» qui signifie «insecte nuisible » et de «cide» qui provient du latin «caedere» qui signifie «tuer ». Selon la Food and Agriculture organization (FAO) et l' Union des Industries de la Protection des Plantes (UIPP), les pesticides ou produits phytosanitaires sont des substances naturelles ou synthétiques ou des associations de substances qui sont utilisées en agriculture pour contrôler ou combattre les insectes ravageurs, les maladies causées par des champignons et/ou les adventices concurrentes. Les pesticides rassemblent deux catégories de produits qui sont les produits phytosanitaires (produits phytopharmaceutiques) et les biocides (**Desgranges, 2015**). En général, les produits phytosanitaires représentent les pesticides à usage agricole et les biocides représentent les pesticides à usage non agricole (**Pflieger, 2009; Desgranges, 2015**).

I.1.3 Classification des pesticides

De façon générale, les pesticides sont classés par grande famille selon deux principaux critères qui sont la cible et le groupe chimique. Selon la cible, on distingue 3 grandes familles qui sont:

- les insecticides qui sont destinés à détruire les insectes ravageurs des cultures,
- les fongicides destinés à lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent des dommages aux végétaux cultivés; ils combattent la prolifération des champignons pathogènes (**Ayad, 2012**),
- les herbicides destinés à éliminer les adventices concurrentes des cultures.

Selon la cible, on distingue un très grand nombre de familles, les principales sont citées dans le **Tableau 2**.

Tableau 2: Classification des pesticides selon leur cible (**Zazou, 2015**)

Type de pesticides	Cibles
Les herbicides	Pour lutter contre “les mauvaises herbes“
Les fongicides	Pour détruire les champignons
Les insecticides	Pour tuer les insectes
Les corvicides	Contre les oiseaux
Les rodenticides	Pour lutter contre les taupes et les rongeurs
Les molluscicides	Contre les limaces
Les nématicides	Contre les nématodes (petits vers)

I.1.4 Formulation des pesticides

La formulation est la forme sous laquelle un pesticide est vendu pour son utilisation. Les pesticides sont disponibles en plusieurs formulations (**Tableau 3**). Plusieurs composés entrent dans la fabrication des pesticides. Parmi ces composés, il y a la ou les matière (s) active (s) qui est ou sont associée(s) aux adjuvants ou aux co-formulants (**Ndao, 2008**) et le diluant. Les pesticides sont disponibles en plusieurs formulations (liquides, gazeux ou solides).

Tableau 3: Principaux codes internationaux et formulations correspondantes (**Batsch, 2011**)

Code internationale	Type de formulation
D	Poussière ou poudre
DF	Pâte granulée
E ou EC	Concentré émulsifiable
F	Suspension concentrée
GR	Granulé
P	Pastilles
SN	Solution
sc	Concentré pulvérisable
SP	Poudre soluble
WDG	Granulé soluble
WP	Poudre mouillable
WS	Concentré soluble dans l'eau

I.1.4.1 Matière active

La matière active (principe actif) est la molécule chimique qui est responsable de l'action du pesticide (**Fishel, 2014**).

I.1.4.2 Diluant

Un diluant est un composé incorporé qui est destiné à abaisser la concentration de la molécule active. Ce sont le plus souvent des huiles végétales dans le cas des liquides, de l'argile ou du talc dans le cas des solides (**Ayad, 2012**).

I.1.4.3 Adjuvants

Les adjuvants facilitent l'action du pesticide en améliorant l'efficacité des propriétés chimiques de la matière organique de ce dernier. Les adjuvants contribuent également à la sécurité, à la manipulation et au stockage des pesticides. Ils sont essentiellement les solvants, les agents dispersants, les émulateurs, les tensio-actifs, les stabilisants, les antimousses et les colorants, etc. (**Fishel, 2016**).

I.1.5 Mode d'action des pesticides

Les insecticides interviennent sur les fonctions vitales de l'insecte en agissant sur la transmission de l'influx nerveux, la respiration et sur la reproduction des insectes. Les herbicides agissent en inhibant la photosynthèse ou les réactions enzymatiques impliquées dans la synthèse des lipides et des acides aminés chez les mauvaises herbes. Les fongicides agissent en affectant la respiration et la division cellulaire en inhibant la biosynthèse des acides aminés et des stéroïdes (**Ayad, 2012**).

I.2 Culture maraîchère et pesticides

L'agriculture maraîchère est la production intensive des légumes. Elle est une source importante de revenus pour plusieurs familles et participe ainsi à la lutte contre la pauvreté (**Diop, 2013**). Elle contribue également au ravitaillement des villes en légumes et assure ainsi la sécurité alimentaire. Les maraîchers en Côte d'Ivoire couvraient environ 80 % de la consommation nationale, soit une consommation annuelle de 920 000 t de produits maraîchers en 2018 (pomme de terre non compris) (**De Bon et al., 2018**). L'agriculture urbaine est une composante de l'agriculture maraîchère. L'urbanisation rapide des villes a favorisé l'essor de cette agriculture qui utilise de plus en plus d'énormes quantités de pesticides chimiques pour améliorer la production légumière (**Tano et al., 2011**). Les maraîchers utilisent quasi-exclusivement de l'engrais minéral et les pesticides sur leurs exploitations. Cette utilisation de pesticide chimique constitue une énorme source de pollution de l'environnement et un problème pour la santé de la population (**Son et al, 2018**). A cause du manque sévère de données fiables et quasi-inexistantes sur l'utilisation des pesticides en maraîchage urbain en Côte d'Ivoire, il est difficile de connaître et d'évaluer les quantités exactes de pesticides utilisées en agriculture en général et particulièrement en culture maraîchère. Cependant, pour la période de 1988 à 1992, il a été estimé entre 5000 et 6000 tonnes/an (**Fleischer, 1998**).

I.3 Importance de l'utilisation des pesticides

I.3.1 Importance sur l'économie

Les pesticides constituent un très grand marché lucratif. Le commerce des pesticides dans le monde s'élevait à environ 44 015 millions de dollars (soit 32 130 millions d'euros) en 2011 (UIPP, 2013). L'Europe est en tête de liste avec 12 196 millions de dollars (soit 9 109 millions d'euros) rapportés par l'industrie phytosanitaire suivie de l'Asie avec 11 607 millions de dollars (soit 8 671 millions d'euros) engrangés. L'Amérique Latine a quant à elle recueilli 10 060 millions de dollars (soit 7 515 millions d'euros). L'Afrique a engrangé 1 740 millions de dollars (soit 1 300 millions d'euros) de chiffre d'affaires en 2011 (Figure 1).

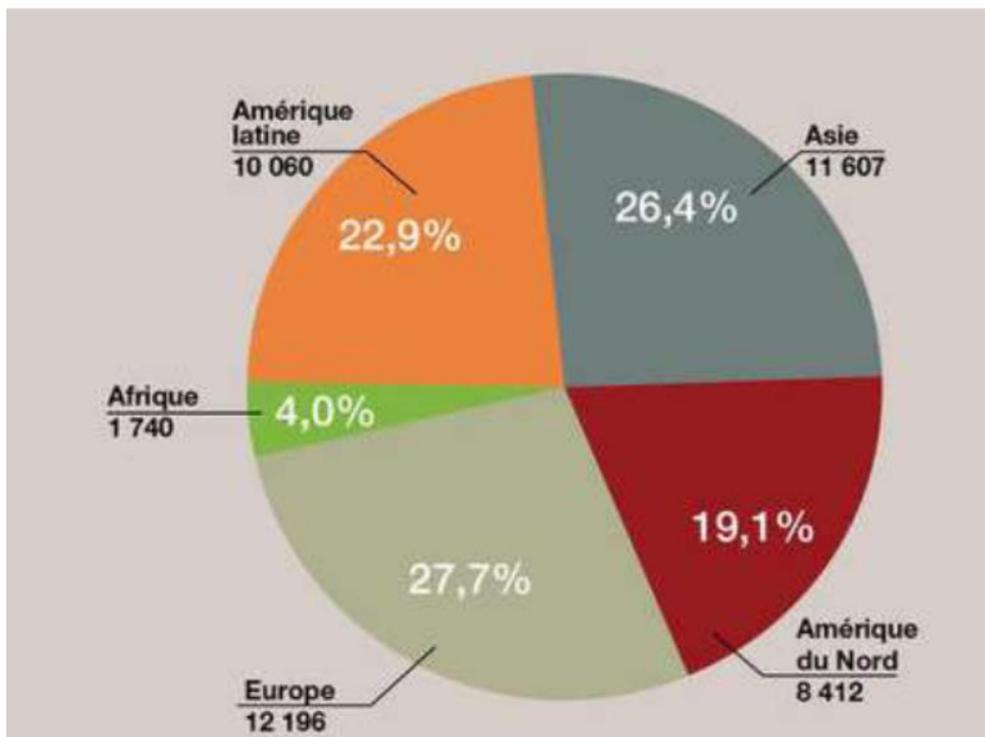


Figure 1: Répartition du chiffre d'affaire des pesticides dans le monde en 2011 (Union des Industries de la Protection des Plantes (UIPP), 2013)

I.3.2 Importance sur le rendement

Les pesticides procurent des avantages énormes car permettent d'améliorer efficacement les rendements des cultures. La non-utilisation des pesticides en agriculture entraîne d'énormes pertes économiques. En effet, les ravageurs de culture, les maladies des plantes et les adventices concurrentes entraînent la perte de 40 % de la production agricole lorsque les pesticides ne sont

pas utilisés (Isra et al., 2016). Les pesticides ont donc permis d'améliorer et de maintenir la productivité (Monard, 2008). Dès lors, il s'en suit une amélioration des revenus des agriculteurs; ce qui engendre nécessairement une meilleure qualité de vie (amélioration du niveau d'éducation et de la santé) (Aktar et al., 2008). Les pesticides ont amélioré la longévité ainsi que la qualité de la vie surtout dans le domaine de la santé publique, l'utilisation des insecticides a permis d'éradiquer des vecteurs de maladies (Hussaini et al, 2013). En effet, l'OMS estime que le Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) a sauvé 25 millions de vies humaines du paludisme. Les pesticides ont contribué également à la prévention des vecteurs de maladie telle la dengue. En effet, la lutte contre les maladies à transmission vectorielle repose majoritairement sur l'utilisation des insecticides (OMS, 2011).

I.3.3 Utilisation des pesticides en Côte d'Ivoire

La Côte d'Ivoire est un pays dont l'économie est basée sur l'agriculture. Dans le cadre du Programme de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest (PPAAO), Il est prévu l'amélioration et l'accroissement de la productivité agricole, ce qui est en lien avec l'utilisation des pesticides (Ministère de l'agriculture et du développement rural, 2018). Cette utilisation de pesticide s'est accentuée avec les cultures d'exportation (Ministère de l'agriculture et du développement rural, 2009). Afin d'atteindre la sécurité alimentaire, la production vivrière occupe une place importante et est un grand consommateur de pesticides chimiques. La filière pesticide présente un enjeu important en Côte d'Ivoire du fait que son économie soit basée sur l'agriculture. En effet, le développement et la réussite des cultures d'exportation (Cacao, café, coton, hévéa, palmier à huile, anacarde, etc.) ont été accompagnés par un usage intensif de pesticide. Le secteur phytosanitaire est dominé par les insecticides. Il a été commercialisé 13.300 tonnes de pesticides par an, et cette quantité ne tenant pas compte des importations clandestines, qui pourraient représenter 40 % du marché (Periquet et al., 2004). Les proportions de pesticides utilisés en agriculture sont de 17 % pour le coton, 15 % pour la banane et l'ananas, le cacao représente (10 %), les légumes (10 %) et le riz (6 %) (Periquet et al., 2004). De 2002 à 2013, les valeurs des importations de pesticides en Côte d'Ivoire étaient de l'ordre de 400 millions \$ US (Diarra, 2015). Les proportions de pesticides utilisés par culture sont consignées dans le **tableau 4**.

Tableau 4: Proportion de pesticides utilisés par cultures en Côte d'Ivoire (**Periquet et al., 2004**)

Proportions de pesticides utilisés (%)	
Coton	17
Banane et ananas	15
Cacao	10
Légumes	10
Riz	6
Autres	42

Les statistiques fiables sur la consommation et les importations de pesticides en Côte d'Ivoire ne sont pas disponibles car les données sur l'utilisation des pesticides, la production et les importations ne sont pas systématiquement collectées (**Diarra, 2015**). Ainsi très peu d'informations statistiques sont disponibles sur l'utilisation des pesticides en culture maraîchère, ce qui conduit à un manque sévère de données sur les importations, sur l'utilisation et les consommations de pesticide en culture maraîchère.

I.4 Effets des pesticides sur la santé et l'environnement

I.4.1 Impacts des pesticides sur l'environnement

L'inquiétude que suscite les pesticides par rapport à leur toxicité se justifie par leur omniprésence dans tous les compartiments de l'environnement. Moins de 0,1 % des pesticides appliqués pour la lutte contre les nuisibles atteignent leurs parasites cibles. Ainsi, plus de 99,9 % des pesticides utilisés se retrouvent dans l'environnement où ils contaminent le sol, l'eau et toute l'atmosphère de l'écosystème (**Pimentel, 1995**). La quasi-totalité des pesticides appliqués se disperse donc dans les 3 compartiments de l'environnement (eau, air, sol).

I.4.2 Eaux

Plusieurs travaux scientifiques font état de la pollution des eaux par les pesticides. Les eaux sont les principaux vecteurs de collecte des excédents de pesticides, ainsi, les principaux points d'eau ou cours d'eau peuvent être pollués avec un effet d'entraînement au niveau de la nappe phréatique et de toute la chaîne trophique (**Ministère de l'agriculture et du développement rural, 2018**). La présence des pesticides en tant que polluants organiques dans les eaux superficielles et souterraines constitue un problème récurrent dans le monde. La toxicité de ces molécules ne se limite pas à leur seule cible, plusieurs travaux ont montré la présence des résidus de pesticide dans les eaux souterraines et superficielles (**Murati, 2012**), ce qui est inquiétant puisque l'eau de boisson provient des nappes (**Czernichowski-Lauriol et al., 1999**).

I.4.3 Faune

En raison du manque de spécificité de certains pesticides pour leur cible, les animaux peuvent être affectés. L'utilisation des pesticides entraîne une destruction de la population des insectes pollinisateurs comme les abeilles (**FAO, 2014 ; Sponsler et al., 2019**). Les oiseaux et les autres insectes sont également affectés ainsi que les amphibiens (crapauds et grenouilles) (**Saha, 2012 ; Gibbons et al., 2015**). Les eaux polluées par les pesticides deviennent impropres et dangereuses, aussi bien pour la faune terrestre, sauvage et domestique, que pour la faune aquatique. Ainsi, l'emploi des pesticides peut provoquer un risque élevé pour les communautés d'espèces aquatiques par la mortalité des poissons, des mollusques, des petits crustacés, des algues et des plantes aquatiques (**Aissaoui, 2013**). De nombreuses études de toxicité ont mis en évidence les effets des pesticides sur les fonctions physiologiques, la croissance, la reproduction et l'état de santé des vers de terre (**Kpan et al., 2017 ; Kpan et al., 2018 ; Kumar et al., 2018**).

I.4.4 Sol

Le sol est le receptacle des pesticides utilisés (**Murati, 2012**). L'ampleur de l'utilisation des pesticides entraîne des résidus dans le sol (**Soulé et al., 2010**). La pollution des sols par usage abusif des pesticides contribue à l'élimination aussi bien des insectes nuisibles que des microorganismes contenus dans les sols. L'usage massif des pesticides favorise la salinisation des sols et donc leur pollution (**Murati, 2012**).

Les externalités négatives liées à l'utilisation des pesticides sont énormes. Les pesticides affectent:

- la faune, la flore sauvage et la diversité des espèces
- les espèces d'oiseaux, les papillons, les abeilles et les auxiliaires

- les mammifères
- les amphibiens et les espèces aquatiques

Ils diminuent la fertilité des sols et entraînent la perte des espèces végétales, ce qui conduit donc à un déclin substantiel des espèces (**Isenring, 2010**).

I.4.5 Air

Dans l'atmosphère, les pesticides se retrouvent sous la phase gazeuse. La volatilisation est un processus physico-chimique par lequel un composé est transféré de la phase solide ou liquide vers la phase gazeuse. La volatilisation peut représenter une voie de dissipation majeure pour les pesticides appliqués aux sols ou aux cultures, représentant jusqu'à 90 % de la dose d'application dans certains cas, devenant ainsi une voie importante de contamination de l'environnement. La volatilisation résulte souvent d'une évaporation depuis la phase liquide, ou bien d'une sublimation depuis la phase solide. Ce phénomène caractérise donc le transfert des pesticides à partir du sol ou des plantes dans les phases gazeuses (**Bedos et al., 2002**). La constante de Henry permet d'évaluer la tendance d'un produit à se volatiliser, ainsi, plus sa valeur est élevée, plus le produit aura tendance à se volatiliser. Les principaux facteurs affectant le processus de volatilisation sont les caractéristiques physico-chimiques de la molécule chimique, les conditions environnementales (température, humidité du sol, nature du sol ou de la culture) et l'environnement et la culture (**Cherif and Wortham, 1997 ; Van der Berg et al., 1999**).

I.4.6 Impacts sur la santé humaine

L'estimation des effets à court et long terme a permis de montrer qu'il existe un risque pour la santé de la population. Celle-ci est exposée aux pesticides au travers des résidus qui se trouvent dans les denrées alimentaires. Le vecteur alimentaire constitue l'essentiel de l'exposition de la population (**Periquet et al., 2004**). De par leur propriété lipophile, les pesticides présentent des dangers pour l'environnement et l'homme car entrent dans la chaîne alimentaire et finissent à terme par menacer la santé humaine (**Martin, 2011**). Plusieurs pathologies sont directement associées aux pesticides à long terme. Ce sont notamment les cancers, les stérilités, les malformations congénitales, les déficiences mentales, les troubles neurologiques, etc. (**Cissé et al., 2003 ; Hussaini et al., 2013 ; Akpo et al., 2016**). Il a également été établi un lien pesticide-maladie de Parkinson. En effet, d'après une étude d'**Ascherio et al. (2006)**, l'exposition aux pesticides augmenterait le risque de Parkinson de 70 %.

I.4.7 Impacts sur les microorganismes

L'utilisation croissante des pesticides est toxique pour les bactéries. Ces bactéries sont connues pour leur rôle dans la minéralisation de la matière organique qui est nécessaire à l'assimilation des éléments carbone, azote et potassium utiles à la croissance des plantes (**Saha et al., 2012**). L'utilisation des pesticides entraîne le déclin de la population bactérienne du sol et donc une perte de la biodiversité.

I.5 Devenir des pesticides dans l'environnement

Après épandage, les pesticides peuvent être absorbés par les plantes et les organismes du sol ; leurs molécules actives peuvent se volatiliser, ruisseler ou être lessivées et même rester dans le sol. La plus grande partie des quantités de pesticide utilisé atteint le sol (**Pimentel, 1995**). Le sol est essentiel dans la circulation des pesticides dans l'environnement car c'est le réceptacle final des pesticides. Le sol joue un rôle de stockage et d'épurateur (**Barriuso et al., 1996**). Lors du traitement, la fraction des pesticides qui n'est pas interceptée par la plante subit différents processus influençant leur transport (adsorption, volatilisation, lixiviation) et leur persistance (transformations biotiques et abiotiques) (**Carles, 2016**). Le devenir des pesticides est lié à la propriété physico-chimique de la molécule, à la propriété de l'élément récepteur (sol) et aux conditions climatiques (**Barriuso et al., 1996**).

De façon générale, le transfert des pesticides entre les différents compartiments de l'environnement (eau, sol, air) dépend des propriétés du composé (solubilité, pression de vapeur, etc.) et celles du milieu récepteur (température, structure, humidité, etc.) (**Guigon-Moreau, 2006**). Les processus comme la dégradation biologique et chimique, les phénomènes de sorption et désorption, la volatilisation, le ruissellement, le lessivage, et l'absorption par les plantes sont à la base de la transformation, du déplacement ou de l'élimination du pesticide de l'environnement. Ce sont ces voies sus-citées qui sont responsables de la contamination des autres compartiments de l'environnement. Les différents processus impliqués dans le devenir des pesticides dans l'environnement sont décrits dans la **figure 2**.

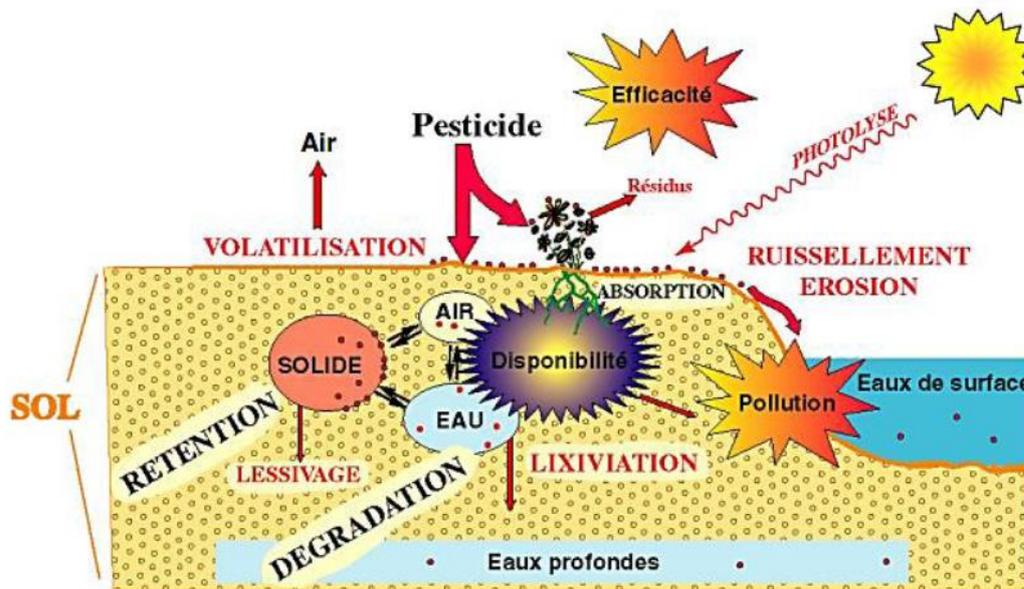


Figure 2: Processus et voies de dispersion des pesticides dans l'environnement (Changey, 2011)

I.5.1 Processus abiotiques

Les transformations abiotiques des pesticides chimiques sont uniquement dues à des processus physiques et chimiques, dans lesquelles il n'y a aucune intervention de microorganismes. Les principales voies de dispersion des pesticides à partir du sol sont basées sur la volatilisation, la lixiviation, la rétention, le ruissellement et la photodégradation (Barriuso et al., 1996; Diop, 2013; Queyrel, 2014).

I.5.2 Processus biotiques

I.5.2.1 Biodégradation par les microorganismes

Les traitements répétés d'un sol avec un pesticide entraînent l'émergence d'une microflore dégradante adaptée. La biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement. Elle est assurée par les bactéries et les champignons du sol (Guermouche, 2014). C'est la transformation du pesticide avec formation de métabolites. Les phénomènes impliqués dans la transformation du polluant dans le sol peuvent être abiotiques et biologiques. Les différentes transformations abiotiques et biologiques que subissent les pesticides dans l'environnement sont l'oxydation, la réduction, l'hydrolyse, etc. Toutes ces réactions sont catalysées par les systèmes enzymatiques endo et exocellulaires des microorganismes (Guigon-Moreau, 2006). De nombreuses réactions enzymatiques sont impliquées dans le processus de biodégradation qui comporte une phase de fonctionnalisation

et de conjugaison (Diop, 2013) (Figure 3). La phase de fonctionnalisation correspondant à des réactions d'hydrolyse, d'oxydation et de réduction tandis que la conjugaison correspond à des réactions avec des constituants cellulaires catalysées par des enzymes et conduisant à la formation de métabolites (Diop, 2013).

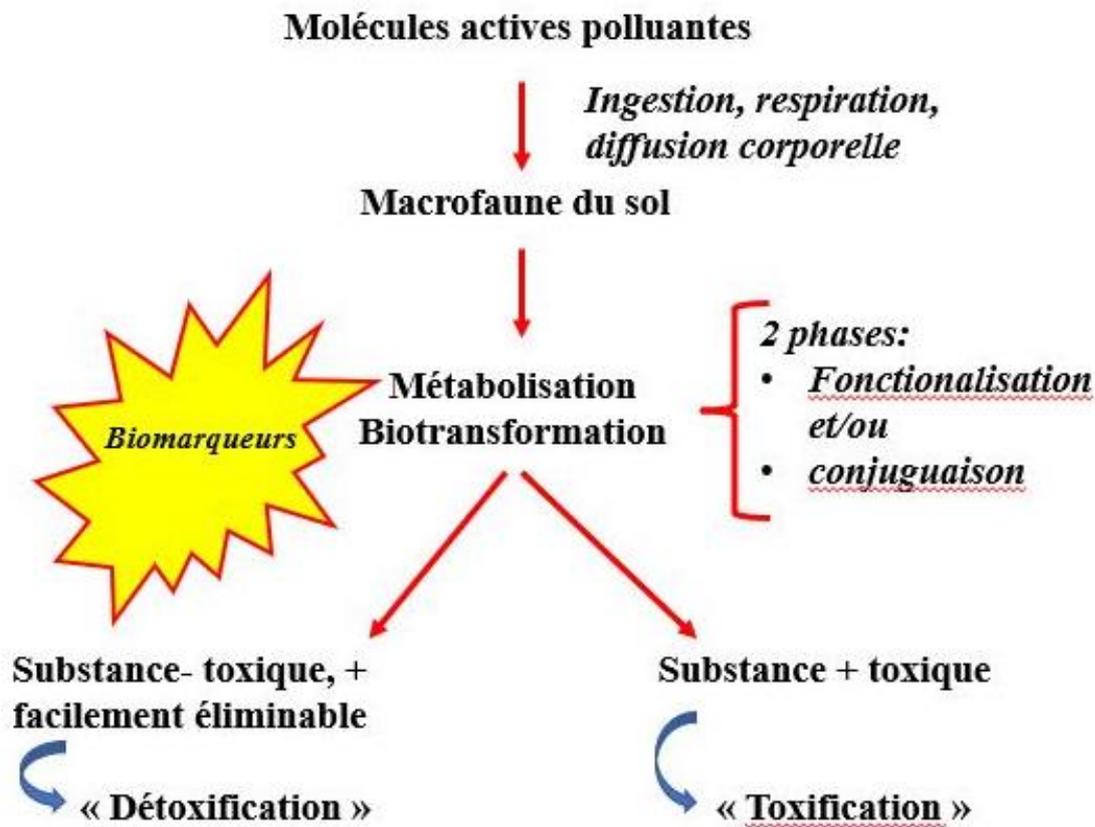


Figure 3: Processus de métabolisation des molécules actives des pesticides (Diop, 2013)

La dégradation peut aboutir à une minéralisation complète du pesticide avec transformation du carbone organique en CO₂ (Barriuso et al., 1996). La dégradation et la rétention sont en étroite relation car la rétention diminue l'accessibilité des composés aux microorganismes du sol, réduisant ainsi leur dégradabilité (Schrack et al., 2009). Plusieurs mécanismes sont mis en œuvre lors de la dégradation des pesticides par la flore microbienne du sol. Ce sont :

- **Le métabolisme direct**

Dans ce mécanisme, les pesticides constituent la source d'énergie de carbone et d'azote utilisable pour la croissance des bactéries (Guigon-moreau, 2006).

- **Le co-métabolisme**

A cette étape, les microorganismes font une transformation chimique des pesticides mais ne l'utilisent pas comme source d'énergie, de carbone et d'azote (Guigon-Moreau, 2006).

- La conjugaison

Ce sont des réactions chimiques catalysées par des enzymes. La glutathion-S-transférase est l'enzyme qui catalyse ces réactions de conjugaison et qui joue un rôle très important dans la détoxification du milieu récepteur (**Guigon-Moreau, 2006**).

- L'accumulation

C'est la capacité de la flore microbienne à stocker les pesticides et leurs métabolites.

I-6 Etat des lieux du glyphosate et de la cyperméthrine

La contamination des sols de culture par les pesticides représente une menace pour l'environnement tout entier. Les activités anthropiques représentent l'une des premières causes de cette contamination. Les familles chimiques d'herbicides et d'insecticides les plus rencontrées en agriculture sont les aminophosphonates et les pyréthrinoïdes auxquelles appartiennent le glyphosate et la cyperméthrine. Le glyphosate est l'herbicide le plus utilisé dans le monde (**Pollegioni et al., 2011 ; Zhan et al., 2018**). La cyperméthrine est un insecticide largement utilisé en maraîchage pour lutter contre les insectes et les chenilles défoliatrices. Le glyphosate et la cyperméthrine sont une préoccupation croissante à tous les niveaux à cause de leur utilisation excessive qui pourrait avoir des effets cumulatifs potentiellement toxiques.

I.6.1 Glyphosate

De nombreuses études mettent en doute le caractère non toxique du glyphosate (**Travaglia et al., 2015**). Ainsi, ces dernières années, plusieurs travaux scientifiques ont établi une relation entre exposition au glyphosate et certains types de cancers. Les résultats de l'étude de **Marc (2004)** ont montré que le glyphosate affecte la division cellulaire, perturbe l'activité de synthèse de l'ADN et le mécanisme de développement embryonnaire, ce qui est un signe potentiel de carcinogénicité. Quand bien même que le glyphosate a peu d'impacts sur les animaux, il entraîne une diminution des populations de certains oiseaux en détruisant leur habitat. Les poissons, les invertébrés, les batraciens et les microorganismes du sol sont sensibles au glyphosate (**Langiano and Martinez, 2008 ; Kpan et al., 2017 ; Zhou et al., 2013**). Les résultats de recherche sur le glyphosate sont très contrastés. Alors, il faudrait appliquer le principe de précaution concernant les effets toxicologiques de cette molécule. Le glyphosate semble être non toxique pour les mammifères et les oiseaux à cause de ce que la voie de l'acide shikimique absente chez les animaux ne se trouve que dans la plante et les microorganismes. Des études d'impacts environnementaux ont montré que le glyphosate a peu d'effets sur l'environnement, mais il ne faut pas oublier de considérer son principal métabolite, l'acide

amino-méthyl-phosphonique (AMPA) qui lui est persistant et a une capacité de migration plus élevée (Boschetto, 2013). Tron *et al.* (2001) ont montré la contamination des eaux par le glyphosate et l'AMPA à des concentrations supérieures à la valeur seuil de 0,1µg/L. Une autre étude a mentionné que le glyphosate et son métabolite l'AMPA figurent parmi les pesticides les plus détectés dans les eaux souterraines et dans les eaux de surface, ce qui pose un véritable problème de qualité de l'eau (Ndjeri, 2012). Une étude réalisée sur les quantités de glyphosate dans les urines des agriculteurs a révélé que 70 % d'entre eux avaient une urine contaminée par le glyphosate (Acquavella *et al.*, 2004). Une fois dans l'environnement, le glyphosate et l'AMPA ne s'accumulent pas dans les tissus, leur métabolisme dans l'organisme est limité et leur élimination est rapide et totale (Williams *et al.*, 2000). Le glyphosate est classé modérément toxique et son potentiel oncogénique a été retrouvé nul chez le rat et la souris (Williams *et al.*, 2000). Il fait partie des molécules de la catégorie 5 (substance pouvant être nocive en cas d'ingestion ou de contact avec la peau). Sa DL50 orale est supérieure à 4320 mg/Kg, 10000 mg/Kg et 3530 mg/Kg de poids corporel respectivement chez le rat, la chèvre et la souris (Henderson *et al.*, 2010). Les caractéristiques physico-chimiques et la structure chimique du glyphosate sont mentionnées dans la figure 4 et le tableau 5.

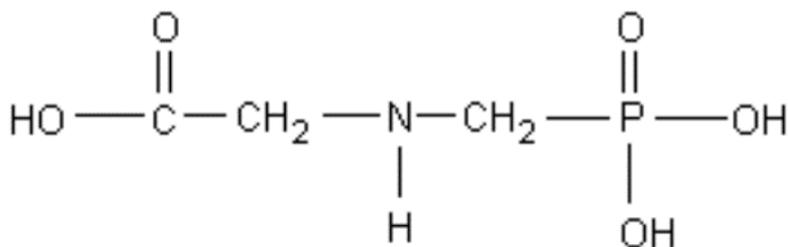


Figure 4: Structure chimique de la molécule du glyphosate (Ndjeri, 2012)

Tableau 5: Caractéristiques physico-chimiques du glyphosate (Ndjeri, 2012)

CARACTERISTIQUES	VALEURS
Nom chimique	N-(phosphonométhyl) glycine
Formule chimique	C ₃ H ₈ NO ₅ P
Famille chimique	Amino-phosphonates
Poids moléculaire	169,1 g/mol
Forme physique	Cristaux solides blancs
Tension de vapeur	13,1 µPa à 25°C
Point de fusion	200°C
Densité	1,74 mg/L
Constante d'Henry	4,27x 10 ⁻⁹ Pa m ³ mole ⁻¹ à 25°C
Stabilité dans l'eau	10,5 g/L à 20°C 11,6 g/L à 25°C
Coefficient de partage octanol/eau	Log P : -3,2 à 25°C

I.6.2 Cyperméthrine

Elle est largement utilisée dans tout le monde entier dans la culture du coton et des légumes (Pratibha and Himani, 2015). Selon l'OMS, la cyperméthrine est modérément dangereuse (Classe toxicologique II). La cyperméthrine est faiblement toxique chez les oiseaux exposés par voie orale et chez les mammifères (Kannahi and Radhika, 2014). La présence des signes de toxicité chez les mammifères est directement corrélée à la dose et la voie d'exposition. Les valeurs des concentrations en composé provoquant la mort de 50 % d'une population d'étude (DL50) peuvent varier selon la nature du solvant (aqueux ou lipophile) utilisé pour dissoudre la molécule (Willemin, 2014). La cyperméthrine est très toxique chez les poissons, les

invertébrés aquatiques (**Majid et al., 2012 ; Akbar et al., 2014**), et chez les abeilles. La reproduction du saumon, du poisson arc-en-ciel et du crapet arlequin peut être également affectée. En plus des poissons qui sont affectés par la cyperméthrine, les amphibiens, les lombrics peuvent aussi subir les effets nuisibles d'une exposition à long terme (**Hénault-Ethier, 2015**). Une étude réalisée chez les rats a montré des signes de toxicité modérée comme une alternance de repos, des grattements et des légères secousses du corps. Aucun signe de toxicité caractéristique d'une forte exposition aux pyréthrinoïdes comme l'hyper-salivation et le tremblement du corps entier n'a été observé (**Willemin, 2014**). Dans les eaux de surface, la cyperméthrine figure parmi les molécules devant être surveillées (**INERIS, 2016**) à cause de leur caractère lipophile entraînant leur accumulation dans les organes, en particulier les graisses, la peau et les muscles (**Willemin, 2014**). Dans les sols et sédiments, plusieurs travaux font état de la présence de la cyperméthrine (**Hintzen et al., 2009 ; Weston et al., 2009**). Chez l'homme, lors des expositions telles que la vaporisation des cultures, l'utilisation accidentelle ou volontaire, des picotements, des brûlures, des convulsions et même des comas ont été signalés (**Willemin, 2014**). Des observations sur les perturbations de l'expression de certains gènes reliés à la synthèse de la testostérone ont été mentionnées ainsi qu'une diminution de la fertilité chez les mâles exposés à la plus forte dose en cyperméthrine (**Willemin, 2014**). Des études menées par **Hénault-Ethier (2015)** ont montré les effets potentiellement nuisibles de la cyperméthrine sur la fertilité humaine comme des modifications du système reproducteur mâle, une baisse du nombre de spermatozoïdes et de leur mobilité ainsi que des dommages sur l'ADN ; ce qui a conduit à une baisse de la fertilité et donc du taux de grossesse. Cet auteur a montré également que la cyperméthrine perturbe le système endocrinien en diminuant les concentrations de testostérone. De nombreux travaux dont ceux de **Willemin (2014)** ont mentionné que la cyperméthrine n'a aucun effet carcinogène chronique. Cependant, elle est de type II et est classée comme cancérigène probable pour l'homme (**Tallur et al., 2007 ; Akbar et al., 2014**). Selon l'Agence de protection de l'environnement des Etats Unis (EPA US), la cyperméthrine est une substance très toxique pour tous les organismes et classée dans la première catégorie de toxicité (**Bouya et al., 2012**).

Plusieurs paramètres permettent d'évaluer la toxicité d'un pesticide. Ce sont la dose létale provoquant la mort de 50 % d'un lot d'animaux (DL50), la dose journalière acceptable (DJA) qui correspond à la quantité de produit pouvant être absorbée quotidiennement par l'homme au cours de sa vie sans apparition d'effets secondaires et les concentrations létales 50 (CL50) (**Errami, 2012**). La DL50 orale de la cyperméthrine sur le rat varie entre 160 et 300 mg.kg⁻¹

poids vif (**Abotchi, 1994**). La DJA pour l'homme est $0,005 \text{ mg.kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$. Les concentrations létales (CL50) sont indiquées comme suit :

- CL(50) poissons: $5 \times 10^{-4} \text{ mg.L}^{-1}$
- CL(50) daphnies: $3 \times 10^{-4} \text{ mg.L}^{-1}$
- CL(50) algues: $> 0,1 \text{ mg.L}^{-1}$

En résumé, la cyperméthrine est une molécule pouvant présenter une toxicité selon la dose utilisée, étant donné qu'elle pourrait avoir une toxicité à l'immédiat plus importante que le DDT (dichlorodiphényltrichloroethane) qui est un pesticide rémanent et interdit (**Adamou et al., 2010**). Il conviendrait donc de surveiller leur utilisation et leur présence dans l'écosystème tout entier. Toutes les propriétés physicochimiques de la cyperméthrine sont mentionnées dans **la figure 5 et le tableau 6**.

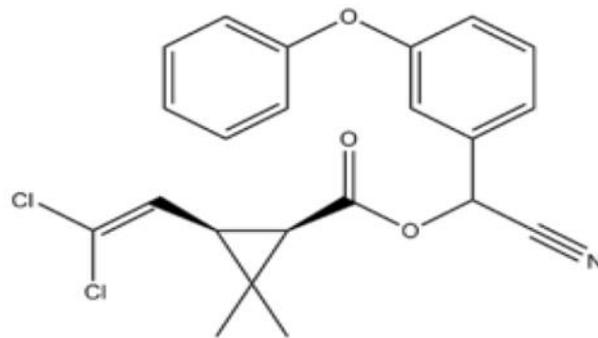


Figure 5: Structure chimique de la molécule de cyperméthrine (**Bouya et al., 2012**)

Tableau 6: Caractéristiques physico-chimiques de la cyperméthrine (Dousse, 2009)

CARACTERISTIQUES	VALEURS
Nom chimique (IUPAC)	le (RS).cyano-3-phenoxybenzyl (1 RS)-cis, trans-3-(2.2)dichlorovinyl-2,2 diméthylcyclopropane carboxylate
Formule chimique	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃
Famille chimique	Pyréthrianoïde de synthèse (insecticide)
Poids moléculaire	416,3 g
Forme physique (apparence)	Cristaux visqueux brun-jaune
Pression de vapeur	< 10 Pa à 20°C
Point de fusion	60- 80 °C
Densité relative	1,1
Constante d'Henry	2.10 ⁻² Pa.m ³ .mol ⁻¹ (non volatile)
Solubilité dans l'eau	4 à 10 µg/L (très peu soluble dans l'eau)
Coefficient de partage octanol/eau	4,47 à 6,60 (très liposoluble)

I.7 Devenir du glyphosate et de la cyperméthrine

1.7.1 Devenir du glyphosate

La dégradation du glyphosate est principalement microbienne car sa liaison C-P a une forte résistance à la dégradation chimique (Arraj, 2015). Le phénomène de la biodégradation du glyphosate se fait selon un processus de co-métabolisme. Il semble être sur deux voies (Figure 6). Ainsi, dans la première voie, les microorganismes du sol vont scinder la liaison C-P et libérer le phosphate. Ce composé étant métabolisable par les cellules, il disparaîtra dans le métabolisme général sans laisser de trace (Rainaud, 2013). La deuxième voie est la plus fréquente et consiste en la dégradation du glyphosate par l'enzyme oxydase et/ou réductase. Ce phénomène conduit à la production de plusieurs métabolites dont la principale est l'acide amino-méthyl

phosphonique (AMPA) (Rainaud, 2013). La figure 6 présente les différentes voies de dégradation du glyphosate.

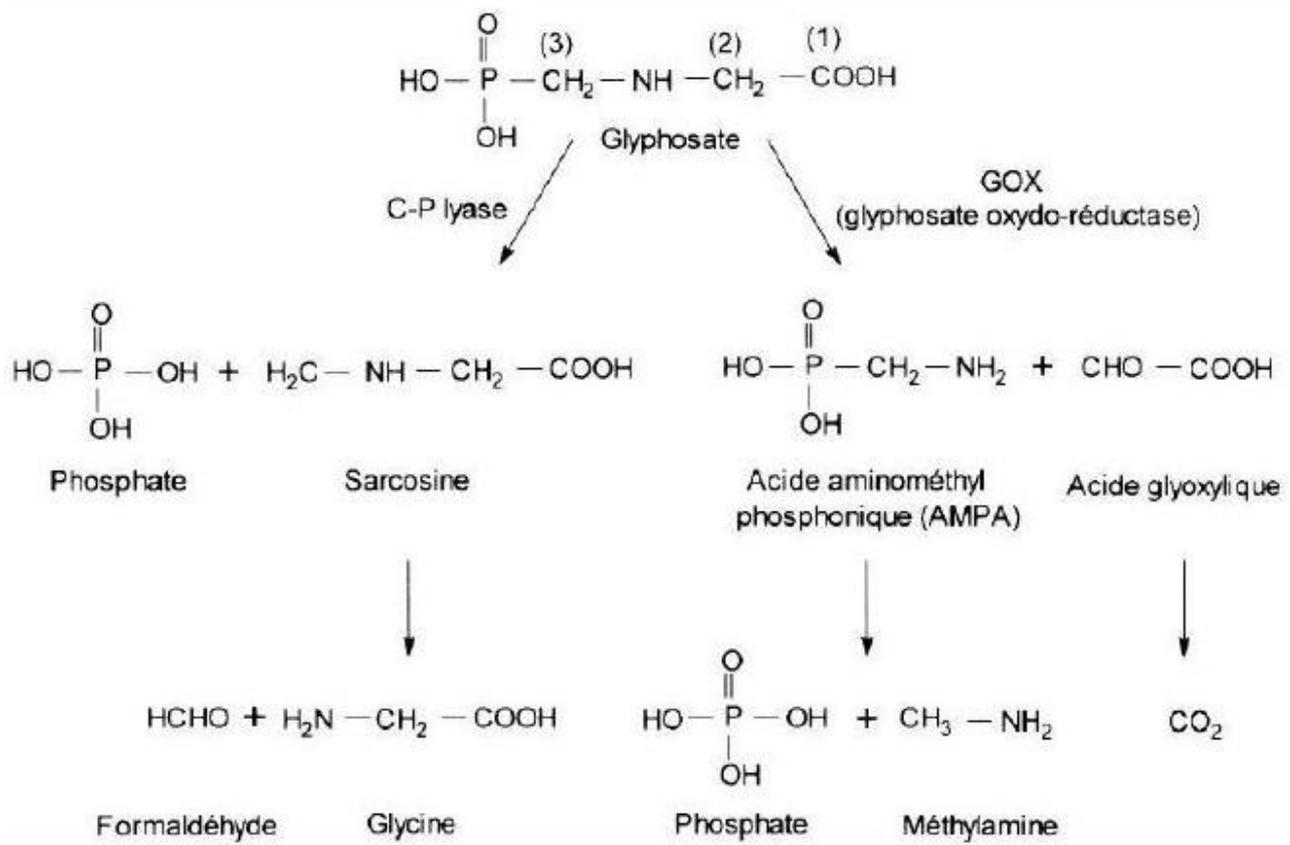


Figure 6 : Voies de dégradation du glyphosate dans le sol (Rainaud, 2013)

1.7.2 Devenir de la cyperméthrine

Une fois appliquée, La cyperméthrine va subir une dégradation d'origine microbienne (biodégradation), une dégradation chimique (hydrolyse et/ou oxydation) et une dégradation photochimique (photolyse) pour donner le plus souvent des métabolites moins toxiques. Il semble que la dégradation de la cyperméthrine soit essentiellement microbiologique (Richou-Bac and Venant, 1985). Plusieurs facteurs tels que la température, le pH, la présence d'oxygène et l'adsorption aux particules de sol ou de sédiments influencent le temps nécessaire à leur dégradation complète (Hénault-Ethier, 2015). Dans le cas de la cyperméthrine, les microorganismes co-métabolisent cette molécule (Majid et al., 2012). Dans le milieu naturel, l'hydrolyse de l'ester est la principale voie de dégradation et conduit à la formation d'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA) et de cyclopropanecarboxylique dérivés de l'acide (DCVA)

(Chen *et al.*, 2012 ; Akbar *et al.*, 2014) qui sont les principaux produits de dégradation de la cyperméthrine. **La figure 7** présente les différentes voies de dégradation de la cyperméthrine.

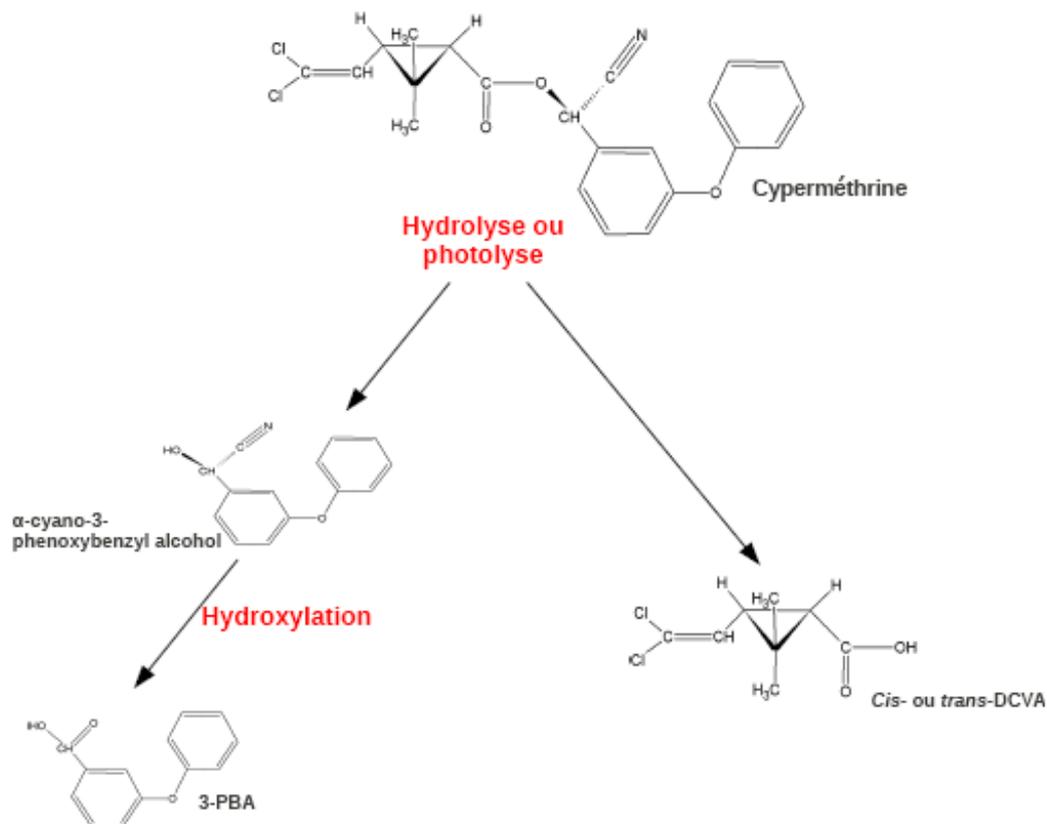


Figure 7: Voies de dégradation de la cyperméthrine dans l'environnement (Dousse, 2011)

I.8 Bactéries du sol

La microflore du sol est constituée par l'ensemble des bactéries, actinomycètes, champignons et algues. Le sol est un milieu favorable à la prolifération des microorganismes. Parmi les organismes vivant du sol, les bactéries sont ubiquitaires et très abondantes. Les bactéries édaphiques sont très diverses. Leur nombre dans le sol est estimé à 10^6 à 10^9 bactéries par gramme de sol (Artiola et Fuller, 1982). Les bactéries et les champignons sont les microorganismes les plus représentés dans les sols (Noumeur, 2008). La biodiversité microbienne du sol est constituée en plus des bactéries, des archées, des virus, des espèces fongiques et des algues unicellulaires. Les bactéries sont les organismes les plus abondants du sol. Elles représentent 25 % de la biomasse vivante. Les bactéries des sols sont difficilement quantifiables à cause des conditions environnementales et des incertitudes liées aux méthodes d'analyse. De nombreuses études montrent que les pressions d'origine anthropiques telles les pratiques culturales ayant recours aux intrants chimiques (pesticides, engrais) et organiques

(boues, lisier) causent des perturbations affectant l'abondance, la diversité et l'activité des populations microbiennes (**Changey, 2011**). L'utilisation de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp* dans la présente étude se justifie par la versalité métabolique et par l'immense capacité d'adaptation à des conditions hostiles de ces deux espèces bactériennes (**Marchadier, 2009 ; Scales et al., 2014**). *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp* ont plusieurs fois été utilisés comme agents de dégradation de nombreux polluants des sols. En effet, l'on peut citer la biodégradation des composés tels la cyperméthrine, la deltaméthrine au Burkina Faso (**Adamou et al., 2010**), le glyphosate en Indonésie (**Andriani et al., 2017**). De plus, ces deux espèces synthétisent de nombreuses enzymes extracellulaire qui leur permettent de rechercher des sources alternatives de carbone dans des conditions extrêmes (**Ongena, 2014 ; Coignet, 2014**).

I.8.1 Bactéries modèles utilisées dans l'étude

I.8.1.1 *Bacillus subtilis*

Le genre *Bacillus* regroupe en son sein des espèces pathogènes comme *Bacillus anthracis* responsable de la maladie du charbon et *Bacillus cereus* responsable d'intoxication alimentaire et d'autres espèces modèles comme *Bacillus thuringiensis* utilisé comme biopesticide (**Kumar et al., 2021**). Il abrite également des espèces saprophytes dont *Bacillus subtilis*. Depuis les années 20, *B. subtilis* a été utilisée comme un modèle d'étude de la sporulation (**Marchadier, 2009**). En effet *Bacillus subtilis* est considéré comme la bactérie modèle des bacilles Gram positif et aussi l'une des bactéries les plus étudiées et les mieux comprises (**Doan, 2003 ; Earl et al., 2007**). L'US Food and Drug Administration (USFDA) a confirmé que toutes les espèces du groupe, *Bacillus subtilis* sont non pathogènes à l'homme. A cause de sa non pathogénicité (**Gauvry, 2017 ; Bernard, 2007**), les manipulations de *B. subtilis* sont très aisées. C'est une espèce qui est largement utilisée comme biopesticide pour la protection des cultures agricoles.

❖ Importance de *Bacillus subtilis*

C'est une espèce bactérienne qui a un intérêt économique considérable. En effet, *B. subtilis* est un organisme de choix pour les applications industrielles car elle fait partie des bactéries modèles d'étude pour sa grande capacité de production d'enzymes (**Dijl et al., 2015**). L'industrie exploite donc ces microorganismes comme "usine biologique" pour la production de la riboflavine nécessaire à la synthèse d'enzymes, la production des protéases (détergents pour les lessives) et des amylases pour l'extraction des sucres "simples" de l'amidon de maïs ou d'autres plantes de grande culture (**Danchin et al., 1998 ; Avşar et al., 2017**). Ces espèces bactériennes produisent également les cellulases (**Ashe et al., 2014**) qui sont très importantes dans la transformation de la matière organique dans le sol. Plusieurs travaux scientifiques ont

investigé sur les capacités antimicrobiennes de *B. subtilis* et ont montré qu'elles produisent de nombreux antibiotiques polypeptidiques telles que la bacitracine et la polymixine (**Bushra et al., 2007 ; Amin et al., 2015**). *B. subtilis* possède également des propriétés antifongiques (**Lim et al., 2011**). En effet, une étude réalisée en Côte d'Ivoire a investigé sur les propriétés antifongiques de *B. subtilis* dans la lutte contre les germes d'altération de la mangue (**Alloue-Boraud et al., 2014**), d'autres ont montré l'implication et l'utilisation de *B. subtilis* dans la fermentation du cacao et de la pâte de manioc utilisée pour la fabrication de l'attiéké (**Ouattara et al., 2011 ; Yao et al., 2013 ; Ehon, 2017**). Dans une autre étude menée par **Touré et al. (2004)**, *Bacillus subtilis* a été utilisé comme antifongique contre la maladie (*Botrytis cinerea*) de l'ananas. *Bacillus subtilis* représente aussi une importante source d'enzymes commerciales (**Kwon et al., 2009**). Des études récentes ont montré et soutenu la sécurité de *B. subtilis* pour son utilisation comme probiotiques (**Sun et al., 2016 ; Lefèvre et al., 2017**). Outre les propriétés exceptionnelles de *B. subtilis*, de nombreux travaux scientifiques ont démontré sa capacité à dégrader les composés xénobiotiques (**Coelho et al., 2015**). En effet, plusieurs études dans le monde entier ont montré l'aptitude de cette espèce à dégrader toutes sortes de pesticides. En effet, les travaux de **Dibua et al. (2015)**, **Akbar et al. (2014 et 2015)** et ceux de **Yu et al. (2015)** ont montré l'aptitude de *Bacillus subtilis* à dégrader le glyphosate. D'autres études effectuées par **Chen et al. (2012)**, **Cycon et al. (2016)**, **Pankaj et al. (2016)** et **Huang et al. (2018)** ont montré la capacité de *Bacillus subtilis* à minéraliser la cyperméthrine et ses métabolites primaires. *Bacillus subtilis* s'est également montrée efficace à dégrader les molécules actives de pesticides telles l'endosulfan (**Kumar et al., 2013**), le profenofos (**Salunkhe et al., 2013**), le DDT (**Pant et al., 2013**), le monocrotophos (**Acharya et al., 2015**) qui appartiennent aux familles chimiques des organochlorés et organophosphorés. *Bacillus subtilis* a montré une efficacité dans l'élimination de l'aflatoxine qui est une mycotoxine produite par les moisissures du genre *Aspergillus* (**Galarza-Seeber et al., 2015**).

I.8.1.2 *Pseudomonas* sp.

Le genre *Pseudomonas* a été décrit à l'origine en 1894 par Migula. Les *Pseudomonas* sont des bactéries Gram négatif, droits et fins (0,5 à 1,3 µm de diamètre), aérobies stricts mais certaines espèces sont capables de se multiplier en conditions anaérobies. Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans l'eau, le sol, les végétaux et les tissus biologiques. Elles ont des exigences nutritives très modestes et se caractérisent par leur résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques (**Anses, 2010; Coignet, 2014; Fernandez et al., 2015; Tournus, 2016**).

Pseudomonas sp sont des agents pathogènes opportunistes graves. Les espèces peuvent présenter une résistance aux antimicrobiens (**Winsor et al., 2010**). *Pseudomonas sp* renferment des pathogènes importants capables d'infecter les plantes, les champignons, les animaux et les humains. Ces espèces pathogènes sont devenues de véritables problématiques en santé publique (**Locatelli et al., 2002**). *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce type du genre la mieux connue et la plus pertinente sur le plan clinique car représente 80 % des *Pseudomonas* isolés en bactériologie médicale (**Makaya, 2018**). Les *Pseudomonas* autres que *Aeruginosa* n'ont pas un pouvoir pathogène important, en effet, une étude sur les différents facteurs de virulence a montré que les facteurs de virulence étaient majoritairement présents chez l'espèce *aeruginosa* et absents chez les espèces *putida*, *fluorescens* et *stutzeri* (**Tayabali et al., 2015**).

❖ Importance de *Pseudomonas sp*.

Ces espèces sont métaboliquement polyvalentes et très hétérogènes d'un point de vue nutritionnel. Elles participent aux cycles du carbone et de l'azote. Plusieurs espèces sont connues en tant que rhizobactéries bénéfiques des plantes. Les *Pseudomonas sp*. incluent de nombreuses espèces qui ont un très grand intérêt environnemental, économique, agroalimentaire et médical. En effet, plusieurs espèces ont montré leur capacité à dégrader les hydrocarbures cycliques et linéaires des sols et des eaux (espèces *alcaligenes*, *putida* et *mendocina*) (**Scales et al., 2014**). Les bactéries du genre *Pseudomonas* ont une capacité remarquable à s'adapter et survivre dans de nombreux écosystèmes de caractéristiques différentes (**Coignet, 2014**). Ainsi, elles sont dotées d'une grande versatilité métabolique et d'une capacité d'adaptation aux conditions les plus hostiles du milieu, c'est le cas de *P. psychrophila* qui est capable de croître à des températures comprises entre -1°C et 35°C (**Yumoto et al., 2001**). *Pseudomonas sp*. présente un intérêt particulier en microbiologie médicale, alimentaire, aquatique et environnementale ainsi qu'en agronomie. Plusieurs souches de *Pseudomonas fluorescens* produisent une large gamme d'antibiotiques tels que le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), les rhamnolipides, l'oomycine A, la phenazine, la pyocyanine, la pyrrolnitrine, ou des lipopeptides cycliques (**Dwivedi et al., 2003 ; Faille, 2010**). Certaines espèces sont potentiellement utilisables en agriculture et pour l'assainissement des écosystèmes pollués par des composés xénobiotiques (**Meghdas et al., 2004**). En effet, Certaines espèces stimulent la croissance des plantes, réduisent les maladies causées par les phytopathogènes (bactéries, champignons, virus, nématodes), améliorent la défense de la plante et produisent des métabolites (sidérophores, antibiotiques, enzymes, phytohormones) utilisés en lutte biologique comme agent de biocontrôle et dans la dégradation des composés xénobiotiques (**Rai, 2017**).

Les études de **Anses (2010)** ont mentionné l'aptitude de *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, et *Pseudomonas stutzeri* à être agents dans la lutte biologique, la biofertilisation et dans la dégradation de nombreux polluants organiques et minéraux. Les *Pseudomonas sp.* sont donc capables d'augmenter considérablement le rendement des cultures et de participer à la croissance des plantes et à la protection des plantes contre les micro-organismes pathogènes (**Lebœuf et al., 2002**). Face à toutes les capacités et les nombreuses fonctions, plusieurs espèces de *Pseudomonas* sont utilisées dans les processus de décontamination, de biodépollution (des sols et des milieux aquatiques), de biorestauration et de biodégradation (**Wasi et al., 2013 ; Kupferschmied et al., 2013 ; Sanchez et al., 2014 ; Fathepure et al., 2014 ; Zhao et al., 2015 ; Tsirinirindravo et al., 2018**).

De nombreuses autres espèces du genre *Pseudomonas* sont reconnus pour leur résistance et leur survie en présence de plusieurs polluants organiques et inorganiques (**Sharma et al., 2006**). Ainsi, ils tolèrent les grandes quantités de métaux lourds (**Chien et al., 2013**), de cyanure (**Wibberg et al., 2014**), également les hydrocarbures et les composés aromatiques. Enfin, *Pseudomonas sp* comprend de nombreuses espèces d'intérêt environnemental, économique, agroalimentaire, et médical (**Tournus, 2016**).

I.9 Impact des pesticides sur les communautés bactériennes du sol

En général, les communautés bactériennes du sol sont fragilisées par l'application des pesticides. Une baisse de l'abondance des bactéries et de leur activité est constatée. Ainsi, plusieurs études ont mentionné la diminution et/ou l'augmentation de l'activité enzymatique des communautés bactériennes telluriques. En effet, les travaux de **Saha et al. (2012)**, **Leoz et al. (2013)** ; **Järvan et al. (2014)** ; **Rose et al. (2016)** ont montré une diminution de plusieurs activités enzymatiques des communautés microbiennes en parallèle avec la diminution des communautés bactériennes. Il s'agit des enzymes telles que la déshydrogénase, l'hydrolase, la glucosidase, la cellulase, l'uréase, etc. **Joly (2014)** et **Niemi et al. (2009)** ont montré que les activités enzymatiques des communautés bactériennes sont inhibées dans les sols soumis aux pesticides (**Niemi et al., 2009**). Dans certains cas, l'utilisation de certains pesticides affecte ou favorise le développement des organismes ou des populations sensibles non concernées par le pesticide. Aussi, la capacité de tolérance au polluant des communautés sensibles et la favorisation de la croissance d'une espèce bactérienne sensible peuvent être constatées (**Pesce, 2006**). A l'inverse, certains travaux scientifiques mentionnent, que l'effet des pesticides sur les communautés bactériennes est minime. En effet, les travaux de **Tejada (2009)** et **Tejada et al. (2011)** ont montré qu'il n'y avait pas d'effet du diflufenican, du glyphosate et du prochloraz

sur les activités enzymatiques du sol. Il ressort également des études de **White et al. (2010)**, que les communautés bactériennes ne sont sujettes à aucune variation de leur nombre face à l'application du chlorothalonyl, du tebuconazole, flutriafol, triazole et du cyproconazole.

Les théories sur les effets des pesticides sur les communautés bactériennes sont nuancées ; néanmoins, il ressort que les communautés bactériennes du sol sont significativement impactées par les pesticides. Compte tenu de ces résultats, une évaluation des risques de toxicité environnementale des pesticides, une gestion des risques liés à leur utilisation et une implémentation des méthodes biologiques de traitement de l'environnement sont nécessaires.

I.10 Plasticité génomique bactérienne

Les bactéries sont présentes dans presque tous les environnements terrestres, certaines bactéries peuvent survivre à des conditions extrêmes (chaleur, humidité, profondeur, radioactivité, etc.) ce qui témoigne de leur immense capacité d'adaptation. Le très haut niveau de plasticité du génome bactérien a donc favorisé l'acquisition des fonctions cataboliques leur permettant d'utiliser une grande variété de composés organiques (**Changey, 2011**). Les bactéries telluriques sont donc capables de dégrader presque tous les composés xénobiotiques étant donné la nature très dynamique de leur génome. En effet suite à une application régulière et/ou en grande concentration de différents polluants, les bactéries du sol acquièrent et/ou développent la capacité de les métaboliser et de les utiliser comme source nutritive dans un milieu où les nutriments sont rares (**Monard, 2008**). En réponse à de nouvelles conditions ou aux changements de leur environnement, les bactéries sont capables de s'adapter rapidement. La présence de composés xénobiotiques (pesticides, métaux lourds, hydrocarbure, antibiotique, etc.) dans le sol induit une réponse de la bactérie lui permettant de contrer l'effet de ces polluants en mettant en place des mécanismes qui lui permettent de dégrader ou de résister à ce polluant (**Bernard, 2007**). La capacité des bactéries à métaboliser les molécules sont dues à des gènes spécifiques dans leur patrimoine génétique. Ainsi les bactéries sont capables de minéraliser ces composés xénobiotiques soit via une seule souche soit en s'organisant en consortia bactériens. Cette capacité donc à dégrader ou à résister aux polluants relève de la grande plasticité des génomes des bactéries et de l'adaptation rapide de ceux-ci à de nouvelles conditions (**Bernard, 2007**). Cette adaptation des bactéries aux molécules xénobiotiques traduit la plasticité génomique bactérienne qui est assurée par deux différents mécanismes (**Monard, 2008 ; Faugier, 2010**) :

- des modifications endogènes du patrimoine génétique au sein d'une population par accumulation successive de mutations

- des acquisitions de gènes ou de fragments d'ADN provenant d'autres espèces grâce à des mécanismes spécifiques relevant du transfert horizontal (**Faugier, 2010**)

L'extraordinaire plasticité génomique des bactéries leur permet de s'adapter plus rapidement et efficacement que les autres organismes de notre planète à des modifications très importantes et même extrêmes de leur milieu (**Faugier, 2010**).

I.11 Biodégradation

La biodégradation est un processus naturel de décomposition. En effet, la dégradation d'un composé xénobiotique par les microorganismes est une stratégie pour leur propre survie (**Figure 8**). Elle est la décomposition partielle ou totale d'un produit par un agent biologique avec rejets des produits simples tels que H₂O, CO₂, CH₄, H₂, chlorure (pour un organochloré), ou encore de l'acétate, des produits de fermentation (**Roger and Jacq, 2000**). Cette capacité du microorganisme est parfois utilisée comme technologie pour l'élimination des contaminants des sites pollués (**Singh et al., 2014**). Cette technologie qui repose sur l'utilisation des propriétés dépolluantes des micro-organismes principalement les bactéries, les levures, les champignons et aussi des plantes, pour nettoyer les environnements contaminés est la bioremédiation (**Cadiere, 2006 ; Singh et al., 2014 ; Agoussar, 2017**);). En effet, La versalité nutritionnelle des microorganismes est exploitée pour la biodégradation des polluants tels que les hydrocarbures, le pétrole, les métaux lourds, les pesticides, les colorants, etc.. Ce type de processus est appelé bioremédiation (**Abatenh et al., 2017**). La biodégradation et la bioremédiation sont des processus basés sur la conversion ou le métabolisme des pesticides par les microorganismes. Dans ces processus, les microorganismes sont utilisés pour dégrader les polluants (**Singh, 2008**). La bioremédiation implique la biotransformation et la biodégradation transforme les contaminants en des produits chimiques non dangereux ou moins dangereux (**Singh et al., 2014 ; Yehia, 2016**). L'intérêt croissant actuel pour les techniques de réhabilitation biologique des sols est dû à ses nombreux avantages dont son faible impact environnemental, son faible coût et sa facilité à mettre en œuvre (**Fayeulle, 2013**). Les deux principales approches de la biodégradation microbienne sont la bioaugmentation et la biostimulation. De nombreux travaux scientifiques dans le monde, notamment en Inde, en Malaisie et au Pakistan ont montré l'efficacité de l'utilisation des microorganismes dans le processus d'élimination de plusieurs composés xénobiotiques comme la cyperméthrine, le glyphosate, et autres (**Akbar et al., 2014 ; Pratibha and Himani, 2015 ; Monogaram et al., 2017**)

D'autres études menées au Mali, au Burkina Faso, au Nigéria et en Egypte font mention de l'utilisation de nombreux microorganismes dont *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp* dans la dépollution des sols de culture contaminés par les molécules actives de pesticides telles le décis, l'ultracide, le profenofos (Savado, 2001 ; N'Diaye, 2010 ; Helow et al., 2013 ; Germouche, 2014 ; Dibua et al., 2015)

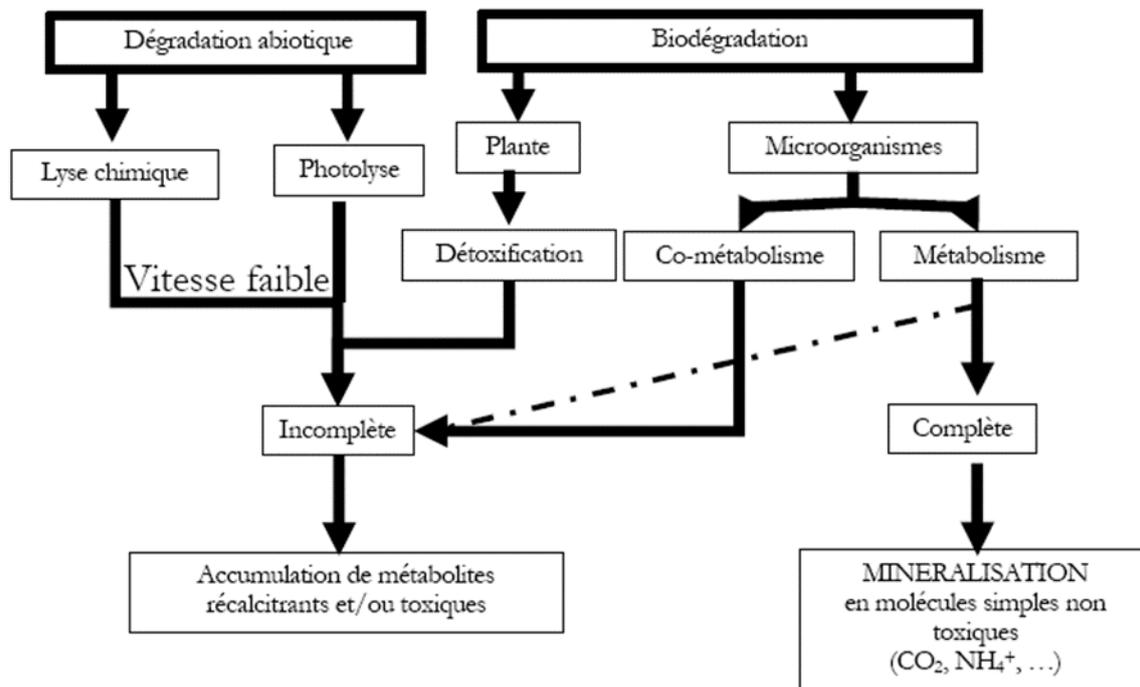


Figure 8: Voies de dégradation biotiques et abiotiques des pesticides (Changey, 2011)

MATÉRIEL ET

MÉTHODES

CHAPITRE II: MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1 MATÉRIEL

II.1.1 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans cette étude était constitué de trente (30) échantillons de sol de culture maraîchère (**Figure 9**) définis suivant la loi normale, cette loi étant en générale une bonne approximation de la distribution réelle (**Lucien, 1986**). Les sols provenaient de trois grands sites de production de culture maraîchère à Port-Bouët, songon et Bingerville. Les matériels et réactifs utilisés dans l'étude sont répertoriés dans l'**annexe 2**.



Figure 9: Echantillons de sol de culture maraîchère

II.2 MÉTHODES

II.2.1 Description des sites d'étude

L'étude a été réalisée en Côte d'Ivoire dans la période d'août à octobre 2017 et de février à mars 2018. Elle s'est déroulée dans trois zones de production de culture maraîchère (Abidjan-Port-Bouët, Songon, Bingerville). Le choix de ces sites a été fait sur la base de la densité de production des produits maraîchers. En effet, ces trois (3) sites représentent des zones de forte production de légumes qui alimentent le marché d'Abidjan qui a une population estimée à 4.707.404 millions d'habitants soit 20,3 % de la population ivoirienne (23,2 millions d'habitants) (Ducroquet et al., 2017). Les coordonnées géographiques de sites d'étude sont mentionnées dans le **tableau 7**. **La figure 10** représente les zones d'étude avec des limites en rouge.

Tableau 7: Coordonnées géographiques des zones de prélèvement des sols

Site d'étude	Situation	Latitude	Longitude
Port-Bouët	Sud-est d'Abidjan	5° nord	4° Ouest
Bingerville	Ouest d'Abidjan	5° 19 nord	4° 15 Ouest
Songon	Nord d'Abidjan	5° 21 nord	3° 54 Ouest

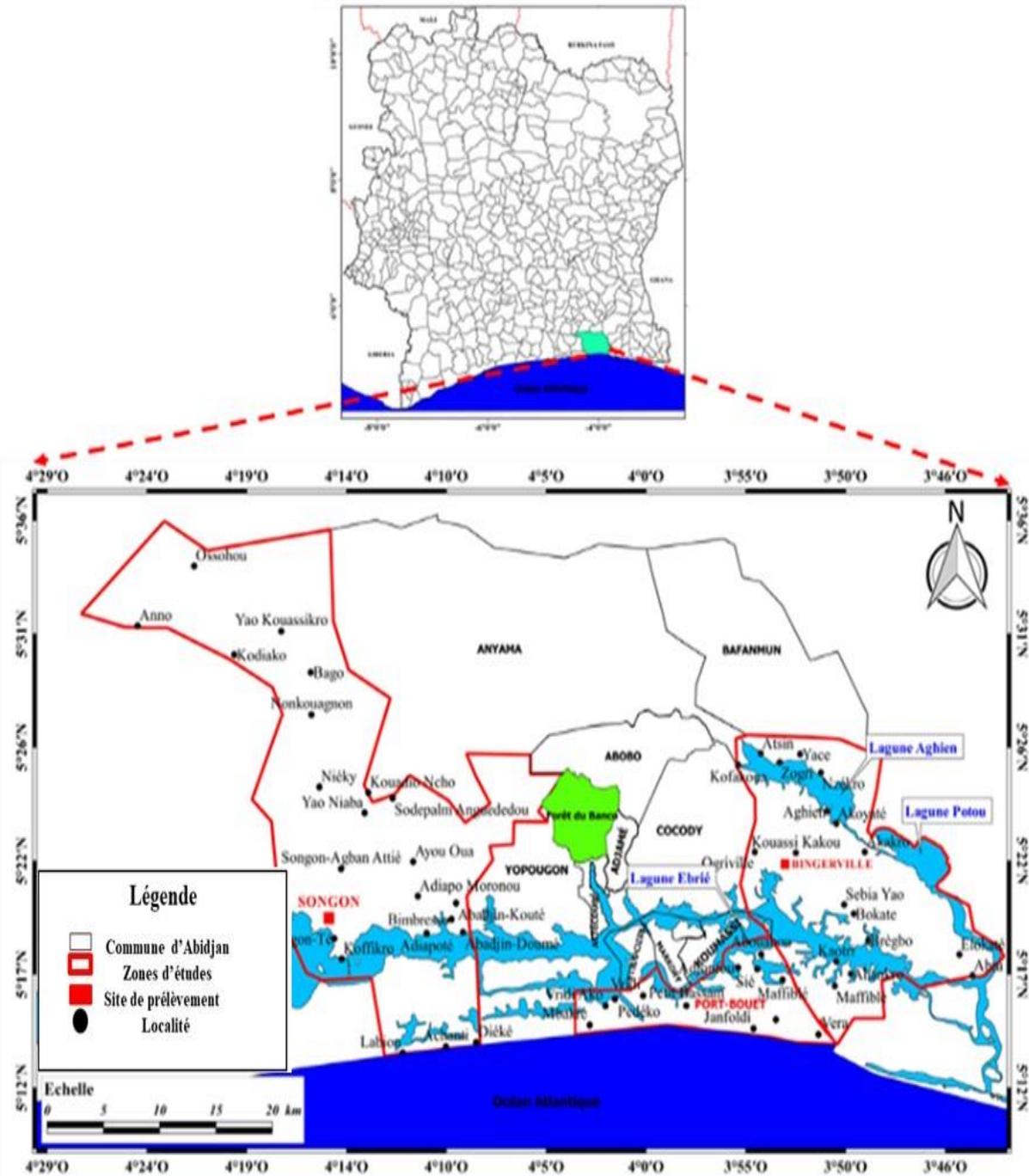


Figure 10: Représentation générale du site expérimental

II.2.2 Méthode d'enquête

Une pré-enquête et une enquête s'inspirant des travaux de **Kadjo et al. (2016)** ont eu lieu auprès des producteurs maraîchers, des structures d'encadrement des agriculteurs (ANADER), au ministère de l'agriculture et du développement durable à travers sa direction de la protection des végétaux et du contrôle qualité (DPVCQ). La pré-enquête et les entretiens (**Annexe 2**) ont permis de connaître les superficies encadrées des différentes exploitations, de retenir les différentes zones d'étude et d'élaborer les fiches d'enquête. Les enquêtes se sont déroulées dans les périodes d'Août à Octobre 2017 et de Février à mars 2018. La population concernée était constituée de producteurs de maraîchers. Afin de constituer un échantillonnage représentatif qui respecte les caractéristiques de la population étudiée et étant donné que la liste exhaustive de la population à enquêter n'était pas connue, alors la méthode d'échantillonnage en boule de neige a été utilisée. En effet, à partir d'un premier échantillon constitué de maraîchers, plusieurs autres maraîchers se sont rajoutés à partir des premiers. Ainsi, deux cent quarante-trois (243) maraîchers dont quatre-vingt-dix (90) à Songon, soixante-quatorze (74) à Port-Bouët et soixante-dix-neuf (79) à Bingerville ont été soumis à un questionnaire qui était rempli au moment de l'entretien sur le site de production. Les questions ont porté sur les différents types de pesticides utilisés, les fréquences d'application, le mode d'utilisation des pesticides, la gestion des déchets, les sources d'approvisionnement, les délais de carence, etc.

II.2.3 Echantillonnage des sols

L'échantillonnage des sols de culture a été réalisé en Janvier 2019. La procédure d'échantillonnage par maillage a été utilisée. Elle a consisté à collecter un échantillon composite à partir de cinq sous-échantillons (**Kouakou et al., 2019**). La **figure 11** présente le site de prélèvement. A l'aide d'une tarière, 5 échantillons de sols ont été prélevés à partir de la surface jusqu'à une profondeur de 30 cm suivant les diagonales et les côtés d'un carré de 10 x10 m délimité sur le site d'étude (**Figure 12**). Ces 5 sous échantillons ont été soigneusement mélangés pour former un échantillon composite de 1 kg. Les échantillons de sols ont été placés dans des sacs en plastique, étiquetés et déposés dans une glacière contenant des blocs de glace. Le prélèvement a été fait avec des contenants stériles.

Les échantillons de sols ont été transportés au laboratoire pour être analysés. Un GPS a permis de référencer chaque point d'échantillonnage.



Figure 11: Site de prélèvement des échantillons de sol de Songon (La présente étude)

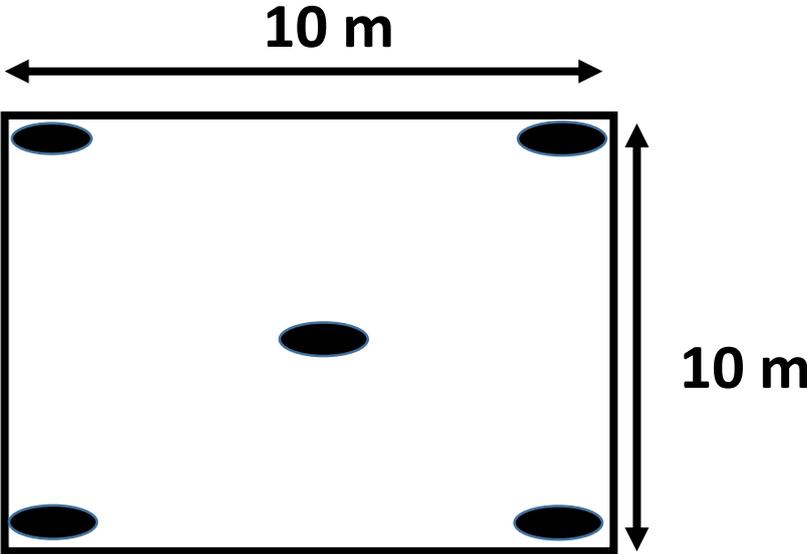


Figure 12: Plan d'échantillonnage des sols

II.2.4 Analyses des paramètres physico-chimiques des échantillons de sol

II.2.4.1 Mesure du pH

La détermination du pH des échantillons de sol s'est faite à l'aide d'un pH-mètre de marque Mettler toledo selon la norme **NF ISO 10390, 2005**. Le pH-mètre a été calibré avant toute mesure. Dix (10) g de sol ont été mélangés à 20 mg d'eau distillée. Le mélange a été homogénéisé et filtré avec du papier Whatman (diamètre: 90 mm). L'électrode du pH-mètre est plongé dans le filtrat sous agitation pendant quelques minutes jusqu'à stabilisation de la valeur du pH affiché par l'appareil. L'opération a été effectuée trois fois de suite.

II.2.4.2 Granulométrie

La granulométrie a été effectuée suivant la méthode de la pipette de Robinson (**Pansu and Gautheyrou, 2003**). La matière organique de l'échantillon de terre fine a été détruite par l'eau oxygénée. Une prise d'essai de 7 g d'échantillon de sol a été ensuite dispersé par agitation mécanique en présence d'un dispersant à base de sodium. Les fractions fines de 0 à 0,002 mm (argile) et de 0,002 à 0,02 mm (limon fin) ont été déterminées à partir de prélèvements effectués à l'aide de la pipette de Robinson, après un temps de sédimentation. Les fractions grossières de 0,02 à 0,05 mm (limon grossier) et les sables ont été déterminés par tamisage à sec, après siphonage. Pour la description de la texture, on se basera sur les classes définies par l'U.S. Department of Agriculture (**FAO, 1977**). Les noms de ces classes, ainsi que les gammes de teneurs en sable, limon et argile correspondantes figurent dans le diagramme triangulaire extrait du **soil survey manual (1951)**.

II.2.4.3 Détermination de la matière organique (MO)

La matière organique a été déterminée par la méthode Walkley-Black (**Walkley and Black, 1934**). La quantité d'échantillon de sol utilisée pour la détermination de la matière organique était de 25 g. Le carbone de la matière organique a été oxydé par le bichromate de potassium en milieu acide, l'excès de bichromate de potassium a été dosé par une solution de sel de Mohr, ce qui permet d'établir la concentration du carbone. La teneur en matière organique a été obtenue par la formule suivante:

$$(\%) \text{ MO} = \% \text{ C} \times 1,724$$

II.2.4.4 Détermination du taux d'humidité (H)

La détermination de la teneur en humidité du sol s'est faite par la méthode classique de séchage à l'étuve décrite par **AOAC (1990)**. Ainsi, 25 g de sol ont été pesés dans une capsule de verre de masse connue (m_0). La capsule de verre contenant l'échantillon (m_1) a été placée à l'étuve à 105 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La capsule de verre a été retirée et placée au dessiccateur. Après refroidissement, l'échantillon et la capsule ont été pesés (m_2). Le calcul de la teneur en humidité (H) qui est exprimée en pourcentage a été défini à l'aide de la formule suivante:

$$(\%)H = \frac{(m_1 - m_2) * 100}{(m_1 - m_0)}$$

Avec:

m_0 = masse de la capsule de verre vide

m_1 = masse de la capsule contenant l'échantillon (avant séchage)

m_2 = masse de la capsule contenant l'échantillon (après séchage)

II.2.4.5 Activité de l'eau (A_w)

A l'aide de l'appareil Lab touch "water activity" de marque Novasina, l'activité de l'eau a été déterminée selon la norme **NF ISO 18787, 2004**. Une prise d'essai de 10 g de chaque échantillon à analyser a été déposée dans une capsule et l' A_w a été directement mesurée par l'appareil.

II.2.4.6 Détermination de la teneur en azote total

La mesure de la quantité de l'azote total a été réalisée au moyen de la méthode de Kjeldhal (**Kjeldahl, 1883**). Le principe a consisté à une minéralisation de type Kjeldhal avec un catalyseur de minéralisation qui est l'oxyde de titane (TiO_2). Ainsi, 4 mL d'acide sulfurique pur de masse volumique 1,84 g/mL ont été ajoutés à 25 g de sol. Après agitation, 0,5 g de thiosulfate de sodium pentahydraté y a été également ajouté, le mélange a été chauffé jusqu'à disparition de la mousse. Une fois refroidi, 1,1 g du catalyseur de minéralisation (TiO_2) y a été ajouté et le tout a été porté à ébullition douce à 100 °C jusqu'à minéralisation (4 heure maximum). Les réactifs tels que l'hydroxyde de sodium (50 mL) et l'indicateur coloré à l'acide borique (50 mL)

ont été ajoutés au distillat (40 ml) qui a été ensuite titré avec 20 mL d'acide sulfurique à 0,1 N jusqu'au virage bleu. Un essai à blanc a été réalisé dans les mêmes conditions. Les résultats (N) en mg par gramme de sol ont été exprimés à l'aide de la formule suivante:

$$N = \frac{(V1 - V2)}{m \times V0} \times C \times 14 \times 100$$

Avec:

V1 : volume en mL d'acide sulfurique utilisé pour le dosage

V2 : volume en mL d'acide sulfurique utilisé pour l'essai à blanc

V0 : volume utilisé en mL pour dissoudre 25 g de sol

C : concentration de l'acide sulfurique

M : masse de l'échantillon

14 : masse molaire de l'azote (14,0067)

100 : facteur pour obtenir un pourcentage

II.2.4.7 Détermination de la teneur en chlorure

La concentration des ions chlorures a été déterminée par la méthode titrimétrique pour le dosage des chlorures (ISO 9297, 1989). La méthode utilisée (Méthode de mohr) a consisté à doser 10 mL de filtrat des échantillons de sol par le nitrate d'argent (AgNO_3) à 0,02 M en présence de l'indicateur coloré qui est le chromate de potassium (K_2CrO_4). Le filtrat est obtenu à partir de 25 g de sol dissout dans 100 mL d'eau distillée. Bien avant de faire le dosage argentimétrique, un essai à blanc est effectué dans les mêmes conditions mais sans le filtrat de sol. Les résultats (C_{cl}) en mg/L sont exprimés par la formule suivante:

$$C_{\text{cl}} = \frac{(V_s - V_b)}{V_a} \times C \times f$$

C_{cl} : Concentration des chlorures en mg/L

V_s : volume en mL de la solution de AgNO₃

V_b : volume en mL de la solution de AgNO₃ pour le titrage du blanc

V_a : Volume en mL de l'échantillon

C : Concentration réelle exprimée en moles de l'AgNO₃ par litre, de la solution de nitrate d'argent

F : (facteur de conversion) = 35453 mg/mol

II.2.4.8 Détermination de la teneur en calcium et magnésium

La concentration des ions Ca²⁺ et Mg²⁺ a été déterminée par titrage directe sur le filtrat (25 g de sol dissout dans 100 mL d'eau distillée). Le titre hydrotimétrique (TH) et le calcium ont été d'abord déterminés, puis la teneur du magnésium a été déterminée par déduction. Pour le TH, un volume de 10 mL du filtrat a été prélevé dans un erlenmeyer de 250 mL, puis 4 mL d'une solution de tampon ammoniacal et un indicateur coloré (T-net) y ont été ajoutés. Le filtrat a été dosé par l'éthylène diammine tétraacétique (EDTA) jusqu'au virage bleu. Concernant le calcium, un volume de 10 mL du filtrat a été prélevé dans un erlenmeyer de 250 mL, puis 2 mL d'une solution de soude (NaOH) à 2 M et un indicateur coloré qui est l'acide calcione carboxylique (HSN) y ont été ajoutés. Le filtrat a été dosé par l'éthylène diammine tétraacétique (EDTA) jusqu'au virage bleu. Les teneurs en calcium et en magnésium sont exprimés respectivement en mg/L et en mg/kg de sol. Les résultats du TH et du calcium sont calculés à partir des formules suivantes:

$$\text{TH } (^\circ\text{f}) = \frac{C1 \times V1}{V0}$$

$$\text{Ca} = \frac{C2 \times V3 \times A}{V0}$$

Avec :

Ca : teneur en calcium en mg par L

TH : titre hydrotimétrique en degré français (°f)

C1 : Concentration, exprimée en millimoles par litre, de la solution d'EDTA

V₀ : volume en millilitres, de la prise d'essai

V₁ : volume en millilitres, de la solution d'EDTA versée pour le titrage

C2 : Concentration, exprimée en millimoles par litre, de la solution d'EDTA

V3 : volume en millilitres, de la solution d'EDTA versée pour le titrage

A : masse molaire du calcium

La teneur du magnésium a été déduite à partir de l'équation suivante:

$$\text{Mg} = \left(\frac{(5 \times \text{TH}) - \text{Ca}}{40,078} \right) \times 24,305$$

Avec:

Mg : teneur en magnésium en mg par kg de sol

Ca : teneur en calcium en mg par kg de sol

TH : titre hydrotimétrique

5 : Facteur de conversion de degré français en mmol/L s'agissant de 2 ions de magnésium

40,078 : Masse molaire du calcium

24,305 : Masse molaire du magnésium

II.2.5 Dosage par chromatographie des résidus de pesticide dans les sols

II.2.5.1 Prétraitement des échantillons de sol

Le choix des pesticides s'est fait sur la base de la forte utilisation de ceux-ci par les maraîchers et également des résultats obtenus lors de l'enquête après bilan phytosanitaire des trois sites d'étude.

Les échantillons de sol ont été étalés sur du papier aluminium et laissés séchés au laboratoire à 25 °C pendant une semaine. Les sols séchés ont été broyés finement à l'aide de mortiers en porcelaine et tamisés avec un tamis de maille 2 mm. Une masse de vingt-cinq (25 g) du broyat obtenu a été utilisée pour la quantification des résidus de pesticide.

II.2.5.2 Extraction des résidus de pesticide des sols

II.2.5.2.1 Extraction du glyphosate

La méthode utilisée découle de la norme **ISO 16308 (2014)** adaptée aux sédiments et sols. A 25 g du broyat, 50 mL d'eau bi distillée ont été ajoutés. Le mélange est homogénéisé sur un agitateur à 5000 tours/min pendant 20 min puis centrifugé à 5000 tours/min pendant 20 min. Le surnageant est récupéré puis filtré sur du papier whatman (diamètre des pores : 90 mm). L'opération est répétée 3 fois de suite. Un (1) mL du surnageant est dérivé avec 1 mL du 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOC) à 10 mg/L et 1 mL de tétraborate de sodium à 5 % dans un tube Falcon. Le tube est emballé avec du papier aluminium et homogénéisé à 5000 tours/min pendant 30 min. L'extrait est centrifugé à nouveau et le surnageant est récupéré dans un vial pour la quantification à l'HPLC (BUCHI, Allemagne).

II.2.5.2.2 Extraction de la cyperméthrine, du profénofos et de la carbendazime

L'extraction de la cyperméthrine, du profénofos et de la carbendazime a été effectué selon **Suna et al. (2017)**. Un volume de 50 mL de dichlorométhane est ajouté à 25 g du broyat de sol. Le mélange est homogénéisé à 400 tours/min pendant 30 min puis centrifugé à 5000 tours/min pendant 20 min. Le surnageant est filtré sur du papier Whatman (diamètre des pores : 90 mm). Le filtrat est passé au rotavapor (Bushi, Suisse). Les résidus de pesticide sont ré-suspendus avec 5 mL de méthanol et récupérés dans un vial pour la quantification à l'HPLC. Les solvants utilisés sont tous de grade HPLC et ont été fournis par Carlo Erba et Sigma-Aldrich (France).

II.2.5.3 Quantification des résidus de pesticide par HPLC

La quantification des résidus de pesticide a été faite à l'aide d'une chaîne HPLC constituée d'un détecteur UV visible (**Suna et al., 2017**). Ce dispositif était également constitué d'une colonne, d'un réservoir (TRAY), d'un dégazeur (DGU-20A5), d'un échantillonneur automatique (SIL-20A), d'une pompe (LC-20AT), d'un four (CTO-20A) et d'un ordinateur doté du logiciel LC solution pour l'acquisition des données. Les conditions chromatographiques ont été consignées dans le **tableau 8**. Les chromatogrammes obtenus ont été comparés aux chromatogrammes des étalons de références (**Annexe 3**) utilisés lors du dosage. Les limites de détection et de quantification des différentes molécules sont dans **l'annexe 3**.

Tableau 8: Conditions chromatographiques des pesticides recherchés

	Glyphosate	Cyperméthrine, Profenofos, Carbendazime
Volume d'injection	20 µL	20 µL
Débit	0,5 mL/min	1 mL/min
Eluant A	50 % acétonitrile	10 % eau
Eluant B	50 % eau+ 0,5 % H ₃ PO ₄	90 % acétonitrile
Colonne	C18 Shim pack VP-ODS (250 Lx4,6 mm)	Spherisorb S5ODS2 (250 x 4, 6 mm) ID
Mode d'élution	isocratique	isocratique
Longueur d'onde	205 nm	254 nm
Température du four (°C)	40	30

Les aires des pics des étalons et échantillons ont permis de calculer les différentes concentrations des pesticides selon la formule suivante:

$$C_p = \frac{S_c \times C_e \times V_f \times F}{S_e \times M_e}$$

Avec:

C_p : concentration de l'échantillon (mg/kg)

S_c : surface du pic de l'échantillon

S_e : surface du pic du standard

C_e : concentration de l'étalon (mg /L)

V_f : volume final (L)

M : volume d'échantillon (kg)

F : facteur de dilution (F=1)

II.2.6 Isolement et identification de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.*

II.2.6.1 Procédure d'isolement des souches bactériennes

II.2.6.1.1 Isolement de *Pseudomonas sp.*

Les souches de *Pseudomonas sp* ont été isolées par la méthode de suspension-dilution. Pour chaque échantillon, 10 g de sol ont été pesés dans un erlenmeyer de 250 mL contenant 90 mL d'eau distillée stérile. Le mélange a été passé au vortex puis agité pendant 30 min à température ambiante. 1 mL de ce mélange qui constitue la solution mère (10^{-1}) a été prélevé et ajouté à un tube à essai contenant 9 mL d'eau distillée stérile. Des dilutions décimales successives ont été ainsi réalisées jusqu'à 10^{-10} . Le milieu cétrimide puis le milieu King agar A et King agar B (**Annexe 1**) ont été utilisés pour l'isolement des *Pseudomonas sp.* à partir des différentes dilutions (**Brown et Lowbury, 1965**). La méthode d'ensemencement utilisée est la méthode par étalement. En effet, 0,1 mL de l'échantillon et de ses dilutions décimales ont été transféré et étalé dans les boîtes de pétri contenant les milieux à l'aide d'une pipette râteau stérile. Les boîtes de pétri ont été incubées à 37 °C pendant 48 H.

II.2.6.1.2 Isolement de *Bacillus subtilis*

Pour l'isolement de *Bacillus subtilis*, la même méthode de suspension-dilution a été utilisée sauf que la solution mère (10^{-1}) est chauffée à 80 °C pendant 12 min afin de sélectionner uniquement les bactéries présentant les caractéristiques des *Bacillus* c'est à dire des bactéries présomptives de sporulation (**Mössel, 1967**). Un volume de 100 µL de la solution mère et de chaque dilution a été ensemencé par étalement sur la gélose Mössel (**Annexe 1**). Les boîtes de pétri ont été incubées à 30 °C pendant 24 H.

II.2.6.3 Caractérisation morphologique et biochimique des isolats sélectionnés

II.2.6.3.1 Caractérisation macroscopique et microscopique des isolats

La macroscopie des colonies isolées a permis de faire une première caractérisation. Elle a consisté à observer la forme, l'odeur, la couleur et l'aspect des colonies. La microscopie (état frais et coloration de gram) (**Larpent and Larpent, 1990**) (**Annexe 4**) des colonies obtenues a permis de voir la mobilité, l'agencement et la forme des souches obtenues.

II.2.6.3.2 Caractérisation biochimique des isolats sélectionnés

Les tests biochimiques ont permis de compléter l'identification macroscopique et microscopique. Ils se sont résumés par l'étude des enzymes respiratoires telles que la catalase

et l'oxydase. Les tests de la catalase et de l'oxydase ont été réalisés (**Annexe 4**). La catalase est une enzyme qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) avec dégagement d'oxygène. L'oxydase est une enzyme qui intervient dans la fixation de l'hydrogène et des électrons sur une molécule d'oxygène. La recherche de ces deux enzymes est primordiale dans l'identification bactérienne (**Marchal et al., 1991 ; Bergey's manual, 2009**).

II.2.6.3.3 Purification et conservation des souches isolées

Afin d'avoir des colonies pures, les colonies obtenues ont été repiquées plusieurs fois par la méthode de stries sur les milieux cétrimide, King B et gélose Mossel. Les souches isolées ont été conservées à -20 °C dans du bouillon cœur cerveau (BCC) supplémenté de 30 % de glycerol (**Badis et al., 2005**) (**Annexe 1**).

II.2.6.4 Identification moléculaire des isolats sélectionnés

II.2.6.4.1 Préparation et prétraitement des isolats sélectionnés

Les souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* préalablement isolées sont ensemencées à nouveau par stries sur milieu Mössel et cétrimide puis incubées à l'étuve pendant 18 à 24 h à 30 °C et 37 °C. A l'aide d'une anse stérile, une colonie bien isolée est prélevée et mise en culture dans 1 mL de bouillon cœur cerveau (BCC) (**ISO 6888 : 2003**). Il est incubé à 37 °C pendant 24 h. Le bouillon devenu trouble est centrifugé à 12000 tours/min pendant 20 min puis lavé deux fois de suite avec de l'eau "Rnase free water". Le culot bactérien est resuspendu avec 200 µL de tampon de lyse contenant 20 mM de tris-HCl, 2 mM d'EDTA, 1,2 % de Triton X-100 et 20 mg/mL de lysozyme afin de fragiliser les parois bactériennes. La suspension est incubée à 37 °C pendant 1 h. L'extraction est effectuée sur cette suspension (**Sambrook et al., 1990**).

II.2.6.4.2 Extraction de l'ADN total

Le kit d'extraction utilisé est le kit commercial QIAamp DNA mini Kit (250) (QIAGEN, Espagne). Le protocole utilisé est celui décrit par le fournisseur. Succinctement, 200 µL de tampon de lyse AL et 20 µL de protéinase K sont ajoutés à la suspension obtenue. L'éthanol absolu est ajouté à la suspension bactérienne pour concentrer l'ADN. Un transfert sur les colonnes est effectué puis une centrifugation de 14000 tours/min pendant 1 min est réalisée. Après les différents lavages avec le tampon de lavage 1 AW1 et le tampon de lavage 2 AW2, l'ADN est récupéré avec un tampon d'élution AE. Les absorbances des ADN extraits ont été mesurées à 260 nm et 280 nm avec le spectrophotomètre Qubit (INVITROGEN) pour évaluer leurs puretés et quantités.

II.2.6.4.3 Amplification génomique des gènes

L'amplification génique des gènes s'est déroulée selon les travaux de **Lim et al. (2016)** et **Pereira et al. (2018)**. Un thermocycleur GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem) avec le kit d'amplification l'ADN polymérase (Promega) ont été utilisés. Les constituants du mélange réactionnel sont consignés dans **l'annexe 5**. Une paire d'amorce pour *Bacillus subtilis* correspondant aux gènes *ytcp* a été utilisée : *ytcp-F* et *ytcp-R*. Les amorces pour *Pseudomonas sp.* correspondant à la région V3 et V4 du gène de l'ARN *16S* du genre *Pseudomonas* ont aussi été utilisées, ce sont les amorces *PSe 434-F* et *PSe 665-R*. Ces gènes ont été amplifiés en utilisant ces amorces spécifiques (**Tableau 9**). Les conditions d'amplification sont consignées dans le **tableau 10**. L'amplification moléculaire des isolats a débuté par une phase de dénaturation de l'ADN double brin en ADN simple brin (ADN monocaténaire), puis l'hybridation spécifique des amorces au cours de laquelle les brins complémentaires d'ADN s'hybrident aux ADN monocaténaires et enfin une élongation catalysée par la Taq polymérase au cours de laquelle se fait la répllication de l'ADN. Ces programmes se sont déroulés en 40 cycles pour les deux bactéries.

Afin de contrôler toutes les étapes de l'amplification et de détection et aussi valider le résultat de la PCR, un contrôle positif de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* a été utilisé. Ces contrôles positifs sont des souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* déjà connues et séquencées. Un contrôle négatif a été également utilisé lors du test afin de s'assurer de l'absence de toutes contaminations de l'ADN et des réactifs utilisés.

Tableau 9: Liste des amorces pour la sélection de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.*

Gènes	Amorces	Séquences (5' - 3')	Références	Taille amplicon (Pb)
<i>ytcp</i>	<i>ytcp-F</i>	5'GCTTACGGGTTATCCC3'	Lim et al. (2016)	460
	<i>ytcp-R</i>	5'CCGACCCCATTTTCAGACATATC3'		
<i>16S</i>	<i>Pse-434F</i>	5'ACTTTAAGTTGGGAGGAAGGG'3	Pereira et al. (2018)	221
	<i>Pse-665R</i>	5'ACACAGGAAATTCCACCACCC3'		

Pb : paire de bases

Tableau 10: Conditions d'amplification par PCR de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp.*

Etape d'amplification	Condition et durée	
	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Dénaturation initiale	94 °C/5min	94°C/5min
Dénaturation cyclique	94 °C/30sec	94°C/30sec
Hybridation	58 °C/1min	51°C/1min
Elongation cyclique	72 °C/1min	72°C/1min
Elongation finale	72 °C/10min	72°C/10min
Nombre de cycles	40	40

II.2.6.4.4 Révélation des produits de la PCR

Afin d'estimer la taille des fragments d'ADN, les produits de la PCR (amplicons) ont été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5 % contenant du SYBR Safe DNA gel stain (Invitrogn, USA). Le gel de migration a été soumis à un voltage de 100 volt jusqu'à ce que le colorant de repérage arrive au bout du gel. Le marqueur de poids moléculaire utilisé est BenchTop 100 Kb DNA Ladder (variant de 10 à 1500 Pb). Le gel est visualisé sur un Gel Doc EZ Imager (Biorad) (Jacot, 2003 ; Czerwiec, 2020).

II.2.7 Séquençage des gènes des meilleures souches bactériennes

Le séquençage a été réalisé à l'aide de l'automate "Genetic Analyzer 3500xL" (Applied Biosystem). La méthode de séquençage utilisée est la technique de Sanger (Smith et al., 1986). Les amorces utilisées étaient le *ytcp-F* pour *Bacillus subtilis* et le Pse 434-F Pour *Pseudomonas sp.* Les six (6) souches ayant obtenues les meilleurs taux de dégradation ont été séquencées. Après la PCR, les amplicons ont été purifiés avec le kit de purification QIAquick gel extraction kit (250) de QIAGEN selon le protocole décrit par le fournisseur. Après la purification de l'ADN, un mélange réactionnel a été préparé pour la PCR Big Dye (Annexe 5). Les étapes et les

conditions d'amplification sont représentées dans l'**annexe 5**. Une fois le séquençage terminé, les séquences nucléotidiques sont obtenues sous forme de chromatogrammes. Elles sont assemblées, alignées et examinées pour l'analyse de recherche Blast N. La banque de données GenBank du Centre National de l'Information Biotechnologique américain (NCBI) a permis d'identifier les espèces en comparant les séquences obtenues avec celles des espèces de référence déposées dans cette banque de données. A partir des séquences obtenues, des arbres phylogénétiques ont été réalisés. Ces arbres ont permis d'établir les relations de parenté entre les séquences obtenues et les séquences de référence de la base de données de NCBI.

II.2.8 Evaluation de la capacité de dégradation des isolats sélectionnés

II.2.8.1 Etude de la tolérance des bactéries isolées aux pesticides choisis

Les pesticides choisis pour les tests sont le glyphosate et la cyperméthrine. Le choix de ces deux molécules actives s'est fait sur la base des résultats obtenus lors des analyses chromatographiques. En effet, la recherche par chromatographie des résidus de pesticides a montré que le glyphosate et la cyperméthrine sont les plus retrouvés dans la majorité des sols échantillonnés.

La technique utilisée dans les tests de tolérance est une adaptation de la technique d'étude de l'activité des antibiotiques (la méthode de diffusion en milieu gélosé) de **Heatley (1944)**. Cette méthode consiste à diffuser dans une gélose renfermant les microorganismes étalés dans une boîte de pétri, une substance dont on souhaiterait étudier l'action inhibitrice ou de croissance. Ainsi, le profil de sensibilité ou de tolérance de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp* vis-à-vis du glyphosate et de la cyperméthrine à différentes concentrations a été déterminé par cette technique. Sur la gélose Luria Bertani (LB) (**Annexe 1**), 100 µL d'inoculum de chaque souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp* ont étéensemencés par étalement. Cinq (5) puits (correspondant aux 5 concentrations de chaque pesticide) ont été creusés dans la gélose de chaque boîte de pétri et remplis par 100 µL de solution de pesticide préparé stérilement par filtration sur membrane de porosité 0,22 µm. Les concentrations de glyphosate étaient de 50, 100, 150, 200 et 360 mg/L tandis que celles de la cyperméthrine étaient de 10, 20, 30, 40 et 50 mg/L. Les boîtes de pétri ont été incubées à 37 °C pendant 5 à 7 jours. Après 24 h d'incubation, des observations quotidiennes et une lecture interprétative des résultats qualitatifs sont effectuées. L'absence ou la présence de halo d'inhibition autour de chaque puits suggère que les bactéries tolèrent et/ou sont sensibles ou non aux pesticides testés. Les souches compétentes utilisées pour les tests de dégradation ont donc été sélectionnées sur la base de leur tolérance ou sensibilité aux pesticides testés.

II.2.8.2 Dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine en condition contrôlée

Bien avant de faire le test de dégradation, les souches bactériennes sont repiquées sur gélose nutritive à 30 °C pendant 24 h. Une colonie bactérienne est re-suspendue dans de l'eau distillée stérile et sa densité optique est lue au spectrophotomètre à 600 nm. La concentration initiale des bactéries étant mesurée, 1 ml de cette suspension est utilisée pour les tests de dégradation en milieu liquide. Le milieu utilisé dans cette expérimentation est le milieu minimum synthétique (MM) (Yin et al., 2013) (Annexe 1) supplémenté de glyphosate et de la cyperméthrine à différentes concentrations. Les concentrations de glyphosate et de cyperméthrine ont été retenues en s'inspirant des travaux de Yin et al. (2013) et Nagwa et al. (2020) sont consignés dans le **tableau 11**.

Tableau 11 : Concentrations de glyphosate et cyperméthrine en mg/L

Concentrations	C1	C2	C3	C4	C5
Glyphosate	360	200	150	100	50
Cyperméthrine	50	40	30	20	10

Le pesticide utilisé provenait d'un nouveau flacon qui a été préalablement stérilisé par filtration sur une membrane de porosité 0,22 µm avant d'être ajouté au milieu minimum synthétique (pH= 7 ± 0,2) préalablement autoclavé à 121 °C pendant 15 min. Dans un erlenmeyer de 250 mL contenant 150 mL de milieu minimum synthétique (MM) contenant le pesticide à différentes concentrations, 1 mL de la suspension bactérienne fraîchement préparée (*B. subtilis*; *Pseudomonas sp.*; *B. subtilis* + *Pseudomonas sp.*) a étéensemencée. La capacité des bactéries à utiliser les pesticides comme seule source de carbone et d'Énergie a été étudiée sur milieu minimum. Les flacons sont emballés dans du papier aluminium afin d'éviter la photodégradation et exclure tout effet de la dégradation abiotique. Ils sont incubés pendant 168 heures à 25 °C. La croissance bactérienne des souches a été suivie par absorbance à 600 nm avec le spectrophotomètre UV visible Genova plus (Jenway, France). Les concentrations résiduelles ou finales de glyphosate et de la cyperméthrine dans le milieu ont été également mesurées par absorbance à 265 nm et 480 nm respectivement avec le même spectrophotomètre

UV visible. Les tests ont été réalisés en triple et deux témoins négatifs ont été réalisés en parallèle. Ainsi, un flacon témoin 1 (contenant 150 mL de milieu MM sans le pesticide testé mais avec la suspension bactérienne) et un autre flacon témoin 2 (contenant 150 mL de milieu sans l'espèce bactérienne mais avec le pesticide) ont été réalisés. Le taux de dégradation des deux pesticides est suivi de façon journalière par mesure de la DO à 265 nm pour le glyphosate et à 480 nm pour la cyperméthrine avec un spectrophotomètre UV visible avec 1 mL de l'échantillon. Le pourcentage de dégradation des pesticides a été obtenu en calculant celui-ci à partir de la formule de **Bhoosreddy et al. (2014)**:

$$\% \text{ Dégradation} = \frac{(\text{Absorbance initiale} - \text{Absorbance observée})}{\text{Absorbance initiale}} \times 100$$

Les figures 13 et 14 présentent les tests de dégradation *in vitro* de chaque souche bactérienne en présence des différentes concentrations de glyphosate et de cyperméthrine. Les tests se sont déroulés à 25 °C pendant 168 heures. Les erlenmeyers contiennent 150 mL de milieu minimum synthétique (MM) + le pesticide à différentes concentrations + 1 mL de la suspension bactérienne fraîchement préparée (*B. subtilis*; *Pseudomonas sp*; *B. subtilis* + *Pseudomonas sp*). Le papier aluminium a été utilisé dans le dispositif de **la figure 14** afin d'éviter la photodégradation.



Figure 13: Test *in vitro* de dégradation de la cyperméthrine à 50 mg/L par *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* (Psp 20130 ; Ba7 ; Ba14 ; Psp5)



Figure 14: Test *in vitro* de dégradation du glyphosate par *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* Afin de confirmer la biodégradation, les principaux composés biodégradés qui sont les principaux métabolites de la cyperméthrine et du glyphosate ont été analysés à partir du surnageant et confirmés par HPLC en début (H_0) et à la fin de l'expérience (H_{168}) dans les mêmes conditions que celles décrites au **chapitre II.2.5**.

II.2.8.3 Effet du glucose, du sucrose et de l'amidon sur la dégradation

Afin d'optimiser la biodégradation, l'effet de certains nutriments comme le glucose, le sucrose et l'amidon a été testé afin de voir si ces nutriments amélioreraient ou non la biodégradation du glyphosate et de la cyperméthrine par *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* A 150 mL de milieu minimum contenant 10 mL de la suspension bactérienne à D₀ 600 nm équivalant à 0,56, les substrats tels que le glucose, le sucrose et l'amidon à 1 M sont ajoutés individuellement au milieu minimum (MM) contenant déjà les différentes concentrations de chaque pesticide testé. La dégradation des deux pesticides par les souches bactériennes a été suivie chaque par la lecture de l'absorbance à 265 nm pour le glyphosate et à 480 nm pour la cyperméthrine au spectrophotomètre UV visible.

II.2.8.4 Identification des métabolites principaux

Le métabolite principal de la dégradation du glyphosate est l'acide aminométhylphosphonique (AMPA). Il a été extrait selon le protocole de **Nhu-Trang et al. (2009)** et **Waiman et al. (2012)**. Le métabolite principal issu de la dégradation de la cyperméthrine est l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), il a été extrait selon le protocole de **Lin et al. (2011)**. Le filtrat (5 mL) de culture du milieu contenant la cyperméthrine utilisée pour la croissance des souches bactériennes est centrifugé et extrait avec du dichlorométhane. L'extrait de dichlorométhane a été évaporé et le résidu dissous dans de l'acétone. Les extraits ont été analysés par HPLC-UV. Les conditions chromatographiques des métabolites recherchés sont les mêmes que celles des deux molécules parentes décrites dans le **tableau 8** du chapitre **II.2.5.3**.

II.2.9 Analyses statistiques

Les données obtenues lors de l'enquête ont été traitées avec le tableur Excel 2013. Les graphiques ont été générés avec le même logiciel. Les données physicochimiques, chromatographiques et granulométriques ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) afin de vérifier si les paramètres étudiés diffèrent en fonctions des localités. L'analyse des données s'est faite au moyen du logiciel R version 3.6.1. Pour tous les tests statistiques réalisés, le seuil de significativité a été fixé à 5 %.

RÉSULTATS ET

DISCUSSION

CHAPITRE III: RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. Enquête socio-démographiques des acteurs du maraîchage

III.1.1 Résultats des enquêtes

III.1.1.1 Typologie des producteurs maraîchers

Les résultats de l'enquête ont montré que l'activité de maraîchage est dominée par les hommes. Les femmes qui pratiquent cette activité ne représentent que 6 % contre 94 % pour les hommes. **La figure 15** représente la répartition des différentes tranches d'âge des producteurs maraîchers. La tranche d'âge la plus représentée dans l'étude est celle de 30 à 45 ans. Les résultats de l'enquête ont montré un taux élevé d'analphabétisme chez les producteurs. En effet, 92 % des acteurs du maraîchage sont analphabètes. Le plus haut niveau d'instruction enregistré lors de l'enquête est le premier cycle. Seulement, 4,33 % des producteurs ont reçu une formation dans le maraîchage et dans les bonnes pratiques agricoles. Tous les maraîchers enquêtés appartiennent à une coopérative agricole. La proportion des producteurs interviewés (55,14 %) a plus de 10 années d'activité agricole, traduisant également plus de 10 ans d'utilisation de pesticides chimiques. Une proportion de 28,80 % des acteurs ont entre 5 et 10 années d'activité agricole tandis que 16,04 % ont moins de 5 années d'activité agricole. Les producteurs pratiquent très peu la jachère. Une très grande diversité de spéculations est pratiquée à savoir la tomate, la laitue, le piment, le chou, le concombre, les légumes feuilles, les aubergines, le gombo, les feuilles d'oignon, la carotte, le navet, le persil, la menthe, avec une spécialisation pour chaque zone de production. La tomate est la plus cultivée sur le site de Songon M'Brathé alors qu'à Bingerville, c'est plutôt le gombo et le concombre. A Port-Bouët aéroport, c'est la laitue, les légumes feuilles et les feuilles d'oignon qui sont beaucoup plus cultivés.

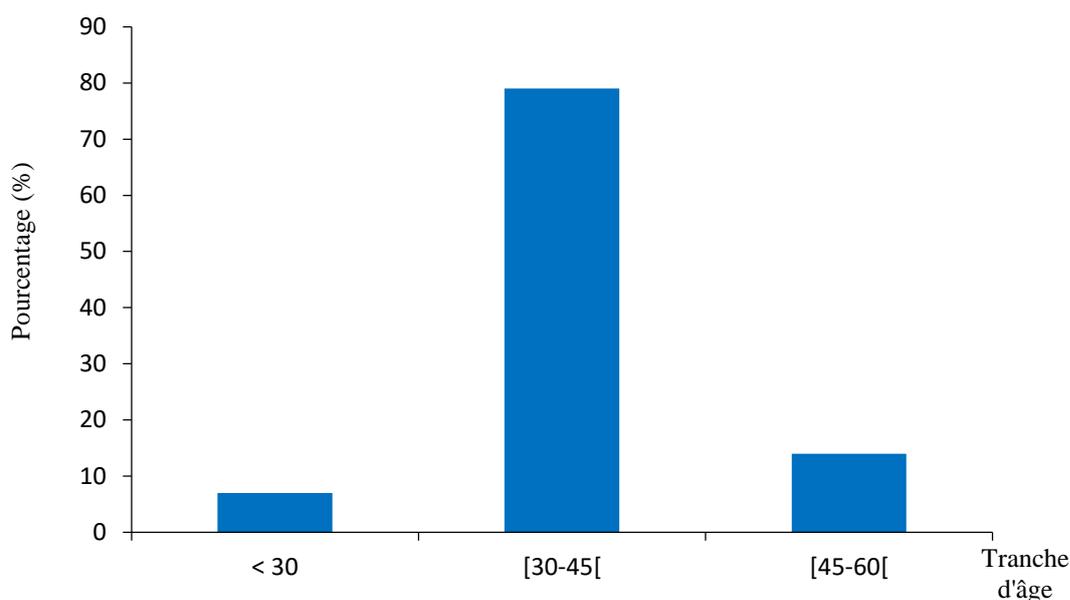


Figure 15: Répartition des producteurs selon l'âge

III.1.1.2 Utilisation des produits phytosanitaires par les producteurs maraîchers

Les résultats indiquent que la quasi-totalité des producteurs de maraîchers interviewés utilisent les pesticides chimiques sur leur exploitation. Les inventaires ont permis d'identifier les pesticides utilisés dans la culture maraîchère des zones d'étude. Les études ont révélé que les pesticides les plus utilisés sont les insecticides (**Figure 16 et 17**). Ils représentent 72,50 % de l'ensemble des pesticides utilisés. Ils sont suivis des fongicides avec un taux de 17,69 % et des herbicides (9,80 %).

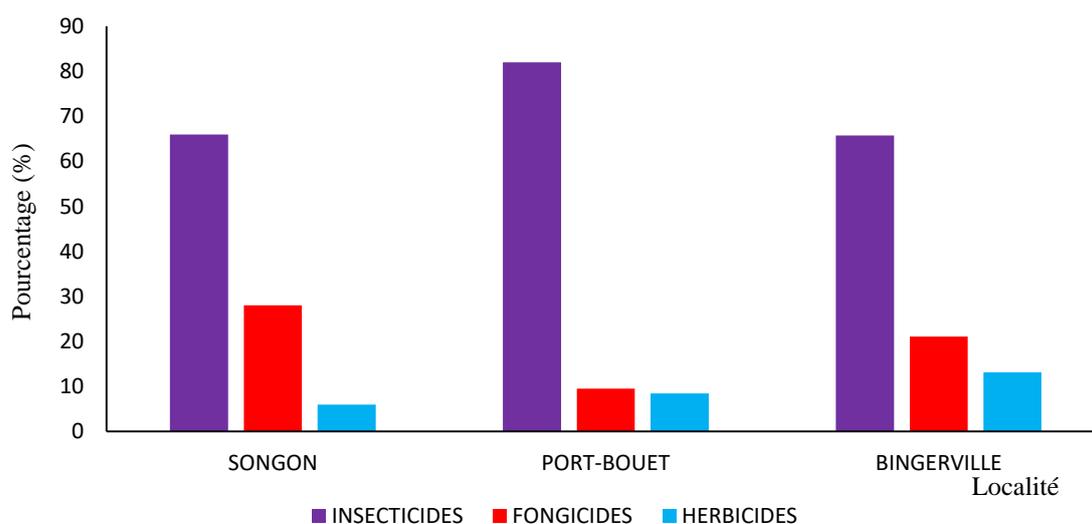


Figure 16: Pourcentage d'utilisation des pesticides appliqués par zones d'étude

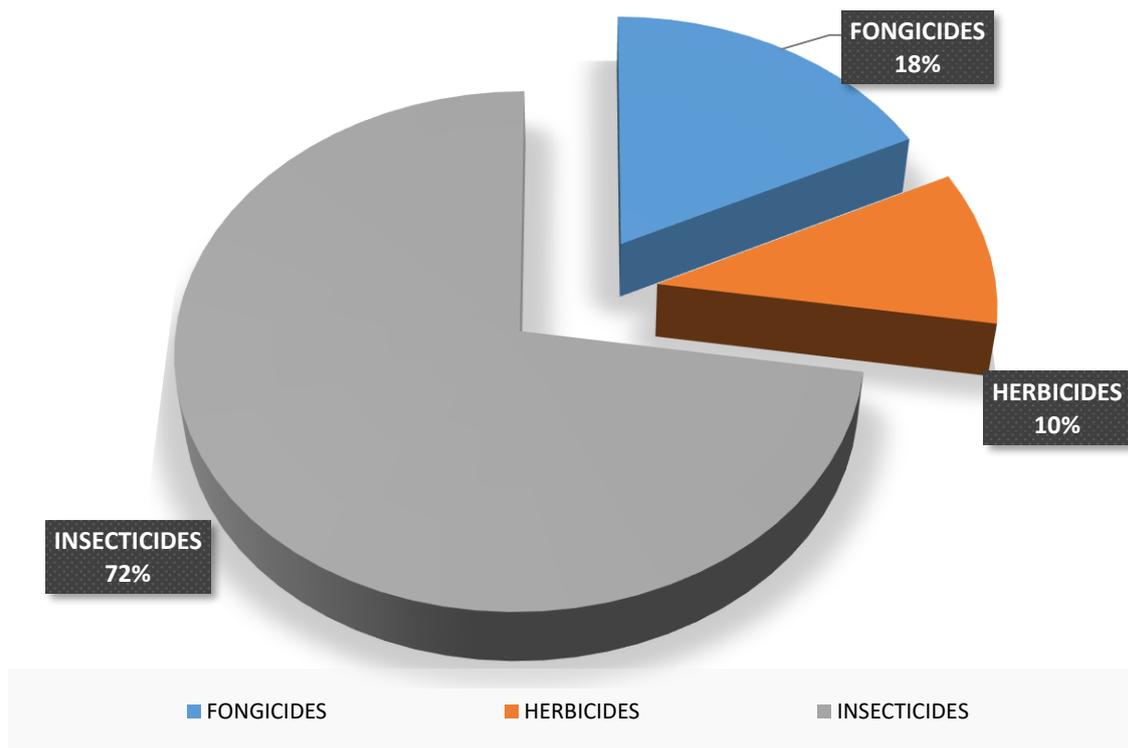
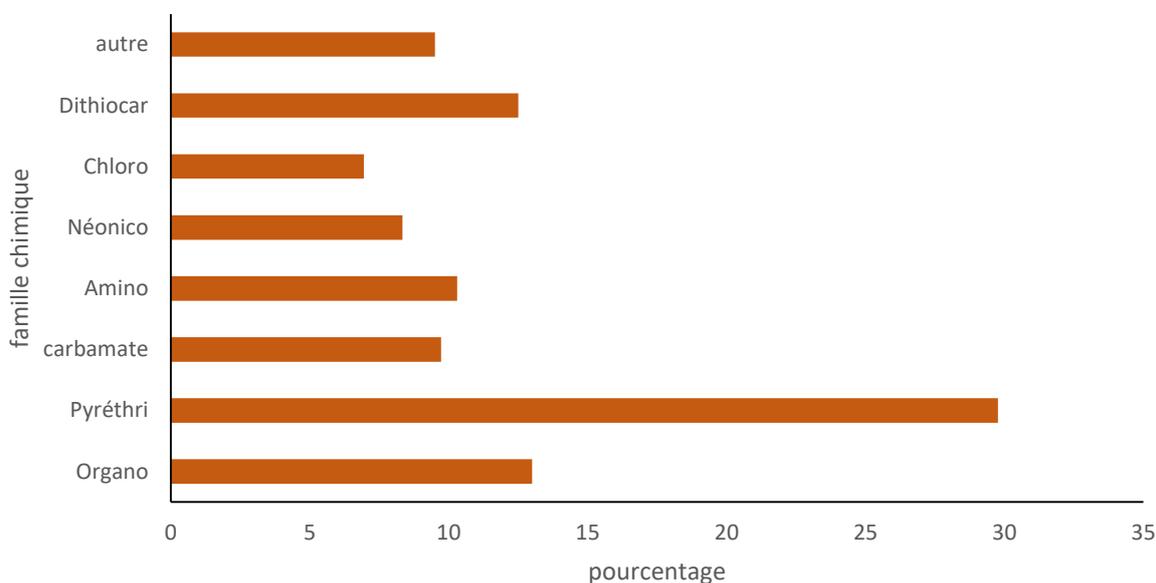


Figure 17: Proportion des pesticides utilisés par les producteurs maraîchers

III.1.1.3 Pesticides répertoriés

L'enquête a révélé quarante-trois (43) noms commerciaux de pesticides chimiques repartis dans treize (13) familles chimiques avec 21 molécules actives. Parmi les pesticides utilisés, de nombreux pesticides destinés uniquement à la culture du coton ont été utilisés. L'utilisation des insecticides du coton a été beaucoup plus observée à Songon et Bingerville. Des substances actives persistantes telles que le bromacil et le diuron ont été également utilisées. Des molécules interdites comme le carbofuran ont été utilisées. Des produits phytosanitaires non homologués tels l'herbicide *gramoquat 200 SL*, *bravo*, *super 360 SL* ainsi que des pesticides non répertoriés dans l'index phytosanitaire (Danho et al., 2015) de la Côte d'Ivoire (« bien-bien », « feu-vert », « solution », « karakoro », « killer », « machette », « bôrô », « krakon ») sont également utilisés. Les pesticides utilisés appartiennent en majorité aux pyréthrinoïdes de synthèse. Il ressort des résultats de l'enquête que l'herbicide le plus utilisé dans les trois (3) zones d'étude est le glyphader dont la molécule active est le glyphosate. L'insecticide majoritairement utilisé est le cypercal 50 EC dont la molécule active est la cyperméthrine, un pyréthrinoïde de synthèse. Ivory 80 WP est le fongicide le plus utilisé, sa matière active est le mancozèbe. La famille

chimique, la plus représentée dans l'étude est celle des pyréthrinoïdes suivie respectivement du dithiocarbamate, des organophosphorés et des aminophosphonates. **La figure 18** présente les différentes classes chimiques des pesticides utilisés.



Organo = organophosphate; pyréthrinoïde = pyréthrinoïde; carbamate = carbamate; amino = aminophosphonate; Neonic = néonicotinoïde; dithiocar = dithiocarbamate; chloro = chloronitrile

Figure 18: Répartition des familles chimiques des pesticides utilisés par les producteurs

III.1.1.4 Source d'approvisionnement des pesticides et stockage des pesticides

Les producteurs maraîchers du site de Songon et Bingerville s'approvisionnent en produits phytosanitaires chez les distributeurs agréés et sur les marchés locaux. Cependant, les producteurs de Port-Bouët aéroport ont trois sources d'approvisionnement. Ce sont : les distributeurs agréés, les marchés locaux et les petits revendeurs installés sur les sites de production. Après achat des produits phytosanitaires, les agriculteurs enquêtés stockent les produits phytosanitaires dans leurs maisons avant utilisation et généralement sur les sites de production (sous les buissons) et les appâtâmes.

III.1.1.5 Méthode d'épandage des pesticides et doses appliquées

Sur les trois sites d'étude, tous les maraîchers interviewés (100 %) utilisent les pulvérisateurs à dos pour le traitement des parcelles. Constat a été fait de ce que la majorité des producteurs a beaucoup de mal à respecter les doses prescrites à cause du taux élevé d'analphabétisme. Après traitement des parcelles, le reste des bouillies est utilisé à nouveau par les agriculteurs sur les cultures. Le lavage du matériel utilisé pour l'application des pesticides (récipients pour doser

et pulvérisateurs) se fait sur les sites à proximité des puits d'où provient l'eau pour l'arrosage des cultures.

III.1.1.6 Moyens de protection et fréquence de traitement des cultures

Lors de l'épandage, 100 % des producteurs n'utilisent pas de protection complète (lunettes, gants, chaussures appropriées ou bottes, cache-nez ou masques, combinaisons, etc.). En effet, la majorité des producteurs enquêtés (67 %) utilise uniquement des cache-nez, tandis que 33 % n'utilisent aucune protection. Selon les spéculations pratiquées, le nombre de traitement diffère d'un agriculteur à un autre. Tous les agriculteurs traitent le sol avant semis. Les traitements des cultures se font en général tous les 15 jours, mais en cas de fortes attaques, les producteurs traitent les parcelles toutes les semaines. Les traitements commencent déjà avant le semis et se poursuivent jusqu'avant la récolte des légumes. Les traitements peuvent aller jusqu'à 15 à 20 fois selon la spéculation concernée. Il a été constaté que même en cas de non attaque de ravageurs, les traitements des cultures sont quand même effectués.

III.1.1.7 Délai avant récolte et gestion des emballages après usage

Les délais de carence des produits phytosanitaires rencontrés diffèrent d'une molécule à une autre. Les délais avant récolte des produits phytosanitaires rencontrés lors de notre étude sont de 3, 7, 15, 21 et 45 jours. Tous les producteurs enquêtés reconnaissent qu'ils doivent respecter un délai entre la dernière application de pesticide et la récolte des légumes. Pourtant, aucun des agriculteurs interviewés ne respectent le délai de 45 jours pour les molécules dont le délai de carence est 45 jours. Une proportion de 47 % des agriculteurs enquêtés observent un délai de carence de 7 jours, tandis que 27 % de ceux-ci observent un délai de 15 jours, seulement 3 % des producteurs observent le délai de 21 jours et enfin 20 % observent un délai de 3 jours. **La figure 19** indique les proportions des producteurs respectant les différents délais avant récolte. Plus de la moitié des producteurs maraîchers (68,31 %) rejettent les emballages vides des pesticides dans la nature. En revanche, 17,69 % enfouissent les emballages vides dans le sol contre 13,99 % qui les incinèrent. **La figure 20** présente les différentes proportions des producteurs quant à la gestion des emballages vides des pesticides.

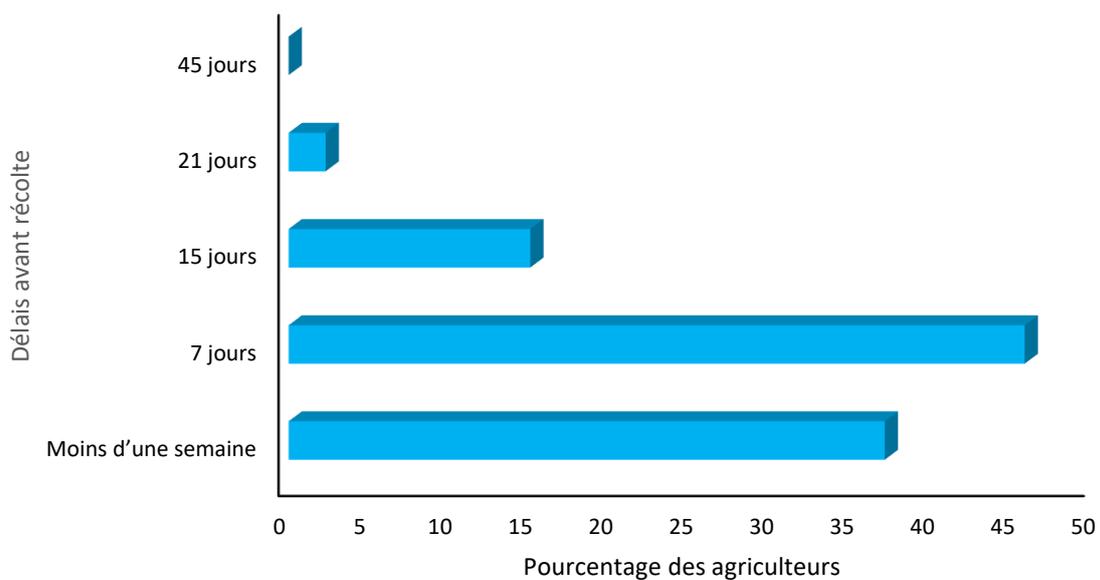


Figure 19: Proportion des agriculteurs respectant les différents délais avant récolte

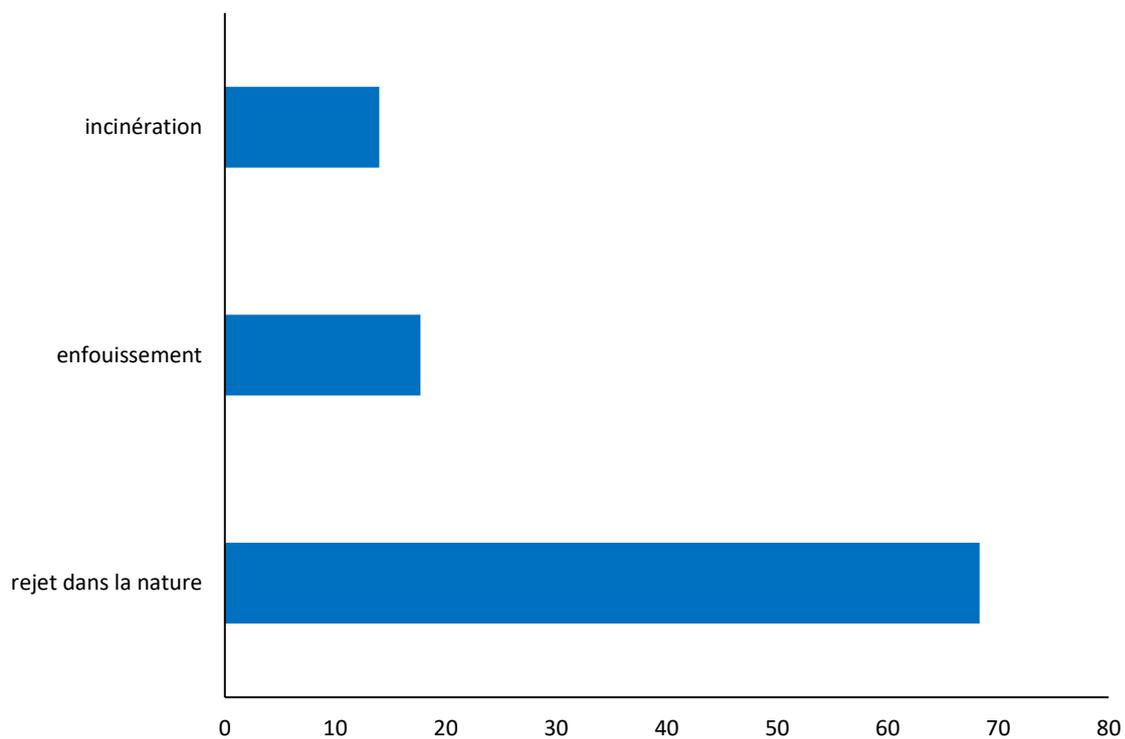


Figure 20: Répartition des producteurs selon la gestion des emballages vides de pesticides

III.1.2 DISCUSSION

L'étude a montré que les acteurs impliqués dans l'agriculture urbaine et périurbaine du district d'Abidjan sont majoritairement dominés par les hommes. Ces résultats vont dans le même sens que les résultats des études réalisées par **Tano et al. (2011)** à Yamoussoukro (Côte d'Ivoire). Ces auteurs ont observé une forte proportion des hommes dans l'agriculture urbaine. Le faible taux de représentativité des femmes dans cette activité pourrait se justifier par le faible accès (18 %) à la propriété foncière (**Rapport des consultations, 2013**) et du fait que le choix des femmes en matière d'investissement demeure assujéti à l'accord préalable de l'homme (**Séry, 2012**). Aussi, du point de vue culturel, les activités agricoles étaient réservées aux hommes.

Concernant les tranches d'âge, il a été constaté la présence de toutes les classes d'âge dans cette activité, mais elle est dominée par des individus âgés de 30 à 45 ans (79,01 %). Cette forte présence des jeunes dans la filière maraîchage pourrait s'expliquer par le chômage. En effet, plusieurs auteurs (**Matthys et al., 2006 ; Kanda et al., 2009 ; Ducroquet et al., 2017**) ont évoqué la hausse du taux de pauvreté en milieu urbain qui est passé de 9,1 % en 2008 à 11,2 % en 2015 et qui pousserait les jeunes à s'adonner à cette activité. Dans notre étude, la proportion des jeunes (79,01 %) est plus élevée que celle trouvée par **Bayendi et al. (2017)** et **Le Bellec et al. (2017)** au Gabon et en île Maurice qui mentionnaient un vieillissement des exploitants maraîchers respectivement de 63 % et 60 %. Cette différence pourrait s'expliquer par l'intérêt des jeunes à s'intéresser à la filière à cause du chômage. La rentabilité financière que procure le maraîchage expliquerait aussi l'intérêt des jeunes à ce secteur d'activité. Le faible taux de producteurs âgés de plus de 45 ans dans cette filière s'expliquerait par la pénibilité de cette activité. En effet, force est de constater que l'activité de maraîchage exige de nombreuses contraintes physiques telles que les temps de travail trop longs, les énormes tâches physiques comme le désherbage, la récolte etc. Ces mêmes raisons pourraient également justifier le faible taux des femmes à cette activité.

L'analphabétisme des acteurs du maraîchage (92 %) et le manque de formation dans le domaine du maraîchage constituent une véritable contrainte pour le développement de la filière en elle-même et accentue la précarisation de l'activité. Ce taux élevé d'analphabétisme induit l'incapacité des acteurs à lire les instructions d'utilisation contenues sur les emballages des pesticides. Cette situation accroît le risque de la mauvaise utilisation et manipulation des pesticides chimiques ; ce qui contribue à une pollution de l'écosystème tout entier et à une augmentation du risque sanitaire des produits légumiers. Des travaux antérieurs (**Ngom et al., 2012 ; Diop, 2013 ; Nare, al., 2015 ; Dao et al., 2016**) ont confirmés nos résultats. En effet,

ces auteurs ont diagnostiqué que l'illettrisme élevé dans le rang des producteurs, favorise une utilisation irrationnelle des pesticides ayant une incidence négative sur la qualité des légumes. Cette observation est corroborée par les travaux d'**Ahouangninou et al. (2011)** au Bénin qui ont observé la non-application des dosages indiqués sur les emballages par les producteurs, à cause de leur difficulté à lire les modalités d'utilisation et à réaliser un dosage précis.

Risques sanitaires et écologiques de l'utilisation des produits phytosanitaires

Tous les producteurs interviewés utilisaient les pesticides chimiques pour le traitement des parcelles. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus par **Wognin et al. (2013)**. Lors de l'étude, les insecticides ont été les plus utilisés (72,50 %). Ces résultats confirment ceux de **Madjouman et al. (2009)**, **Doumbia and Kwadjo (2009)**, **Tano et al. (2011)** en Côte d'Ivoire qui ont trouvé 78,57 % et 73 % tout insecticide confondu. Un résultat différent est rapporté par **Ahouangninou et al. (2011)** au sud du Benin qui a montré une forte utilisation des fongicides (68 %). Lors de l'enquête, l'on a constaté l'utilisation des pesticides non homologués par les producteurs maraîchers. Cette situation est dépeinte par **Ahouangninou et al. (2012)** et **Kanda et al. (2014)** qui ont montré dans une investigation sur les indicateurs de risque de l'utilisation des pesticides que les molécules dont celles retrouvées dans notre étude, impactaient négativement les organismes aquatiques, les invertébrés du sol et persistaient dans le sol, ce qui contribue à un véritable appauvrissement du sol. L'on a également observé l'utilisation des pesticides comme le carbofuran (classe Ib, hautement dangereux, interdit depuis 2015 en Côte d'Ivoire) et les pesticides du coton (plante non alimentaire). L'usage de ces molécules toxiques en maraîchage constituent un véritable risque sanitaire pour les produits légumiers et les consommateurs. **Doumbia and Kwadjo (2009)** et **Son et al. (2018)** abondent dans le même sens lors de leurs travaux et mentionnent que les molécules actives des pesticides libérées lors des traitements des cultures contribuent à la pollution (ponctuelle et diffuse) de l'environnement, pollution qui constitue une véritable problématique pour les milieux aquatiques (**Akpo et al., 2016**), les nappes phréatiques, les sols de culture et l'air. L'étude a montré la non-utilisation des pesticides organochlorés ; ce qui suggère une prise de conscience des producteurs des risques éventuels de la toxicité de ces pesticides organochlorés sur leur santé et sur l'environnement. Nos résultats sont en contradiction avec les résultats de **Tano et al. (2011)** et **Abou et al. (2016)** qui signalaient l'utilisation des pesticides organochlorés dans le maraîchage mais ils sont en corrélation avec ceux de **Agnandji et al. (2018)** au Bénin. Les répétitions de traitement (la ré-application des restes de bouillies et l'utilisation excessive de pesticide sur les cultures), le non-respect des doses recommandées sont des pratiques qui

favorisent la pollution des sols de culture et des légumes. **Naré et al. (2015)** et **Son et al. (2018)** abondent dans le même sens en soulignant le non-respect des doses recommandées de pesticide par les agriculteurs au Burkina Faso. Quant au non-respect des délais avant récolte, il pourrait entraîner la présence de résidus de pesticides dans les produits maraîchers. Ce qui favoriserait les risques sanitaires de ces produits légumiers et de toxicité humaine et environnementale. La majorité des exploitants maraîchers rejettent les emballages dans la nature ce qui accroît la pollution de l'environnement, des résultats semblables ont été rapportés par **Tarnagda et al. (2017)** au Burkina Faso. Les doses et les fréquences d'utilisation des pesticides ne sont pas maîtrisés par les producteurs maraîchers dont la majorité est analphabète.

III.1.3 CONCLUSION PARTIELLE

L'étude sur l'état des lieux de l'utilisation des produits phytosanitaires en maraîchage urbain à Abidjan et alentours, a montré que tous les producteurs utilisent les produits phytosanitaires sur leur exploitation et ont en majorité plus de 10 ans d'activités agricoles. Les insecticides sont les pesticides les plus utilisés et la famille chimique la plus représentée dans cette étude est celle des pyréthriinoïdes de synthèse. L'étude révèle l'utilisation de 43 noms commerciaux de pesticides chimiques dont de nombreux pesticides destinés à la culture du coton. L'utilisation des pesticides non homologués, des molécules interdites et persistantes ont été constatées. Cette étude a permis de mettre en exergue les mauvaises pratiques agricoles des producteurs qui exposent à la fois producteurs, consommateurs et environnement. Ainsi, la contamination de l'environnement par les pesticides chimiques à toxicité avérée expose l'ensemble de la population tout entière. Etant donné que les résultats de l'étude-ci sont fondés sur les réponses des producteurs maraîchers et sur les observations faites sur le terrain, une analyse complémentaire des résidus des molécules actives de pesticides répertoriés dans cette étude s'avère nécessaire afin de connaître l'état réel de pollution des sols de culture maraîchère.

III.2 Caractéristiques des sols et détermination des résidus de pesticides dans les sols

III.2.1 Résultats

III.2.1.1 Caractéristiques physicochimiques des sols étudiés

Les valeurs de pH révèlent que les sols des trois sites d'étude étaient acides avec un pH de $5,44 \pm 1,1$, $6,45 \pm 0,35$ et $6,12 \pm 0,90$ respectivement pour Bingerville, Port-Bouët et Songon. Il existe une différence significative ($P < 0,05$) entre les pH des sites de Bingerville et de Port-Bouët. Les valeurs moyennes du taux d'humidité des sols échantillonnés des trois sites d'étude ont été respectivement $11,80 \pm 4,90$ pour Port-Bouët, $30,20 \pm 11,06$ pour Bingerville et $3,56 \pm 0,79$ pour Songon. La comparaison du taux d'humidité des trois sites d'étude a révélé qu'il existait une différence significative ($p < 0,05$) entre l'humidité des sols des trois sites. Tous les sols (100%) échantillonnés présentaient une très bonne activité de l'eau (A_w) avec une valeur moyenne de $0,98 \pm 0,00$. Il y'avait une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs de l' A_w de Bingerville et de Port-Bouët, par contre il n'y avait aucune différence significative entre l' A_w de Songon et de Port-Bouët ($p > 0,05$). Concernant les teneurs en matière organique (MO), elles diffèrent d'un site à un autre. Les taux de MO les plus faibles étaient rencontrés dans la zone de Bingerville ($0,47 \pm 0,23$ %) tandis que le taux le plus élevé se situe au niveau de Songon ($3,12 \pm 2,31$ %). Les sols des trois sites d'étude sont pauvres en matière organique.

Il y'a une différence significative entre les taux de MO relevés sur les sites de Bingerville et Songon pour une probabilité $p < 0,05$. Par contre, l'analyse des valeurs moyennes de MO des sites de Bingerville et Port-Bouët montre qu'il n'existe aucune différence significative entre ces valeurs ($p > 0,05$). Les valeurs du rapport C/N de tous les échantillons analysés sont très élevées et variaient de $283,5 \pm 252,08$ à $50,42 \pm 33,54$. La valeur moyenne de C/N du site de Songon a été plus élevée ($28,35 \pm 25,2$) que celle des deux autres sites ($5,04 \pm 3,35$) pour Bingerville et $9,07 \pm 7,67$ pour Port-Bouët. La comparaison des rapports C/N a révélé qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les échantillons de sol des sites de Bingerville et Songon ainsi que pour les sites de Port-Bouët et Songon. Néanmoins, aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée pour les sites de Bingerville et Port-Bouët pour ce même paramètre.

Concernant les teneurs des échantillons de sol en ions calcium, magnésium et chlorure, les valeurs moyennes étaient globalement élevées. En effet, les sols de Songon étaient plus fournis en calcium avec une moyenne de $0,57 \pm 0,24$ cmole/kg tandis que les sols de Port-Bouët avaient les valeurs les plus faibles ($0,45 \pm 0,18$ cmole/kg). Quant aux teneurs en ions magnésium, elles ont été plus élevées à Port-Bouët avec une moyenne de $1,16 \pm 0,53$ cmole/kg ; il en est de même

pour les ions chlorures ($1100,41 \pm 912,14$ mg/kg). Les plus faibles taux en ions magnésium, calcium et chlorures rencontrés se situaient à Bingerville. Ce sont respectivement $1,03 \pm 0,39$ cmole/kg pour le magnésium, $0,49 \pm 0,22$ cmole/kg pour le calcium et $542,76 \pm 159,00$ mg/kg pour le chlorure. La comparaison des valeurs moyennes de ces trois derniers paramètres a révélé qu'il n'existait aucune différence significative entre elles ($p > 0,05$) (**Tableau 12**). L'analyse de variance des paramètres étudiés montre qu'il existait une différence significative entre plusieurs paramètres physico-chimiques étudiés. Ainsi, elle a permis de vérifier si les paramètres étudiés diffèrent en fonction des localités. Lors de cette analyse de variance, les paramètres n'ayant pas présenté de différence significative n'ont pas été utilisés pour le test (HSD). Mais lorsqu'une différence significative a été observée, un test (HSD) a été effectué afin de classer les différences observées lors de l'analyse de variance (ANOVA) et donc de faire des comparaisons deux à deux entre les différents paramètres étudiés.

Tableau 12: Valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des sols et écartypes correspondants

Paramètres	Sites d'étude		
	Bingerville	Port-Bouët	Songon
pH	$5,44 \pm 1,15^b$	$6,45 \pm 0,35^a$	$6,12 \pm 0,90^{ab}$
Humidité	$30,20 \pm 11,06^a$	$11,80 \pm 4,90^b$	$3,56 \pm 0,79^c$
Aw	$0,981 \pm 0,001^b$	$0,983 \pm 0,001^a$	$0,983 \pm 0,001^a$
%MO	$0,47 \pm 0,23^b$	$1,04 \pm 0,99^b$	$3,12 \pm 2,31^a$
C/N	$5,04 \pm 3,35^b$	$9,07 \pm 7,67^b$	$28,35 \pm 25,2^a$
Ca²⁺ (cmole.kg⁻¹)	$0,49 \pm 0,22^a$	$0,45 \pm 0,18^a$	$0,57 \pm 0,24^a$
Mg²⁺ (cmole.kg⁻¹)	$1,03 \pm 0,39^a$	$1,16 \pm 0,53^a$	$1,09 \pm 0,44^a$
Chlorure (cmole.kg⁻¹)	$1,53 \pm 0,44^a$	$3,10 \pm 2,57^a$	$2,70 \pm 2,24^a$

Sur une même ligne, les valeurs affectées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au seuil de 5 %

III.2.1.2 Caractéristiques granulométriques des sols d'étude

La figure 21 présente les proportions moyennes des différentes fractions des sols étudiés. Les résultats révèlent que le sol de Port-Bouët est très pourvu en sable ($92,77 \pm 2,17$ %). Les valeurs de sable mesurées dans les sols des trois sites d'étude montrent qu'il y a une différence significative entre les valeurs de sable des trois zones d'étude. Il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les proportions de sable des sols de Port-bouët et celles de Songon ($50,21 \pm 17,05$ %), de même pour les proportions de sable de Port-Bouët et Bingerville ($41,43 \pm 18,08$ %). Les analyses des proportions de limon mesurées dans les sols des trois sites révèlent que les sols de Songon sont plus fournis en limon avec une moyenne avoisinant $22,94 \pm 8,05$ % par rapport aux sols de Port-Bouët et de Bingerville qui ont respectivement une moyenne de $3,83 \pm 1,97$ % et de $19,68 \pm 9,40$ %. Ainsi, l'analyse des taux de limon indiquent qu'il n'y a pas de différence significative entre les proportions de limon des sols de Songon et Bingerville pour ($p > 0,05$), par contre, il existe une différence significative entre Bingerville et Port-Bouët et Songon et Port-Bouët pour ce même paramètre. Les proportions d'argile mesurées dans les sols de Songon ($26,85 \pm 9,97$ %) sont statistiquement supérieures à celles mesurées sur le site de Port-Bouët ($3,4 \pm 0,31$ %). De façon générale, le sable est la fraction granulométrique la plus représentée sur les trois sites étudiés de Port-Bouët tandis que l'argile est la fraction la plus représentée à Songon.

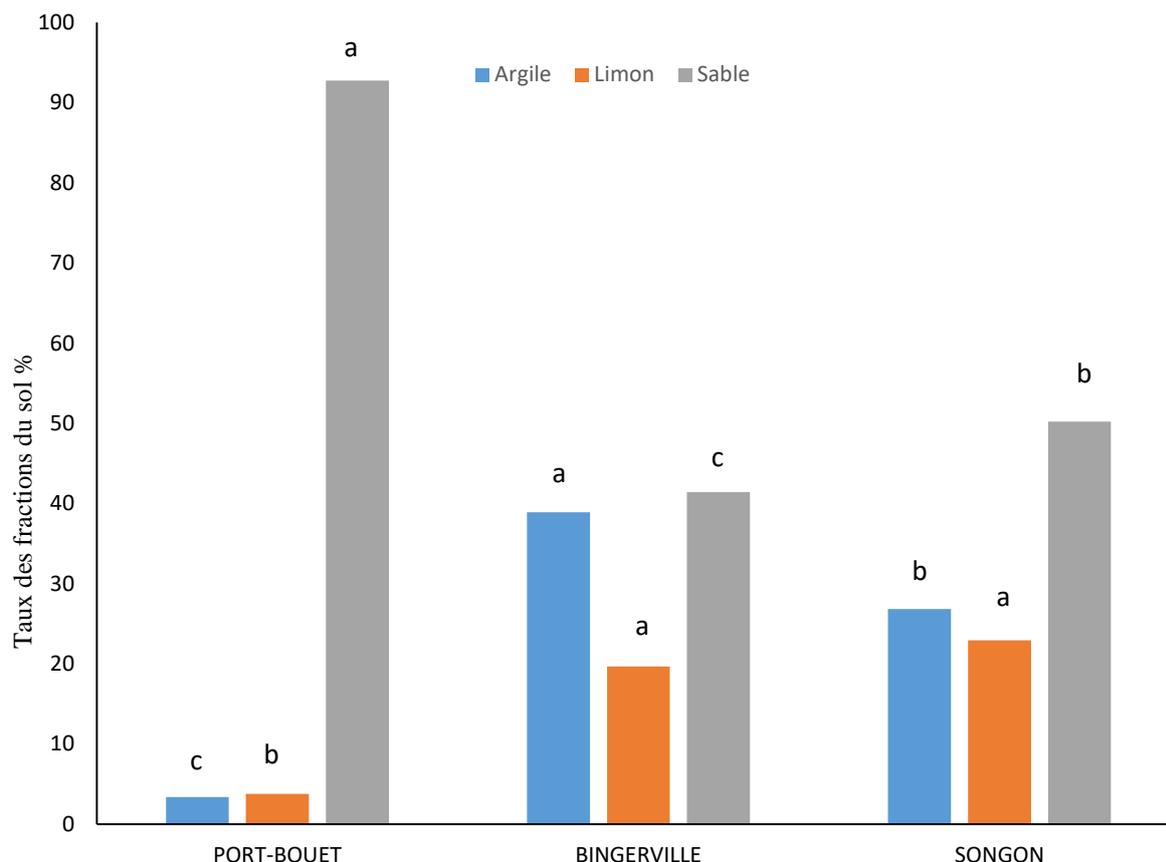


Figure 21: Proportions granulométriques des sols de Port-Bouët, Bingerville et Songon

Les barres de couleur surmontées de la même lettre (a,b,c) sont statistiquement identiques au seuil de 5 % (test HSD)

III.2.1.3 Résidus de pesticides dans les sols d'étude

Les résultats indiquent que 79,67 % des sols de culture sont contaminés par les quatre (4) résidus de pesticide. En terme de nombre d'échantillons de sols contaminés, les résultats montrent que le nombre d'échantillons de sols contaminés par le glyphosate et la cyperméthrine étaient sensiblement supérieurs aux autres pesticides (**Figure 22**). Ainsi, 26,95 % des sols échantillonnés contiennent des résidus de glyphosate tandis que 25,21 % contiennent des résidus de Cyperméthrine. Quant à la carbendazime et le profénofos, les sols étaient respectivement contaminés à hauteur de 23,47 % et 24,34 %. Les faibles valeurs de résidus de pesticides obtenus sont celles du glyphosate qui variaient de $0,07 \pm 0,006$ à $0,015 \pm 0,012$ mg/kg de sol. Les valeurs de résidus de pesticide les plus élevées sont celles du profénofos qui se situaient entre $0,068 \pm 0,067$ mg/kg et $0,498 \pm 0,27$ mg/kg. Les sols de Bingerville possèdent les quantités de résidus les plus élevés en profénofos $0,498 \pm 0,27$ mg/kg suivi de celle de

Songon $0,256 \pm 0,163$ mg/kg et Port-Bouët $0,068 \pm 0,067$ mg/kg. L'analyse de variance à un facteur montre que les valeurs des résidus de pesticide de glyphosate, de cyperméthrine et de carbendazime ne varient pas quelque soit la localité. Il n'y a donc pas de différence significative ($p > 0,05$) pour ces paramètres. Seul le paramètre profénofos varie entre les différentes localités, il existe ainsi une différence significative ($p > 0,05$) pour ce paramètre. Dans l'ensemble, les concentrations de profenofos étaient les plus importantes sur tous les sites. **Le tableau 13** indique les valeurs des moyennes de résidus de chaque pesticide recherché.

Tableau 13: Valeurs moyennes des résidus de quatre pesticides (en mg/kg de sol) et écart-types de chaque résidu de pesticide par site d'étude [N= 30 échantillons composite de sol].

Paramètres	Site d'étude			Limite de détection (HPLC)	Limite de quantification (HPLC)
	Bingerville	Port-Bouët	Songon		
Cyperméthrine	$0,049 \pm 0,015^a$	$0,062 \pm 0,053^a$	$0,028 \pm 0,02^a$	0,0086	0,0260
Glyphosate	$0,015 \pm 0,012^a$	$0,007 \pm 0,006^a$	$0,007 \pm 0,01^a$	0,0019	0,0059
Carbendazime	$0,012 \pm 0,007^a$	$0,008 \pm 0,01^a$	$0,007 \pm 0,003^a$	0,0010	0,0050
Profénofos	$0,498 \pm 0,27^a$	$0,068 \pm 0,067^c$	$0,256 \pm 0,163^b$	0,0018	0,0054

les moyennes affectées de la même lettre sur la même ligne ne présentent pas de différence significative au seuil de 5 % (test HSD)

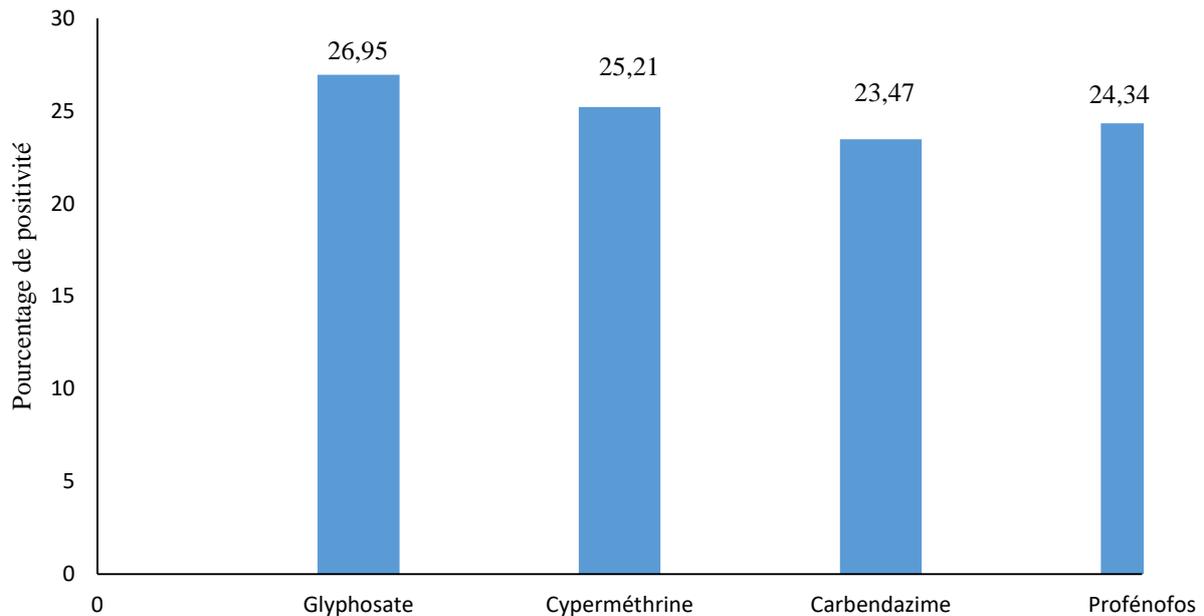


Figure 22: Pourcentage de positivité de sols de chaque pesticide

III.2.1.4 Interaction entre les paramètres physicochimiques et pesticides

Le **tableau 14** montre la relation existante entre les paramètres physicochimiques des sols et les résidus des pesticides retrouvés. Le test de corrélation a permis d'établir une corrélation entre certains paramètres physicochimiques et les résidus de pesticide des échantillons de sol avec un coefficient de corrélation $r = 0,80$ au seuil de 5 %. Ainsi, il a permis de voir si les paramètres étudiés varient en fonction de l'évolution des autres paramètres et de montrer l'influence de certains paramètres sur d'autres. Les résultats du test de corrélation indiquent que dans l'ensemble, les paramètres étudiés sont faiblement corrélés, à l'exception de quelques paramètres tels le carbone organique et le pourcentage de matière organique qui sont parfaitement corrélés ($r=1$). Une corrélation négative est observée entre le glyphosate et tous les paramètres physicochimiques à l'exception du calcium, du chlorure et de l'humidité. De même qu'une corrélation négative est observée entre la cyperméthrine et le pH, le magnésium et le calcium. Les paramètres tels que Ca^{2+} , les chlorures et l'humidité sont positivement corrélés au glyphosate. Le pH, l'humidité, l'azote, le calcium, l'activité de l'eau, la matière organique ainsi que le carbone organique sont positivement corrélés aux résidus de pesticides tels que la carbendazime, le profénofos et la cyperméthrine.

Tableau 14: Matrice de corrélation entre les paramètres physico-chimiques et résidus de pesticide des sols étudiés

	Cypermét	Carbendaz	Profenofos	glyphosate	Ca	cl	%CO	C/N	%MO	Azote	Mg	Humidité	Aw	pH	
Cypermét	1.00000														
Carbenda	0.49824	1.0000													
Profenofos	0.00265	0.2527	1.00000												
glyphosate	-0.01010	0.4082	0.21788	1.0000											
Ca	-0.01021	0.1001	0.23261	0.0686	1.00000										
cl	0.15458	-0.1395	-0.23604	0.1377	0.14860	1.0000									
%CO	0.42129	0.1470	-0.29692	-0.2804	0.02907	0.3438	1.0000								
C/N	0.17238	-0.0378	-0.22893	-0.2802	-0.08687	0.1822	0.8737	1.0000							
%MO	0.42129	0.1470	-0.29692	-0.2804	0.02907	0.3438	1.0000	0.8737	1.0000						
Azote	0.06354	0.0832	-0.13211	-0.0134	0.18740	0.1838	0.0350	-0.2928	0.0350	1.00000					
Mg	-0.35015	-0.2145	-0.04117	-0.2329	0.16168	-0.0349	-0.0904	-0.0750	-0.0904	0.16835	1.0000				
Humidité	-0.23615	0.0543	0.08816	0.3064	-0.26941	-0.2995	-0.4520	-0.3978	-0.4520	-0.00491	-0.1773	1.00000			
Aw	0.14424	0.0573	0.07506	-0.2769	-0.00293	0.0276	0.1286	0.1668	0.1286	-0.19848	-0.0873	-0.39756	1.00000		
pH	-0.02803	0.0406	0.22883	-0.0211	0.16728	-0.0146	0.0591	0.0929	0.0591	0.13100	0.0700	-0.24519	0.48646	1.0000	

Cypermét: cyperméthrine; carbendaz: carbendazime; ca: calcium; cl: chlorure; %CO: pourcentage carbone organique, C/N: rapport organique; %MO: pourcentage matière organique; Mg:magnésium; Aw: activité de l'eau;pH: potentiel d'hydrogène.

III.2.2 DISCUSSION

Le pH est l'un des facteurs qui influencent la biodisponibilité et le transport des pesticides dans le sol (**Fosu-Mensah et al., 2016**). Les résultats de l'étude ont montré que les sols des trois sites étudiés sont moyennement acides avec des valeurs de pH comprises entre 5,44 et 6,45. Cette acidité s'expliquerait par l'utilisation répétée des produits phytosanitaires, des amendements organiques et par une pratique quasi-permanente de la culture maraîchère sur ces sols (**Touré et al., 2010**). Ces valeurs de pH seraient un avantage pour la culture des légumes en ce sens que la plupart des plantes cultivées poussent convenablement dans les sols acides à neutres ($5,5 < \text{pH} \leq 7$) (**Muhinda et al., 2009**). Ces différentes valeurs de pH obtenues sont semblables à celles obtenues par **Kouakou et al. (2019)** et **Muliele et al. (2017)** sur les sols des sites maraîchers de Port-Bouët (Côte d'Ivoire) et de N'djili CECOMAF de Kinshasa (RD Congo). L'activité de l'eau (A_w) étant important dans la qualité du sol, les valeurs des trois sites sont comprises entre 0,981 et 0,983 et favorisent un bon développement microbien et donc une très bonne activité des microorganismes des sols maraîchers. La matière organique joue un rôle principal dans la rétention des pesticides (**Guigon-Moreau, 2006**). Les taux de MO relevés dans l'étude dénotent d'un sol pauvre en MO, une fertilisation quasi-permanente et un travail du sol relativement intensif seraient à l'origine de ces faibles teneurs en MO (**Ben et al., 2008**). Ces faibles taux pourraient induire des déficiences de production et défavoriser la résistance aux facteurs de dégradation (**Nangah et al., 2012**). Les valeurs de MO obtenues dans notre étude sont inférieures à celles trouvées dans les sols de culture maraîchère par **Temgoua et al. (2015)** au Cameroun. Le rapport carbone/azote (C/N) étant un indicateur de qualité de la matière organique (**Genot et al., 2009**), les valeurs obtenues sont comprises entre 5 et 30. Selon ces mêmes auteurs, des teneurs de C/N inférieures à 20 témoignent des conditions favorables pour la minéralisation de la matière organique, ce qui suggère que la forte valeur de C/N (28,35) obtenue à Songon traduit une vitesse de minéralisation lente de la matière organique du sol de ce site.

Les valeurs des ions chlorures retrouvées dans l'étude sont très élevées traduisant une utilisation de pesticide à base de chlorure. Selon les résultats de **Muhinda et al. (2009)** qui montraient que des teneurs en calcium compris entre 2 et 4 cmole.kg⁻¹ sont faibles, les concentrations des bases échangeables obtenues se situant entre 0,45 et 0,57 cmole.kg⁻¹ indiquent les concentrations en calcium (Ca²⁺) et magnésium (Mg²⁺) relativement faibles, traduisant un déficit en élément nutritif pour les cultures. Cette faible teneur en cations basiques pourrait s'expliquer par l'acidité

(**Aikpokpodion, 2010**) et la faible teneur en MO des sols des sites d'étude. Les résultats obtenus dans notre étude sont supérieurs aux résultats des travaux de **Voko et al. (2013)** et **Kouadio et al. (2018)** mais en deçà de ceux trouvés par **Nandjui et al. (2013)**, **Akotto et al. (2014)**, **Akassimadou et al. (2014)** et **Ballot et al. (2016)**. Les résultats divergents constatés pourraient se justifier par la différence des conditions pédo-climatiques dans lesquelles se sont déroulées les essais.

La texture du sol évolue entre la texture sableuse et limon argilo-sableuse. Ces résultats corroborent ceux de **Kouakou et al. (2019)** qui indiquaient une texture sableuse des sols de culture maraîchère à Port-Bouët.

Concernant les concentrations de pesticide obtenus, l'étude a montré la présence de résidus de pesticide dans 79,67 % des sols étudiés. Ainsi, 20,33 % des sols ne contenaient pas de niveau détectable de résidus de pesticide. Nos résultats sont en contradiction avec ceux de **Kihampa et al. (2010)** qui avait détecté des résidus de pesticide dans 100 % des sols de culture de tomate en Tanzanie. Le glyphosate était détecté dans 26,95 % des sols avec une moyenne allant de $0,07 \pm 0,006$ à $0,015 \pm 0,012$ mg/ kg de sol. Malgré le fait que le glyphosate était le plus détecté dans les sols de culture, les concentrations des résidus de ce pesticide étaient les plus basses. On constate donc une contamination régulière mais assez faible des sols d'étude par le glyphosate. Cet état de fait s'expliquerait par une dégradation biologique ou photochimique de ce pesticide après application. Une fréquence d'application faible (environ 3 fois avant récolte) et un temps de remanence relativement faible (1,2 et 197,3 jours au niveau des sols agricoles et 1,4 à 60 jours au niveau des sols de forêts) pourraient également justifier les taux obtenus (**Geisy et al. 2000**). Les résultats des travaux de **Vreeken et al. (1998)** corroborent nos résultats. En effet, ces auteurs affirmaient que le faible taux de glyphosate des sols est du à sa dégradation en AMPA (acide aminométhylphosphonique), son majeur produit de dégradation. Les travaux de **Veiga et al. (2001)** et **Fosu-Mensah et al. (2016)** révélaient également des concentrations basses de glyphosate des sols un mois après traitement par le glyphosate. Les faibles teneurs de glyphosate obtenus s'expliqueraient donc par le caractère biodégradable de la molécule (**Kpan et al., 2018**).

En raison de sa toxicité élevée, la recherche de la cyperméthrine est d'une grande importance (**Garoiat et al., 2012**). La cyperméthrine était détectée dans 25,21 % des sols étudiés avec des moyennes variant de $0,028 \pm 0,02$ à $0,062 \pm 0,053$ mg/kg de sol. A l'instar du glyphosate, les teneurs de cyperméthrine étaient relativement faibles. Les sols étudiés indiquent un faible niveau de contamination par la cyperméthrine. L'hydrolyse de la liaison ester de la cyperméthrine qui

est la principale voie de dégradation de celle-ci et qui conduit à la formation de l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA) et de cyclopropanecarboxylique dérivés de l'acide (DCVA) expliquerait son faible taux dans nos échantillons de sol. Les valeurs de résidu de cyperméthrine obtenues dans notre étude sont en deçà des valeurs de 4,45 mg/kg trouvées par **Onuwa et al. (2017)** dans les sols de culture maraîchère au Nigeria. Une autre étude conduite par **Mahugija et al. (2017)** en Tanzanie sur les échantillons de sols de tomate ne révélait aucun résidu de cyperméthrine.

Le profénofos et la carbendazime étaient présents dans respectivement 24,34 % et 23,47 % des sols, leurs concentrations moyennes variaient de $0,068 \pm 0,067$ à $0,498 \pm 0,27$ mg/kg de sol et de $0,007 \pm 0,003$ à $0,012 \pm 0,007$ mg/kg de sol pour la carbendazime. Les plus grandes concentrations de résidus de pesticide obtenues dans notre étude sont celles de profénofos et les plus faibles valeurs de concentration obtenues sont celles de la carbendazime. Le profénofos étant un organophosphoré, sa détection dénoterait d'une utilisation récente à cause de leur instabilité (**Mahugija et al., 2017**). Aussi, les travaux de **Mambé-Ani et al. (2019)** qui mettaient en exergue plusieurs raisons dont l'utilisation excessive et le non-respect des doses recommandées pourraient expliquer les concentrations élevées de profénofos. Le profénofos est également formulé avec plusieurs autres molécules actives de pesticide, d'où sa forte teneur constatée. Les concentrations de profénofos dans cette étude sont supérieures à celles rapportées dans les études au Pakistan de **Rafique et al. (2016)** qui s'élevaient respectivement à 0,089 mg/kg et 0,06 mg/kg. Les taux relativement faibles de carbendazime trouvés pourraient être attribués à sa facilité à être biodégradé, photodégradé ou hydrolysé. Ces taux sont inférieurs à ceux trouvés par **Raheem et al. (2017)** à Basra en Irak (0,931 mg/kg). La présence des quatre résidus de pesticide dans les échantillons de sol de culture est due à un épandage résiduel d'un traitement ancien par ces pesticides, les prélèvements de sol s'étant déroulés un mois après épandage comme observé dans notre étude.

Les paramètres physicochimiques étudiés sont en général faiblement liés avec les résidus de pesticide indiquant ainsi une faible influence de ces paramètres sur les concentrations de pesticide. Les travaux de **Maïga et al. (2014)** sur l'utilisation et la présence des pesticides sur les propriétés du sol ont abouti à des résultats semblables. En effet ces auteurs n'ont pas trouvé de fortes corrélations entre les paramètres physicochimiques du sol et les résidus de pesticides tels que la cyperméthrine, le DDT, le profénofos, etc. Néanmoins nos résultats diffèrent de ceux de **Fosu-Mensah et al. (2016)** qui indiquaient une très forte corrélation entre les paramètres physicochimiques du sol et les résidus de pesticide dans leurs travaux. Toutefois, quelques caractéristiques tels que le pH, la matière organique, le carbone organique, l'humidité et l'azote

ont montré une corrélation particulièrement positive avec les résidus comme la cyperméthrine, le profénofos et la carbendazime, ce qui atteste de l'influence énorme de l'apport des résidus de pesticides sur la qualité physicochimique du sol (Vig *et al.*, 2001) et conforte la dépendance de l'adsorption des résidus de pesticide du sol à certains facteurs pédoclimatiques.

III.2.3 CONCLUSION PARTIELLE

L'étude a montré que les sols des trois zones de production présentent beaucoup de similitudes hormis quelques paramètres tels que la texture et le rapport C/N. Le diagnostic des sols de culture maraîchère a permis d'évaluer la contamination de ces sols par les pesticides étudiés. La présence de ces résidus de pesticide témoignent de l'ampleur de l'utilisation de ces pesticides dans la protection des légumes et représente un risque énorme pour l'environnement et les produits légumiers. Les résidus de pesticide détectés même en petite quantité constituent un risque sanitaire pour l'environnement sol (à cause des phénomènes de bioconcentration) et la population. Compte tenu des conséquences possibles qui peuvent émaner de leur présence dans les sols de culture, des mesures telles la biodégradation visant à éliminer et/ou réduire ces résidus de pesticides des sols devraient être implémentées en vue de protéger l'environnement et implicitement la santé de la population.

III.3 Identification microbiologique et moléculaire des bactéries isolées des sols

Cette étude a porté sur l'isolement, l'identification moléculaire des souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp* des sols de culture maraîchère. L'analyse de ces souches par les méthodes classiques et moléculaires a permis de confirmer de façon précise les isolats obtenus.

III.3.1 Résultats

III.3.1.1 Caractères phénotypiques des isolats bactériens isolés des sols

Après quarante huit heures (48) d'incubation, une observation des colonies obtenues a été faite. Des colonies jaunes et blanc-crèmes ont été isolées sur gélose mössel. Sur cette gélose supplémentée de jaune d'œuf, les colonies jaunes, visqueuses, sans halo clair opaque autour de la colonie ont été retenues (**Figure 23**). La présence des colonies jaunes sur la gélose Mossel est le signe de l'utilisation du mannitol par *Bacillus subtilis*. L'absence d'halo clair autour des colonies obtenues est signe d'une non utilisation de la lécithine du jaune d'œuf par les *Bacillus subtilis*, ce qui oriente vers l'espèce *Bacillus subtilis* qui est lécithinase (-) et mannitol (+). Ainsi, la mise en culture a permis de retenir 159 souches de *Bacillus subtilis*.

Au microscope, les isolats apparaissaient sous forme de batonnets (bacilles) colorés en violet. En effet, l'état frais a permis de voir des bacilles mobiles par ciliatures péritriches et une coloration violette caractéristique des bactéries gram positifs (BG(+)). Des tests d'orientation tels que la catalase et l'oxydase ont donné respectivement des réponses positives et variables (Présence et/ou absence). L'identification phénotypique classique et les méthodes biochimiques conventionnelles de ces isolats ont enfin permis d'identifier présomptivement cent treize (113) souches de *Bacillus subtilis* tout site confondu. Les résultats des tests biochimiques de *Bacillus subtilis* sont présentés dans **le tableau 15**.



Figure 23: Colonies pr\"esomptives de *Bacillus subtilis* sur g\"elose M\"ossel

Tableau 15: R\"esultats des caract\"eres biochimiques et morphologiques des souches de *Bacillus subtilis*

	Param\"etres biochimiques							Mobilit\'e
	Catalase	Oxydase	Ur\'ease	Citrate	L\'ecithinase	Mannitol	Gram	
R\'esultats								
Nombre de positifs	113	102	46	134	46	113	159	159
Pourcentage de positifs (%)	71,06	64,15	28,93	84,27	28,93	71,06	100	96,22
Nombre de n\'egatifs	46	57	113	25	113	46	0	0
Pourcentage de n\'egatifs (%)	28,94	35,85	71,07	15,73	71,07	28,94	0	0

N = 159 souches de *Bacillus subtilis*

Concernant l'isolement des *Pseudomonas sp* sur milieu cétrimide, les colonies beiges observées sur le milieu King B et absentes sur le milieu King A ont été retenues comme présomptives de *Pseudomonas sp* non *aeruginosa* (**Figure 24**). La mise en culture a donc permis de retenir 210 souches de *Pseudomonas sp*.

L'état frais de ces isolats a permis de voir des bactéries mobiles par ciliature polaire avec un ou plusieurs cils et la coloration de Gram a révélé des bacilles gram négatifs. L'absence de croissance à 42 °C a aussi favorisé le choix de ces isolats. L'oxydase et la catalase ont donné des réponses positives. Les tests d'identification préliminaire ont montré que les isolats appartiennent à *Pseudomonas sp*. En effet, ils apparaissent au microscope sous forme de batonnets colorés en rouge caractéristique des bactéries gram négatifs (BG(-)). L'identification phénotypique classique et les méthodes biochimiques conventionnelles de ces isolats ont permis d'identifier présomptivement cent trente cinq (135) souches de *Pseudomonas sp*.

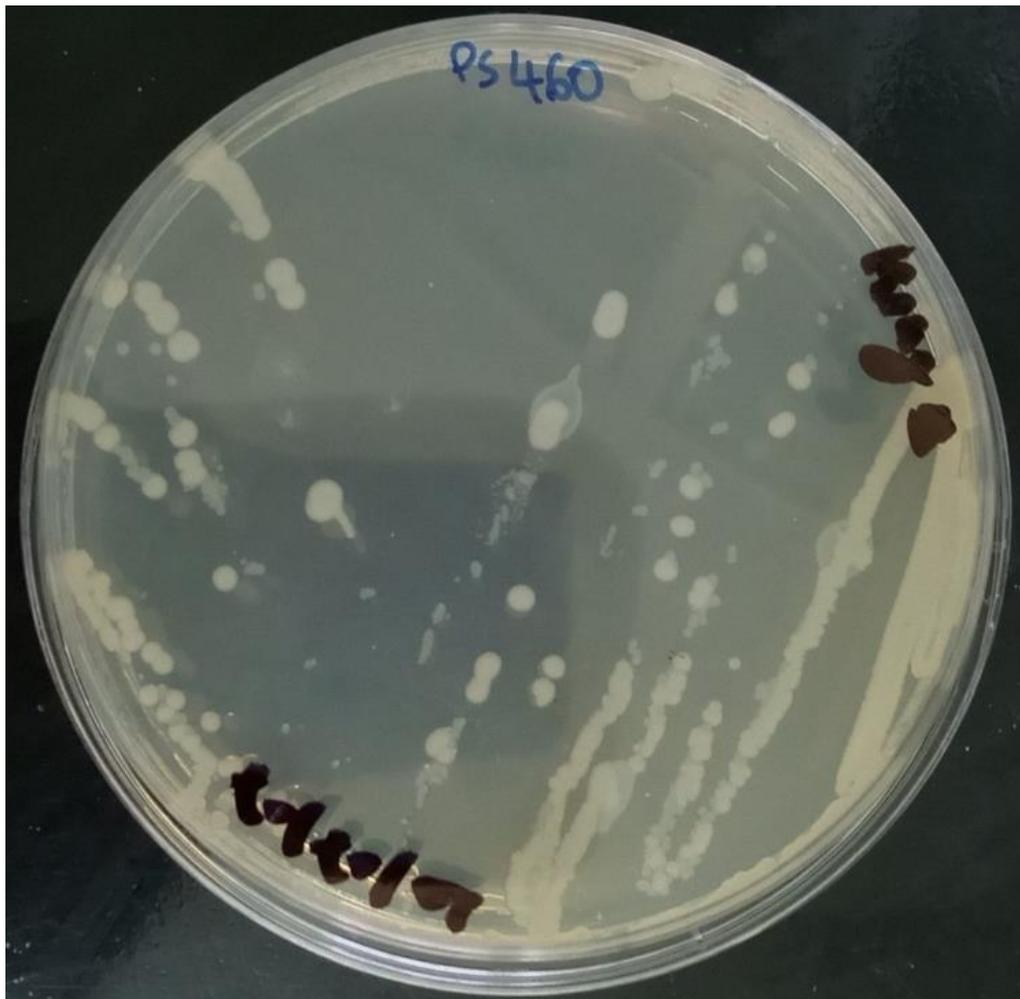


Figure 24: Colonies présomptives de *Pseudomonas sp* sur milieu King B

Au total cent trente cinq (135) *Pseudomonas sp.* (tout site confondu) étaient isolés et identifiés par les tests biochimiques, les résultats des tests biochimiques des souches de *Pseudomonas sp.* sont consignés dans le **(tableau 16)**.

Tableau 16: Résultats des caractères biochimiques et morphologiques des souches de *Pseudomonas sp.*

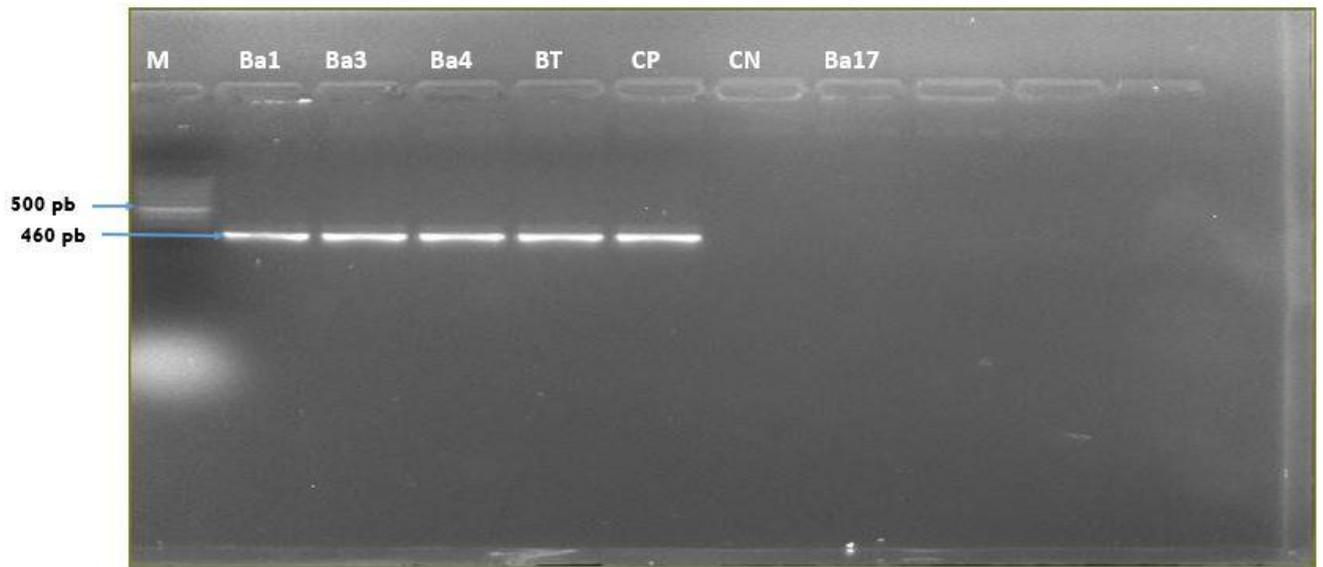
Résultats	Paramètres biochimiques						
	King B	King A	Catalase	Oxydase	Croissance à 42°C	Gram	Mobilité
Nombre de positifs	135	75	173	138	75	75	135
Pourcentage de positifs (%)	64,28	35,71	82,38	65,71	35,72	35,71	64,3
Nombre de négatifs	75	135	37	72	135	135	75
Pourcentage de négatifs (%)	35,72	64,29	17,62	34,29	64,28	64,29	35,7

N = 210 souches de *Pseudomonas sp.*

III.3.1.2 Caractérisation moléculaire des bactéries isolées des sols

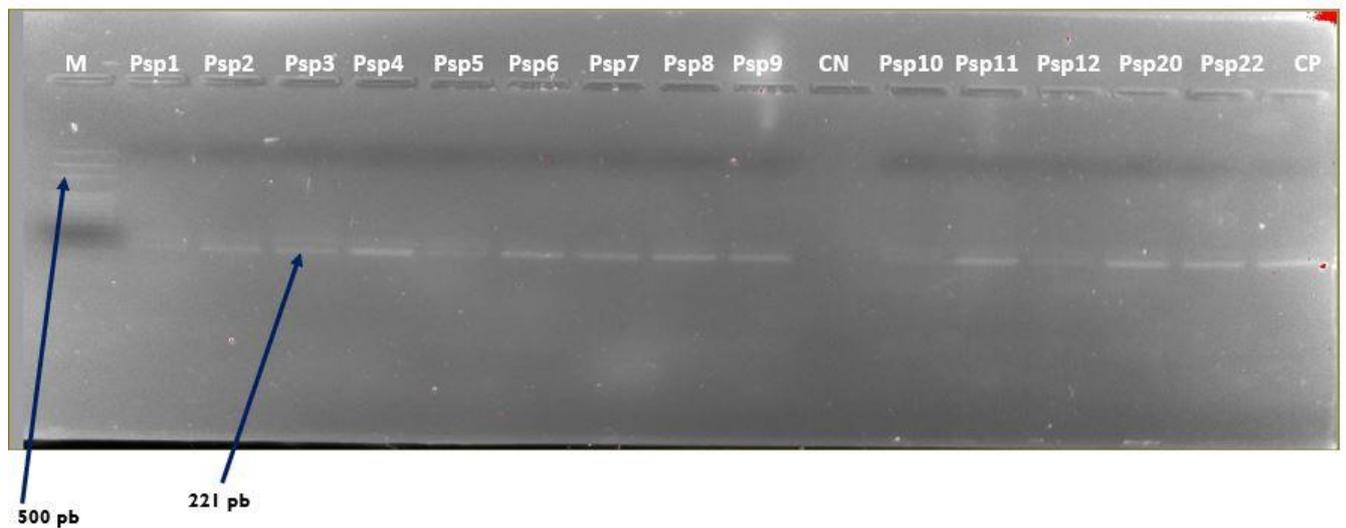
La méthode de biologie moléculaire étant discriminatoire, elle utilise les amorces spécifiques aux espèces bactériennes recherchées. Ainsi, elle a permis d'identifier uniquement *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* L'identification moléculaire des isolats a montré que ceux-ci appartiennent aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. Elle a ainsi permis de confirmer 56 souches de *Bacillus subtilis* ciblant le gène *ytcP* de 460 pb (**Figure 25**) sur cent treize (113) souches bactériennes isolées par les techniques classiques, soit 49,55 %. Quant à *Pseudomonas sp.*, seulement 86 souches ont été confirmées (**Figure 26**) sur cent trente cinq (135) souches isolées, soit un pourcentage de 63,7 %. Le gène ciblé dans le cas de la recherche de *Pseudomonas sp.* était le gène 16S de l'ARNr de la région V3-V4. Les résultats du nombre de souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* isolées par les méthodes classiques sur les trois sites d'étude ont montré qu'il n'y avait aucune différence significative entre les nombres de souches isolées par

sites selon le test de HSD au seuil (α) de 5%. **Le tableau 17** montre les résultats récapitulatifs de la culture et de la biologie moléculaire.



Colonne 1: M: marqueur de poids moléculaire (SmartLadder 1 KB (Eurogentec)); colonne 2, 3, 4, et 5 : échantillons positifs Ba1, Ba3, Ba4, BT; Colonne 6 : Contrôle positif CP(+); colonne 7: Contrôle négatif CN (-); colonne 8: échantillon négatif Ba17

Figure 25: Profil électrophorétique de *Bacillus subtilis* sur gel d'agarose à 1,5 %



Colonne 1: M: marqueur de poids moléculaire (SmartLadder 1 KB (Eurogentec)); colonne 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15,16: échantillons positifs Psp1, Psp2, Psp3, Psp4, Psp5, Psp7, Psp8, Psp9, Psp10, Psp11, Psp12, Psp20, Psp22 Colonne 17 : Contrôle positif CP(+); colonne 11: Contrôle négatif CN(-)

Figure 26: Profil électrophorétique de *Pseudomonas sp.* sur gel d'agarose à 1,5 %

Tableau 17: Résultats récapitulatifs de la culture et de la PCR

	Souches bactériennes	
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas sp</i>
Nombre d'isolats obtenus par les tests biochimiques	113	135
Nombre d'isolats identifiés par la PCR	56	86

III.3.2 DISCUSSION

L'étude a permis d'isoler et d'identifier les souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp.* des sols de culture maraîchère. Les résultats obtenus montrent que ces sols sont bien colonisés par ces deux espèces bactériennes. Les deux espèces bactériennes isolées sont ubiquitaires (**Bouhairi, 2017, Maxime, 2014, Perdu, 2013**), elles se retrouvent donc naturellement dans les sols. Le pH des sols étudiés a varié entre 5 et 6,45, ce qui indique que ces sols ont un pH acide. Ces pH acides sont favorables au développement des microorganismes telluriques comme *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* (**Kebé et al., 2009, Chen et al., 2012, Amin et al., 2015, Koua, 2020**). Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de **Diaw et al. (2018)** et de **Kumar et al. (2020)** qui ont montré que la rhizosphère de plants de tomate, d'oignon et d'aubergine abrite plusieurs espèces de *Pseudomonas* et de *Bacillus*.

Il n'existe pas de différence significative entre les taux de bactéries isolées et identifiées des différents sites d'étude, cela serait dû au fait que les producteurs maraîchers ont les mêmes pratiques culturales et que les sols maraîchers des différents sites d'étude ont presque les mêmes propriétés agropédologiques (**Kouakou et al., 2019**). Les méthodes biochimiques ont permis d'identifier au total cent treize (113) souches pures de *Bacillus subtilis* et cent trente cinq (135) souches pures de *Pseudomonas sp.* tandis que la biologie moléculaire a permis d'identifier précisément 56 souches de *Bacillus subtilis* sur 113 isolées et 86 souches de *Pseudomonas sp.* sur 135 isolées. Une infériorité du nombre de microorganismes obtenu en biologie moléculaire est observée autant chez *Bacillus subtilis* que chez *Pseudomonas sp.* Il y a une différence entre les résultats de la culture et ceux de la biologie moléculaire. Les pourcentages de positifs obtenus

dans notre étude étaient de 49,55 % et 63,7 % respectivement pour *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* Les résultats obtenus dans notre étude sont inférieurs à ceux de **Rhoads et al. (2012)** qui étaient de 59 %, 63 % et 78 %. Par contre, nos valeurs étaient supérieures à ceux de **Prakash et al. (2014)** qui étaient de 5,97 % de positivité. La différence dans les résultats de la culture et de la biologie moléculaire pourrait s'expliquer par la sensibilité élevée de la méthode moléculaire. La technique de PCR utilisée dans notre étude a permis de faire une identification précise des souches bactériennes isolées par les méthodes culturales. Il en ressort des résultats obtenus que la biologie moléculaire a diminué considérablement le nombre de souches bactériennes isolées. Ces résultats s'accordent parfaitement avec ceux obtenus par **Nikbin et al. (2007)** et **Gholami et al. (2016)** qui montraient que la biologie moléculaire contribue à une identification plus précise des souches bactériennes. A partir des sols de culture maraîchère, un très grand nombre de souches bactériennes ont été identifiées traditionnellement par les méthodes culturales, ces méthodes classiques sont réalisées sur la base des caractères morphologiques, biochimiques et métaboliques de ces microorganismes. Plusieurs auteurs dont **Pace (1996)** et **Bassin et al. (2017)** ont montré que lors de la culture sur milieux solide, certains groupes bactériens sont favorisés et/ou inhibés par rapport à d'autres, et que seule une infime partie des microorganismes soit 1 % peut être cultivée. Selon ces auteurs, les méthodes culturales ne peuvent représenter tous les microorganismes qui sont réellement présents dans les sols. Le nombre élevé de bactéries obtenu dans la méthode culturale serait dû à d'autres bactéries autres que celles recherchées qui ont montré une croissance sur les milieux sélectifs utilisés et qui sont étroitement liées à celles recherchées dans notre étude (**Theodorakopoulos, 2013 ; Gholami et al., 2016**).

III.3.3 CONCLUSION PARTIELLE

L'analyse des sols de culture maraîchère a permis de faire une biocollection des souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* issus des sols de culture maraîchère. Malgré le fait que ces sols sont soumis à répétition aux pesticides et constituent ainsi un écosystème rude, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* sont présents dans ces sols rhizosphériques de légumes. L'étude a montré que les sols de culture maraîchère sont fortement colonisés par *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* Après les techniques de microbiologie classique (microscopie, tests phénotypiques, test d'orientation, etc.), la biologie moléculaire a permis de constituer une collection de cinquante six (56) souches de *Bacillus subtilis* sur cent treize (113) souches isolées et quatre vingt six (86) souches de *Pseudomonas sp.* sur cent trente cinq (135) isolées.

III.4 Biodégradation du glyphosate et de la cyperméthrine

III.4.1 Résultats

III.4.1.1 Test de tolérance

Les résultats du test de tolérance ont concerné l'action des pesticides sur les deux espèces bactériennes testées. La capacité de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp.* à tolérer les pesticides à différentes concentrations s'était traduite par l'absence de zonation traduisant une croissance ou une multiplication bactérienne sur toute la surface des boîtes de pétri. A l'inverse, la présence de zonation ou halo visible autour des puits de pesticide traduisait une action inhibitrice de la molécule de pesticide sur l'espèce bactérienne testée ce qui traduisait une sensibilité des espèces bactériennes à la molécule de pesticide (**Figure 27B**). La présence de zonation correspondant à une zone d'inhibition. Dans les tests de tolérance effectués, les diamètres de zonation n'ont pas été mesurés mais plutôt une observation des effets des pesticides sur les espèces bactériennes a été effectuée. La méthode de diffusion utilisée a donné des résultats qualitatifs particulièrement intéressants.

Les résultats du test de tolérance des souches bactériennes en présence du glyphosate indiquent que seulement neuf (9) souches de *Bacillus subtilis* et dix-huit (18) souches de *Pseudomonas sp.* ont montré une bonne tolérance vis-à-vis du glyphosate à toutes les concentrations. Les concentrations élevées de glyphosate (360 mg/L et 200 mg/L) ont sévèrement inhibées les autres souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* testées. Les résultats indiquent aussi que les concentrations de glyphosate supérieures à 360 mg/L sont considérées comme inhibitrices pour les souches bactériennes testées. Les résultats du test de tolérance des souches bactériennes en présence de cyperméthrine indiquent que six (6) souches de *Bacillus subtilis* et onze (11) souches de *Pseudomonas sp.* ont montré une bonne tolérance vis-à-vis de la cyperméthrine à toutes les concentrations. Une inhibition a été observée chez de nombreuses souches bactériennes pour les concentrations élevées de pesticide (50 mg/L et 40 mg/L pour la cyperméthrine et 360 mg/L et 200 mg/L pour le glyphosate). En définitif, les résultats du test de tolérance ont montré que seulement 6 souches de *Bacillus subtilis* soit 10,71 % des souches testées ont été capables de tolérer les différentes concentrations des 2 pesticides utilisés en ne présentant pas de zone claire autour des puits de pesticide. Bien au contraire, elles ont pu croître sur toute la surface des boîtes de pétri contenant les pesticides (**Figure 27A**). Ces 6 souches de *Bacillus subtilis* considérées comme performantes ont été nommées comme suit: Ba1, Ba2, Ba3, Ba4, Ba5, BT. Quant à *Pseudomonas sp.*, 11 souches soit 17,47 % des souches testées ont

été capables de croître sur les boîtes de pétri contenant les 2 pesticides testés. Ces 11 souches de *Pseudomonas sp.* considérées comme performantes ont été nommées comme suit: Psp1, Psp2, Psp3, Psp4, Psp5, Psp6, Psp7, Psp8, Psp9, Psp10 et Psp11. Le test de tolérance a montré que les souches bactériennes testées tolèrent moins les concentrations élevées de pesticide (**Tableaux 18 et 19**). Au vu des résultats obtenus, on constate que les concentrations de glyphosate et de cyperméthrine supérieures à 360 mg/L et 50 mg/L respectivement peuvent être considérées comme inhibitrices. Aussi, 89,29 % des souches de *Bacillus subtilis* et 82,53 % des souches de *Pseudomonas sp.* testées ont montré une sensibilité aux deux pesticides testés indiquant ainsi une incapacité de ces souches à tolérer ces pesticides, ces bactéries considérées comme "non performantes" n'ont donc pas été retenues pour la suite des travaux.

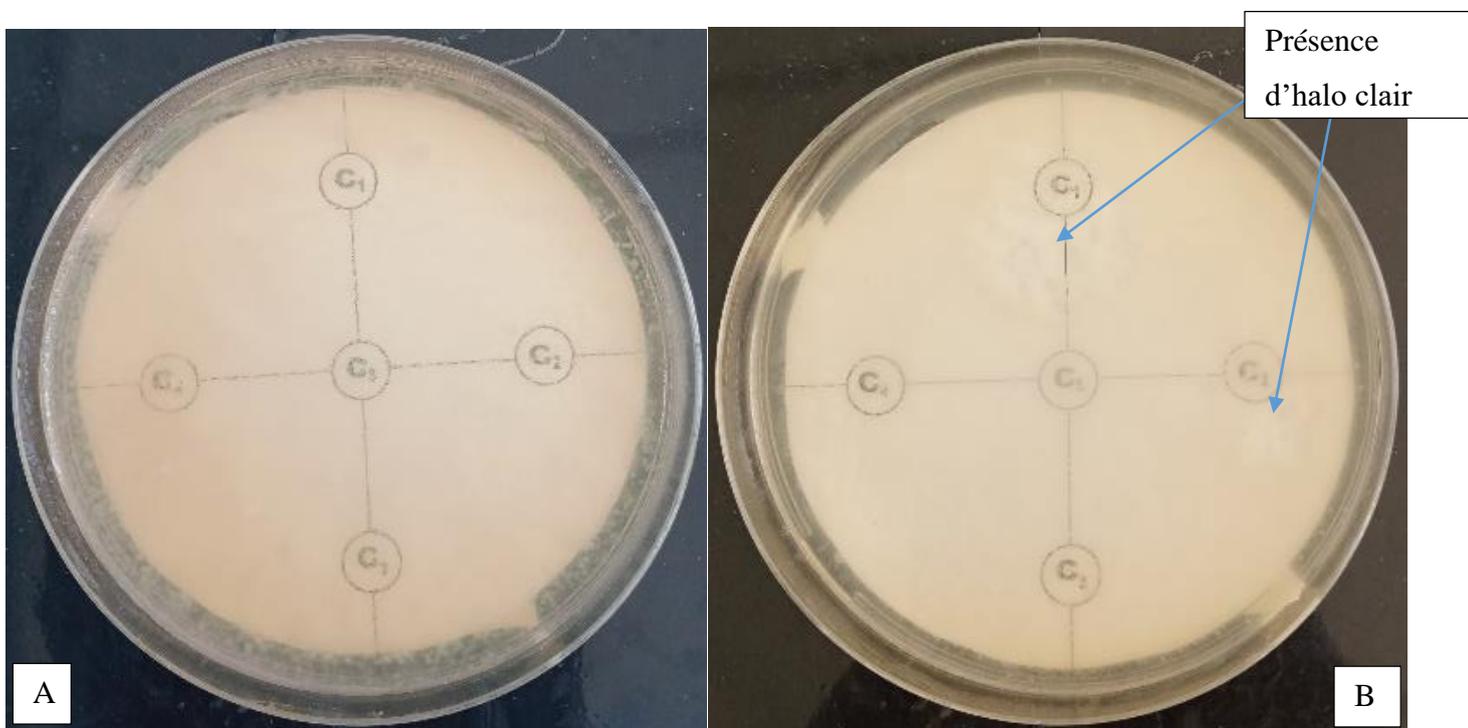


Figure 27: Mise en évidence de la tolérance des souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* sur milieu LB. (A): croissance de la souche BT en présence des différentes concentrations de glyphosate . (B): Zone d'inhibition induite par la souche Psp15 en présence des différentes concentrations de cyperméthrine.

Les tableaux 18 et 19 représentent les profils de tolérance ou de sensibilité de 56 souches de *Bacillus subtilis* et de 86 souches de *Pseudomonas sp.* en présence des différentes concentrations de glyphosate et de la cyperméthrine. Les souches bactériennes ont été ensemencées par étalement sur la gélose LB contenant des puits de glyphosate à 360 mg/L, 200 mg/L, 150 mg/L, 100 mg/L et 50 mg/L et de cyperméthrine à 50 mg/L, 40 mg/L, 30 mg/L, 20 mg/L et 10 mg/L. les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C. Le suivi de la tolérance et/ou de l'inhibition des souches bactériennes vis-à-vis des pesticides a débuté dès les 24 heures d'incubation. La tolérance ou la sensibilité des souches bactériennes a été évaluée par observation des effets du pesticide sur les bactéries. La tolérance de ces souches bactériennes a ainsi été évaluée par la présence ou l'absence d'halo clair autour des puits de pesticide. Les résultats des **tableaux 18 et 19** présentent les résultats qualitatifs de la lecture interprétative de la présence ou l'absence de halo clair autour des concentrations de pesticide. Cette absence ou présence de halo signifie une tolérance ou une inhibition (sensibilité) des souches de *Bacillus subtilis* ou de *Pseudomonas sp.* vis-à-vis des concentrations glyphosate. En effet, une observation traduisant la présence ou l'absence d'halo clair autour des concentrations des puits de pesticide indiquait une action inhibitrice ou non de la molécule de pesticide à l'égard des microorganismes. Sur 56 souches de *Bacillus subtilis* testées, 6 ont montré une très bonne tolérance à toutes les concentrations de glyphosate et cyperméthrine en croissant sur toute la surface des boîtes de pétri. Sur 86 souches de *Pseudomonas sp.*, 11 souches ont montré une très bonne tolérance à toutes les concentrations de glyphosate et de cyperméthrine en croissant sur toute la surface des boîtes de pétri. Au total, 6 souches de *Bacillus subtilis* et 11 souches de *Pseudomonas sp.* ont été retenues pour la suite des travaux.

Tableau 18: Résultats du test de tolérance des souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp.* en présence des différentes concentrations de glyphosate

Souches	Concentration Glyphosate (mg/L)				
	360	200	150	100	50
bactériennes					
<i>Bacillus subtilis</i>	9/56	15/56	27/56	41/56	56/56
<i>Pseudomonas sp.</i>	13/86	21/86	32/86	67/86	81/86

Tableau 19: Résultats du test de tolérance des souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp.* en présence des différentes concentrations de cyperméthrine

Souches	Concentration Cyperméthrine (mg/L)				
	50	40	30	20	10
bactériennes					
<i>Bacillus subtilis</i>	6/56	11/56	20/56	33/56	51/56
<i>Pseudomonas sp.</i>	11/86	19/86	27/86	53/86	72/86

III.4.1.2 Résultats de la biodégradation des pesticides par *B. subtilis* et *P. sp.*

Dans ce chapitre, la capacité de dégradation de 17 souches (dont 6 *Bacillus subtilis* et 11 *Pseudomonas sp.*) en présence du glyphosate et de la cyperméthrine à différentes concentrations a été étudiée ainsi que celle du consortium bactérien (*Bacillus subtilis* + *Pseudomonas sp.*). L'effet de l'apport des nutriments comme le glucose, le sucrose et l'amidon sur la dégradation a également été étudié. Lors des essais de dégradation *in vitro* du glyphosate et de la cyperméthrine à différentes concentrations, il n'a pas été constaté de changement de coloration du milieu MM pouvant interférer la lecture de la densité optique lors de la croissance bactérienne. Aussi il a été constaté une production de gaz lors des essais traduisant la minéralisation des pesticides testés. Les résultats des tests de dégradation *in vitro* ont montré que les souches bactériennes sélectionnées sont capables d'utiliser et de dégrader individuellement le glyphosate et la cyperméthrine comme substrat de croissance dans le milieu MM. Cependant, les efficacités de dégradation diffèrent d'une souche à une autre. **Le tableau 20** indique le pourcentage de dégradation pour chaque souche testée et montre que toutes les souches possèdent les capacités de dégrader les deux pesticides testés. Les résultats indiquent que toutes les souches bactériennes testées dégradent le glyphosate et la cyperméthrine. On observe une différence entre les pourcentages de dégradation des souches bactériennes testées. Dans le cas des taux de dégradation, Nous avons observé une grande variabilité, montrant que chaque souche bactérienne testée utilise différemment les molécules de pesticides. Bien que certaines souches ont montré un taux de dégradation modéré, six (6) souches bactériennes ayant les capacités de dégradation les plus importantes se sont distinguées par leur meilleur taux de dégradation allant de 76,05 % à 93,01 % en 168 H quelque soit le pesticide testé. Il s'agit de trois souches de *Bacillus subtilis*: BT, Ba1, Ba3 et de trois souches de *Pseudomonas sp.*: Psp5, Psp6 et Psp9. Les autres souches bactériennes ont eu des capacités de dégradation modérées avec des taux de dégradation inférieurs à 70 %. Les résultats obtenus montrent que quelque soit le pesticide utilisé (glyphosate ou cyperméthrine), les souches bactériennes ont la capacité de le dégrader. Elles ont ainsi dégradé 78,33 % à 93,01 % de glyphosate à 50 mg/L et 70,6 5% à 90 % de la cyperméthrine à 10 mg/L à 168 heures.

Les résultats soulignent également que les souches de *Bacillus subtilis* dégradent mieux le glyphosate que la cyperméthrine. La souche de *Bacillus subtilis* BT a montré une meilleure capacité à dégrader le glyphosate et la cyperméthrine par rapport aux autres souches. Les valeurs des taux de dégradation rapportées indiquent que seulement six (6) souches bactériennes ont obtenu les meilleurs taux de dégradation. On note par ailleurs que les taux de dégradation

du glyphosate par les souches bactériennes sont plus élevés que ceux obtenus dans le cas de la cyperméthrine pour les mêmes souches bactériennes, aussi, ces taux de dégradation varient au cas par cas.

Tableau 20: Pourcentage de dégradation du glyphosate à 50 mg/L et de la cyperméthrine à 10 mg/L sur milieu minimum (MM) à 25 °C après 168 heures d'essai

Souches bactériennes	Glyphosate 50 mg/L		Cyperméthrine 10 mg/L	
	Absorbance : 265 nm	Pourcentage (%) de dégradation	Absorbance : 480 nm	Pourcentage (%) de dégradation
Contrôle	1,445		1,445	
Ba1	0,13	91	0,157	89,13
Ba2	0,909	37,09	1,011	30,03
Ba3	0,178	87,68	0,256	82,28
Ba4	0,701	51,48	0,884	38,82
Ba5	1,022	29,27	1,142	20,96
BT	0,101	93,01	0,144	90,03
Psp1	0,70	51,55	0,757	47,61
Psp2	0,725	49,82	0,861	40,41
Psp3	0,726	49,75	0,977	32,38
Psp4	0,580	59,86	1,129	21,86
Psp5	0,14	90,31	0,242	83,25
Psp6	0,313	78,33	0,424	70,65
Psp7	0,476	67,05	0,584	59,58
Psp8	1,012	29,96	1,135	21,45
Psp9	0,288	80,06	0,346	76,05
Psp10	0,864	40,20	0,896	37,99
Psp11	1,125	22,14	1,153	20,20

Les souches bactériennes ont été cultivées dans le milieu minimum liquide (MM) supplémenté de glyphosate à 50 mg/L et à 360 mg/L et de cyperméthrine à 10 mg/L et 50 mg/L à 25 °C. Les essais ont été réalisés en triple dans les mêmes conditions que celles décrites plus haut. Les résultats représentent les moyennes obtenues pour trois répétitions après 168 heures d'expérimentation. Les différences significatives entre les différentes modalités du tableau sont évaluées avec le test HSD pour $p < 0,05$. Les valeurs du tableau représentent les moyennes des taux de dégradation du glyphosate à 50 mg/L et 360 mg/L et de la cyperméthrine à 10 mg/L et 50 mg/L des six souches bactériennes ayant obtenues les meilleurs taux de dégradation. Les résultats du **tableau 21** indiquent qu'aux fortes concentrations de pesticide (glyphosate 360 mg/L et cyperméthrine 50 mg/L), les taux de dégradation sont faibles. Par contre, aux faibles concentrations de pesticide (glyphosate 50 mg/L et cyperméthrine 10 mg/L), les taux de dégradation sont à leur maximum. Cela montre l'influence des concentrations élevées de pesticide sur les taux de dégradation et *in fine* sur l'activité et la croissance des souches bactériennes. Les résultats soulignent les limitations de la biodégradation en lien avec les fortes concentrations. Ainsi, il y a donc un lien entre les taux de dégradation et les concentrations de pesticide. Il existe une différence significative entre les moyennes des taux de dégradation des souches bactériennes à faible concentration de pesticide (glyphosate et cyperméthrine) et les moyennes des taux de dégradation des souches bactériennes aux fortes concentrations de pesticide (glyphosate et cyperméthrine). Les moyennes des taux de dégradation des pesticides testés sont présentées dans **le tableau 21**.

Tableau 21: Pourcentage de dégradation du glyphosate à 50 mg/L et 360 mg/L et de la cyperméthrine à 50 mg/L et 10 mg/L par les microorganismes testés

Concentration pesticide	BT	Ba1	Ba3	PSP5	PSP6	PSP9
Cyperméthrine 10 mg/L	90,03±1,24 ^a	89,13±0,86 ^a	82,28±1,28 ^a	83,25±2,06 ^a	70,65±1,26 ^a	76,05±1,05 ^a
Cyperméthrine 50 mg/L	32,85±0,95 ^b	30,64±0,72 ^b	23,73±0,85 ^b	30,46±0,45 ^b	20,19±1,01 ^b	23,12±0,63 ^b
Glyphosate 50 mg/L	93,01±1,91 ^a	91±0,70 ^a	87,68±1,07 ^a	90,31±1,36 ^a	78,33±1,42 ^a	80,06±0,96 ^a
Glyphosate 360 mg/L	36,08±1,03 ^b	28,70±0,77 ^b	20,16±1,17 ^b	23,16±0,28 ^b	13,19±0,22 ^b	20,5±1,09 ^b

les moyennes affectées de la même lettre (a, b) sur la même colonne ne présentent pas de différence significative au seuil de 5 % (test HSD)

Les souches bactériennes ont été cultivées dans un milieu de base (milieu minimum) supplémenté de cyperméthrine à 10 mg/L. Les valeurs dans les graphes représentent les cinétiques de croissance pour chacune des six souches bactériennes ayant présentées un meilleur taux de dégradation. La croissance des souches bactériennes est suivie par la mesure de la DO à 600 nm avec un spectrophotomètre UV visible. Les souches bactériennes ont été cultivées dans un milieu de base (milieu minimum) supplémenté de glyphosate à 50 mg/L à 25 °C. Les résultats représentent les moyennes de DO₆₀₀ obtenues pour trois répétitions. A chaque intervalle cinétique de mesure indiqué dans **la figure 28 et 29** (24h, 48h, 72h, 96h, 120h, 144h, 168h), la croissance des souches bactériennes a été évaluée par mesure de la DO λ= 600 nm. Les valeurs de DO des différentes figures obtenues qui varient entre 0,56 et 2 (dans le cas de la cyperméthrine) (**Figure 28**) et 0,56 et 2,5 (dans le cas du glyphosate) (**Figure 29**) représentent les cinétiques de croissance des souches bactériennes en présence du glyphosate et de la cyperméthrine respectivement à 50 mg/L et 10 mg/L. Les taux maxima de croissance obtenus sont DO= 2,4 et 2,1 pour *Bacillus subtilis* BT en présence respective de glyphosate et de cyperméthrine. Les taux minima de croissance obtenus sont DO = 1,3 et 1 pour *Pseudomonas sp.* Psp6 en présence respective de glyphosate et de cyperméthrine. De toutes les souches de *P. sp.*, Psp5 a eu la meilleure croissance à savoir DO = 1,7 et 1,5 en présence de glyphosate et de

cyperméthrine respectivement. Les courbes de cinétique de croissance bactérienne (**Figure 28 et 29**) indiquent qu'elles avaient la même allure et n'avaient pas de phase de latence. Dès le début de l'expérience, on constate une phase de démarrage qui correspond à une légère phase exponentielle et qui part de 0 à 48 h, puis une phase exponentielle de 48 h à 96 h pour atteindre le pic de croissance maximale bactérien à 96 h, cette phase indique une croissance rapide de la biomasse et un profil de croissance bactérienne où la croissance est à son maximum à 96 h. Après 96 heures, il s'ensuit une décroissance jusqu'à la fin de l'expérimentation (168 h) se traduisant par une baisse de la concentration de la biomasse. Le contrôle non inoculé n'a montré aucun changement dans la concentration de la biomasse. Les forts taux de dégradation indiquent que toutes les souches de *B. subtilis* et *Pseudomonas sp.* étaient capables de croître sur milieu MM en présence des différentes concentrations de glyphosate et de cyperméthrine en les utilisant comme substrats. L'allure des courbes montrent que toutes les six (6) souches bactériennes testées se comportent de la même manière vis-à-vis des pesticides testés. Les souches bactériennes testées ont été capables de croître dans un milieu de base très pauvre en nutriment en utilisant la cyperméthrine et le glyphosate comme seule source de carbone et d'énergie.

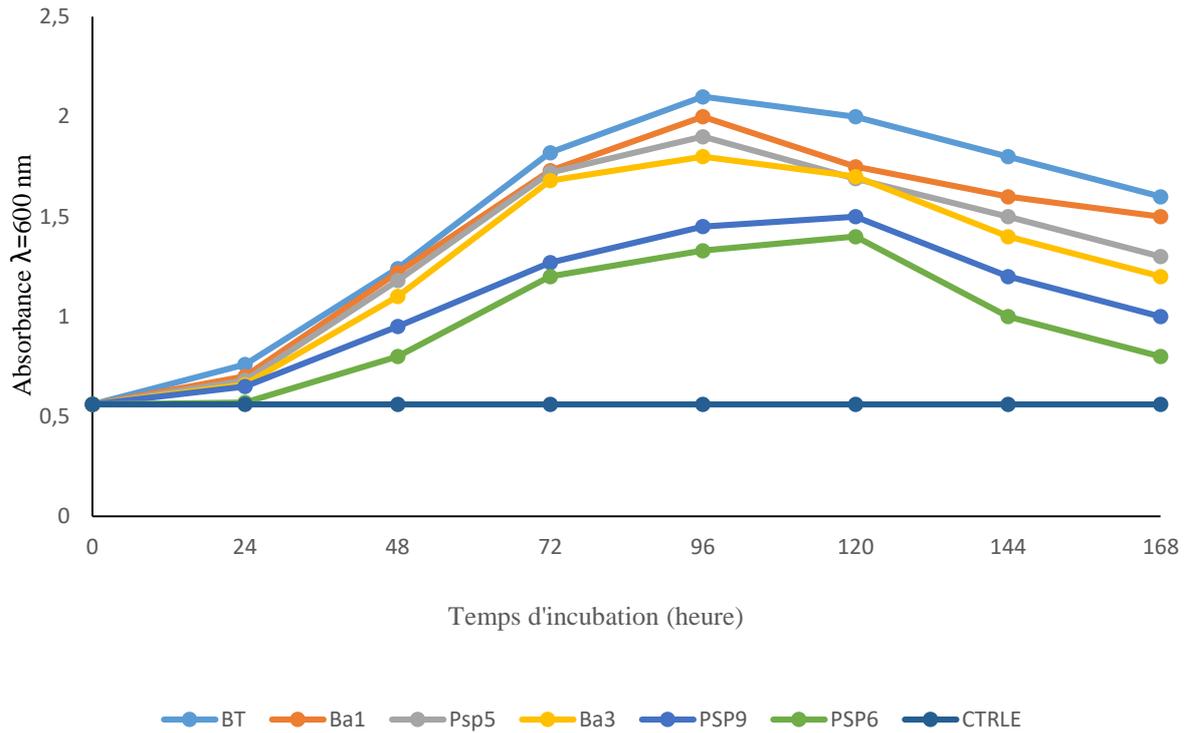


Figure 28: Cinétique de croissance des souches bactériennes sur milieu MM en présence de la cyperméthrine à 10 mg/L comme seule source de carbone et d'énergie à 25 °C pendant 168 heures

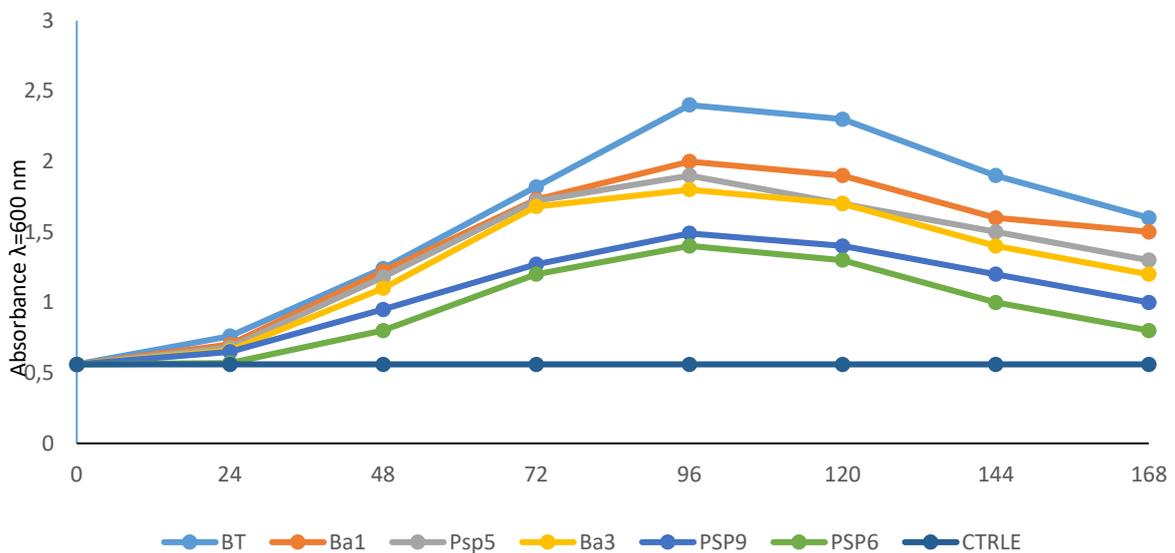


Figure 29: Cinétique de croissance des souches bactériennes sur milieu MM en présence du glyphosate à 50 mg/L comme seule source de carbone et d'énergie à 25 °C pendant 168 heures

Les résultats des graphes **30A**, **30B**, **31A** et **31B** représentent les moyennes obtenues pour trois essais, le suivi de la dégradation des pesticides par les souches bactériennes a été évalué par mesure de la Densité Optique à 600 nm avec un spectrophotomètre UV visible. Le suivi de la décroissance du glyphosate a été effectué à la Densité Optique à 265 nm pour le glyphosate et celui de la cyperméthrine à la Densité Optique à 480 nm avec un spectrophotomètre UV visible. **Les figures 30 et 31** représentent les courbes de croissance des deux meilleures souches de *Bacillus subtilis* (BT) et *Pseudomonas sp.* (Psp5) et celles de la réduction du glyphosate et de la cyperméthrine résiduels à 50 mg/L et 10 mg/L dans le milieu MM. Les résultats indiquent la croissance des souches bactériennes et la diminution du glyphosate et de la cyperméthrine résiduelle dans le milieu MM. On peut observer que pendant les 168 heures d'essai, la concentration du glyphosate et de de la cyperméthrine n'a cessé de diminuer pendant que la biomasse augmentait, ce qui atteste de l'utilisation du glyphosate et de la cyperméthrine par les souches bactériennes pour leur croissance. La souche bactérienne *Pseudomonas sp.* Psp5 a montré la plus faible croissance dans le milieu MM enrichi à la cyperméthrine à 10 mg/L comparé à la souche de *Bacillus subtilis* BT. Les résultats obtenus montrent également qu'au fur et à mesure que la concentration des souches bactériennes augmente, le glyphosate et la cyperméthrine résiduels dans le milieu MM diminuent. La croissance bactérienne et la quantité de pesticide restant dans le milieu sont donc inversement proportionnelles. On observe ainsi une parfaite corrélation entre la diminution des molécules de pesticide et la croissance bactérienne. **Les figures 30 et 31** indiquent qu'il y a eu une utilisation de la cyperméthrine et du glyphosate par les deux bactéries au cours des 24 à 96 heures. Ce qui se traduit par une augmentation correspondante de la biomasse et qui s'est accompagnée par une dégradation de la cyperméthrine et du glyphosate. A la fin des 168 heures d'expérimentation, presque la totalité de la cyperméthrine et du glyphosate avait été utilisée. Ainsi, on peut en déduire que le glyphosate et la cyperméthrine ont été dégradés par les souches de *Bacillus subtilis* (BT, Ba1, Ba3) et *Pseudomonas sp.* (Psp5, Psp6, Psp9) testées en 168 heures à des concentrations respectives de 50 mg/L et 10 mg/L, en les utilisant comme source de carbone et d'énergie. Les graphes soulignent aussi que les souches bactériennes testées dans le milieu contenant la cyperméthrine à 10 mg/L ont montré un bref retard de croissance comparé au milieu contenant le glyphosate à 50 mg/L. Les souches testées utilisent le glyphosate et la cyperméthrine comme source de carbone et d'énergie pour leur croissance.

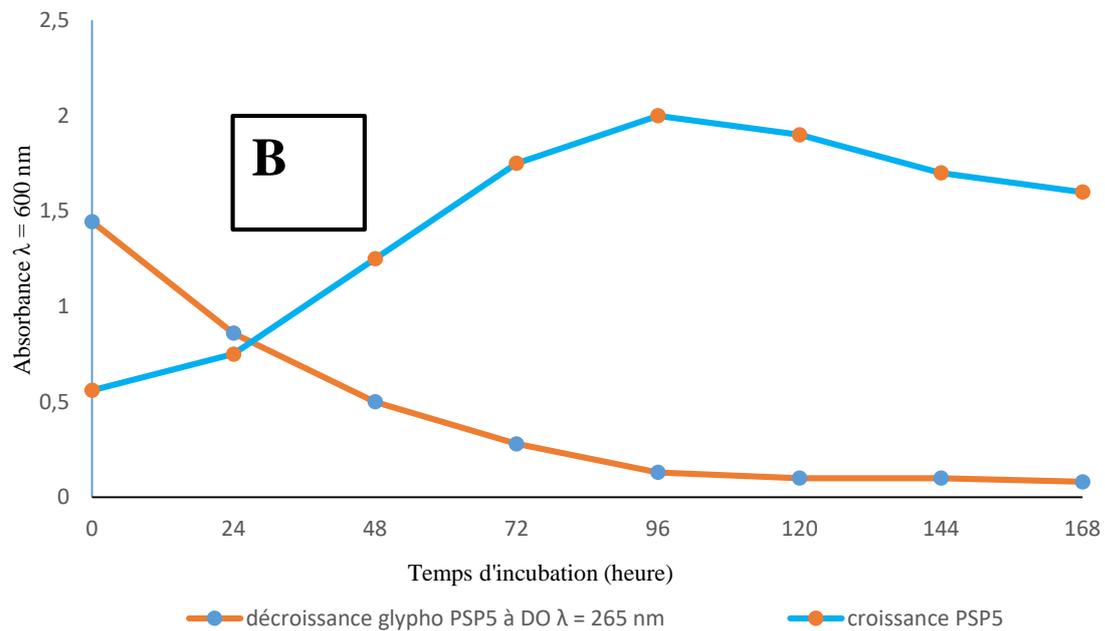
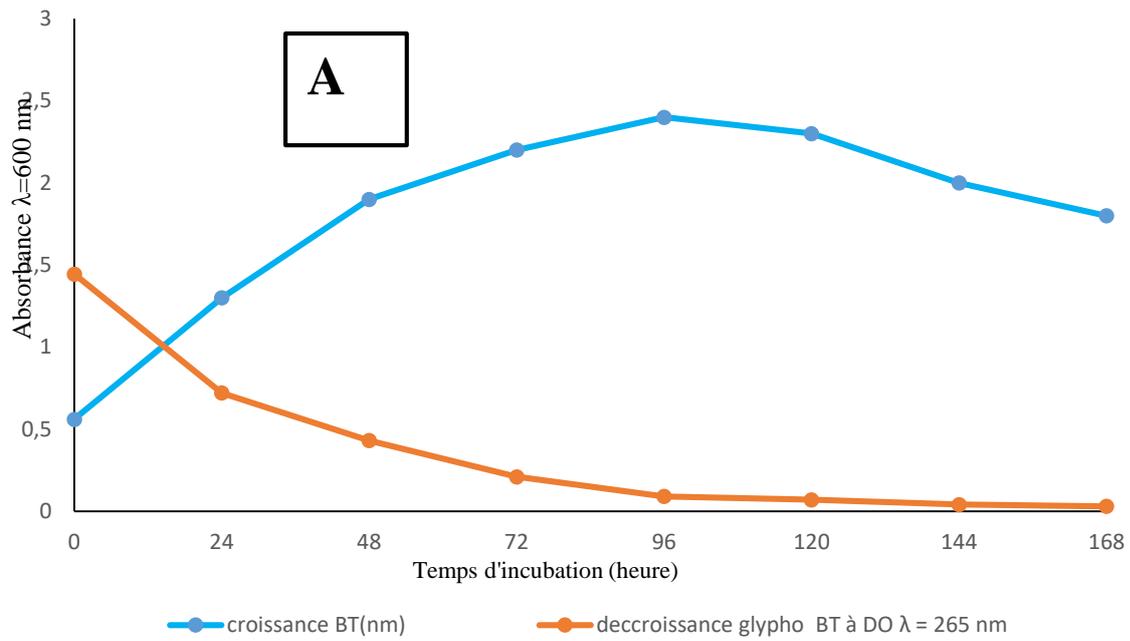


Figure 30: Courbe de la croissance des souches de *Bacillus subtilis* BT [A] et *Pseudomonas* sp. Psp5 [B] et suivi de la dissipation du glyphosate à 50 mg/L à 25 °C pendant 168 heures

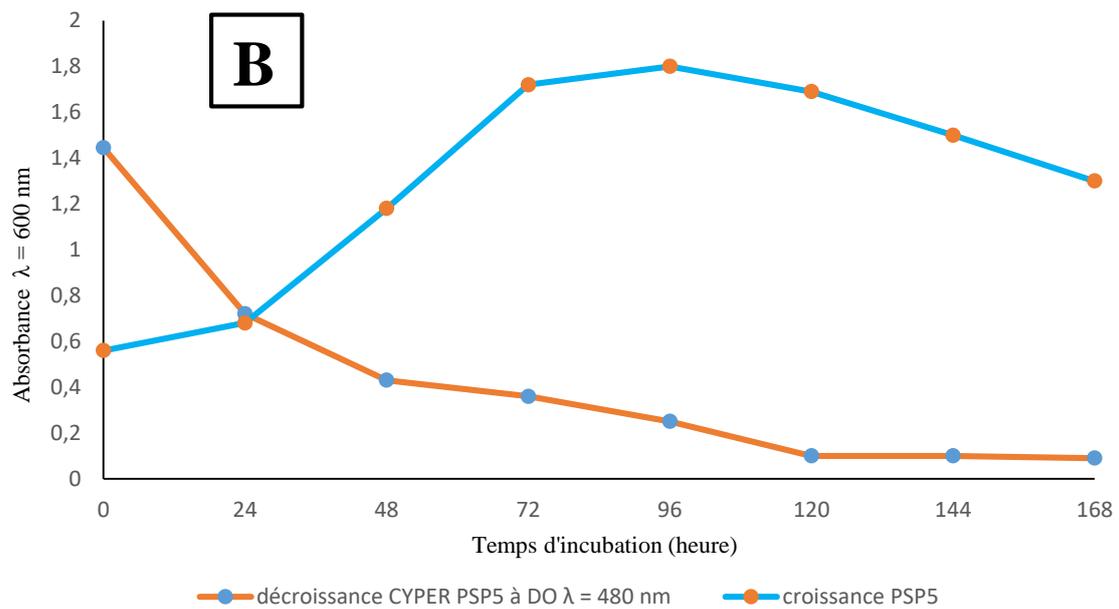
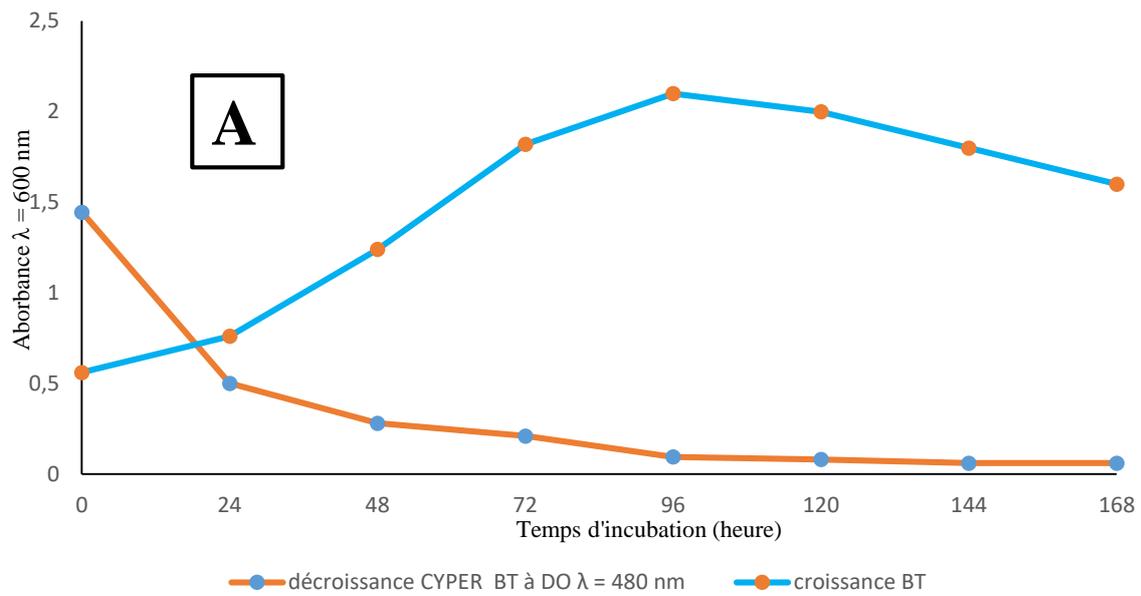


Figure 31: Courbe de la croissance des souches de *Bacillus subtilis* BT [A] et de *Pseudomonas* sp. Psp5 [B] et suivi de la dissipation de la cyperméthrine à 10 mg/L à 25 °C pendant 168 heures

III.4.1.3 Effet des différentes concentrations de pesticides sur la biodégradation

Les différentes concentrations de pesticides (**Figures 32A et 32B**) ont montré une très bonne croissance bactérienne pour les concentrations de pesticide les plus faibles aussi bien pour le glyphosate (50 g/L) que pour la cyperméthrine (10 g/L). En effet, les souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp.* testées ont montré un meilleur taux de dégradation dans le milieu MM ayant de faibles concentrations de pesticide que dans le milieu MM ayant les concentrations les plus élevées de pesticides. La dégradation a été significative ($p < 0,05$) dans le milieu MM contenant les faibles concentrations de pesticide. Les fortes concentrations de glyphosate (360 et 200 g/L) et de cyperméthrine (50 et 40 g/L) ont influencé négativement le taux de dégradation des souches bactériennes testées. Néanmoins, ces souches testées sont capables de dégrader modérément des concentrations élevées de pesticides (360 g/L pour le glyphosate et 50 g/L pour la cyperméthrine). Le taux de dégradation maximal était atteint à des valeurs de concentrations de pesticides les plus faibles (10 g/L et 50 g/L) respectivement pour la cyperméthrine et le glyphosate suivi des valeurs les moins faibles (20 g/L et 100 g/L) (**Figures 32A et 32B et 33**). Le taux de dégradation le plus élevé (93,01 %) a été observé chez la souche de *Bacillus subtilis* BT dans le milieu MM qui contenait la plus faible concentration de glyphosate (50 g/L).

Au vu de nos résultats, nous constatons que les taux de dégradation maxima (93,01 % ; 91 %) ont été atteints à des concentrations de pesticides faibles et cela quel que soit le pesticide testé. Les concentrations élevées de glyphosate et de cyperméthrine sont donc toxiques pour toutes les souches testées dans notre étude. Cette toxicité se traduit par un ralentissement de l'activité bactériennes. En effet, les profils de croissance des souches bactériennes testées dans le milieu avec des concentrations de glyphosate et de cyperméthrine les plus élevées (360 mg/L et 50 mg/L) étaient les plus bas. De ce fait, on peut affirmer que les concentrations de 360 mg/L de glyphosate et 50 mg/L de cyperméthrine représentent les concentrations minimales inhibitrices pour les souches bactériennes testées.

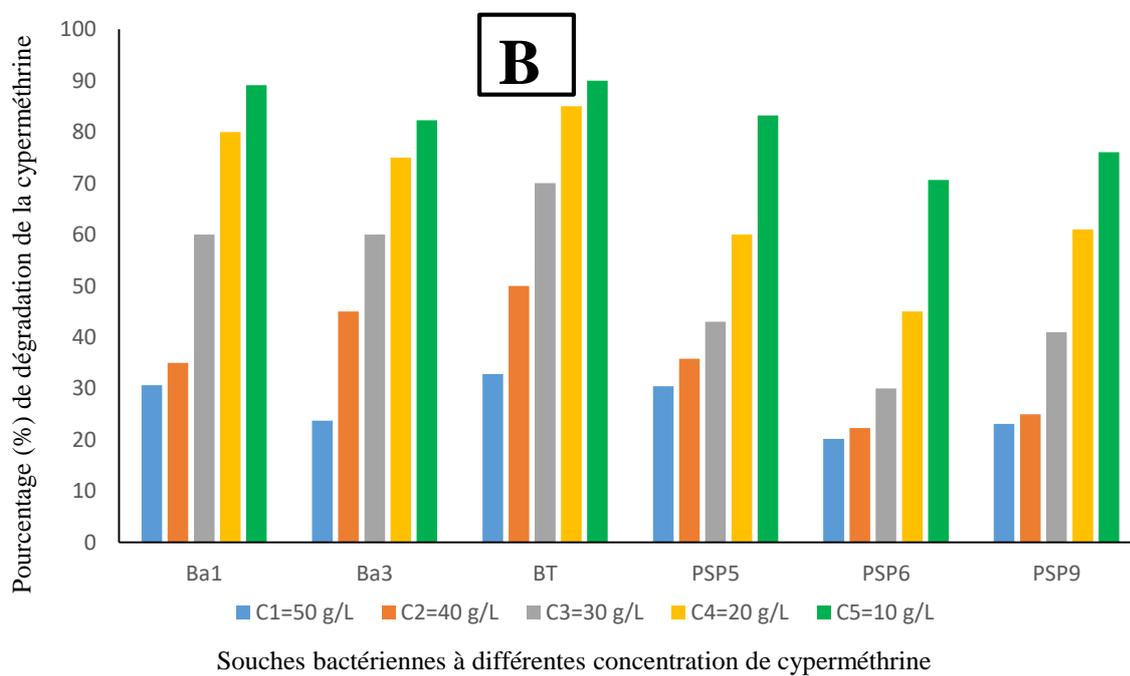
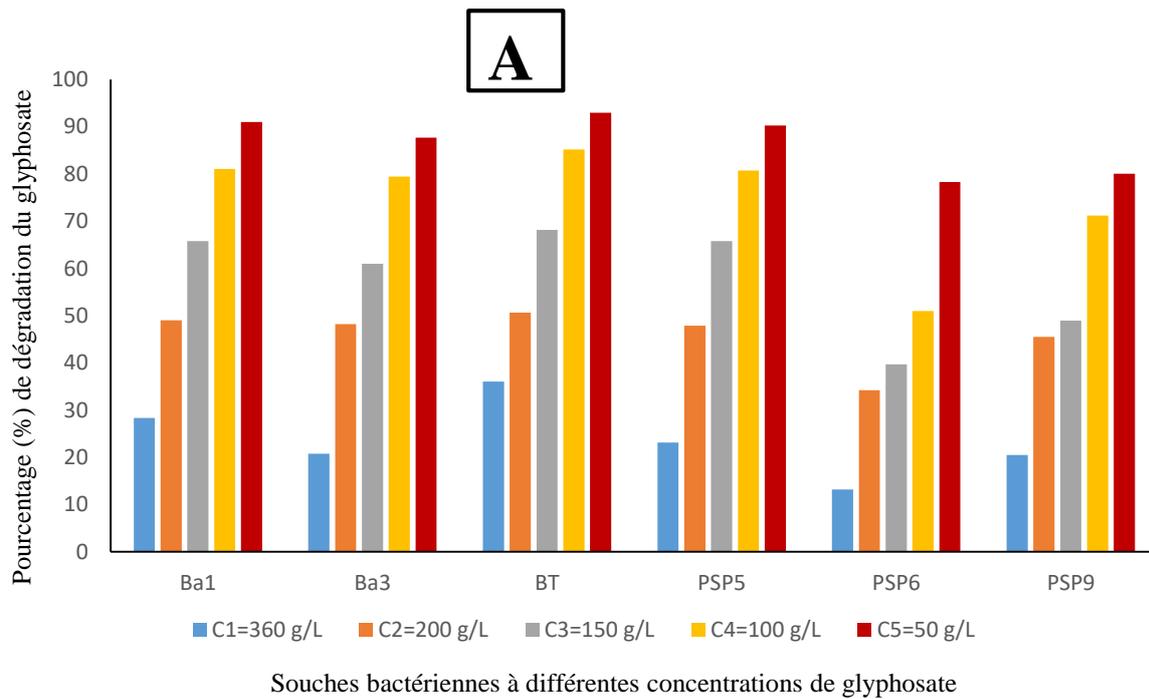


Figure 32: Effet des différentes concentrations de glyphosate [A] et de cyperméthrine [B] sur le taux de dégradation des souches bactériennes à 25 °C pendant 168 heures

Les résultats rapportés dans la **figure 33** représentent les pourcentages de dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine des deux souches les plus performantes (BT et Psp5) après 168 heures d'incubation à 25 °C en présence des différentes concentrations des molécules testées dans les conditions décrites plus haut. En effet, les souches les plus performantes ayant eu les meilleurs taux de dégradation sont comparées entre elle. Le graphe montre donc une comparaison entre les deux taux de dégradation de la souche de *Bacillus subtilis* BT et de la souche *Pseudomonas* Psp5. Eu égard au taux de dégradation le plus élevé de 93,01 % obtenu par la souche de *Bacillus subtilis* BT et au fait qu'elle a eu les taux les plus élevés à toutes les concentrations, cette souche de *bacillus subtilis* BT est considérée comme la souche la plus performante de l'étude quelque soit le pesticide et la concentration considérés. En effet, la souche de *Bacillus subtilis* BT dégrade mieux les deux pesticides que la souche de *Pseudomonas sp.* Psp5. On observe par ailleurs que le taux de dégradation est à son maximum (93,01% et 90,31 % respectivement pour la souche BT et Psp5) lorsque les concentrations de pesticide sont faibles (50 mg/L et 10 g/L et à son minimum (36,08 % et 23,13 %) respectivement pour BT et Psp5 lorsque les concentrations de pesticides sont élevées (360 g/L et 50 g/L). La figure montre également un effet inhibiteur des concentrations élevées de glyphosate et de la cyperméthrine sur la croissance bactérienne. Les résultats de la figure indiquent que les taux de dégradation de la cyperméthrine sont plus faibles (90,03 % pour BT et 83,25 % pour Psp5) que ceux du glyphosate (93,01 % pour BT et 90,31 % pour Psp5), suggérant que la cyperméthrine est moins bien dégradée par les deux souches.

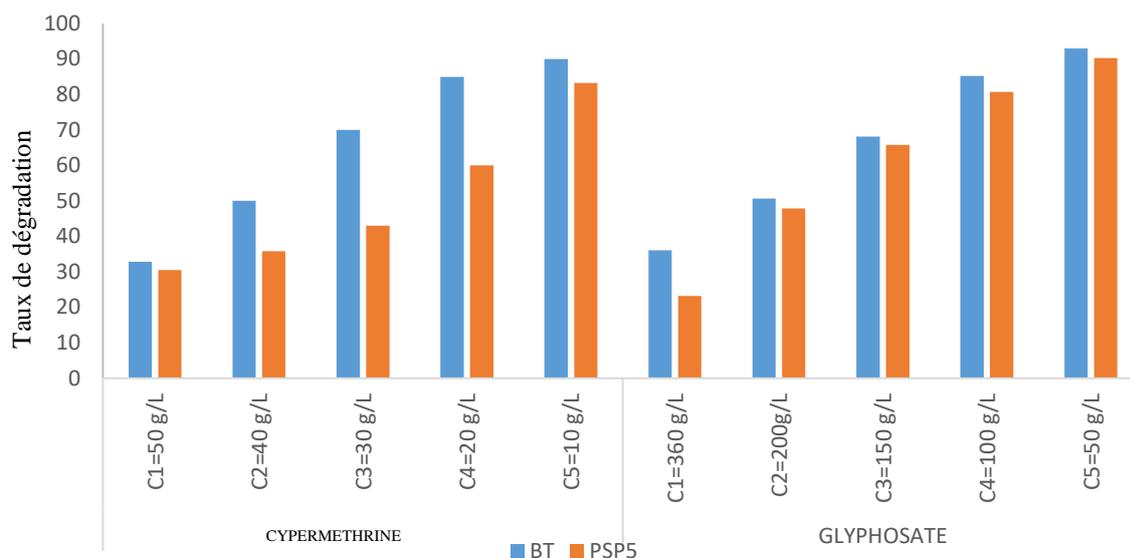
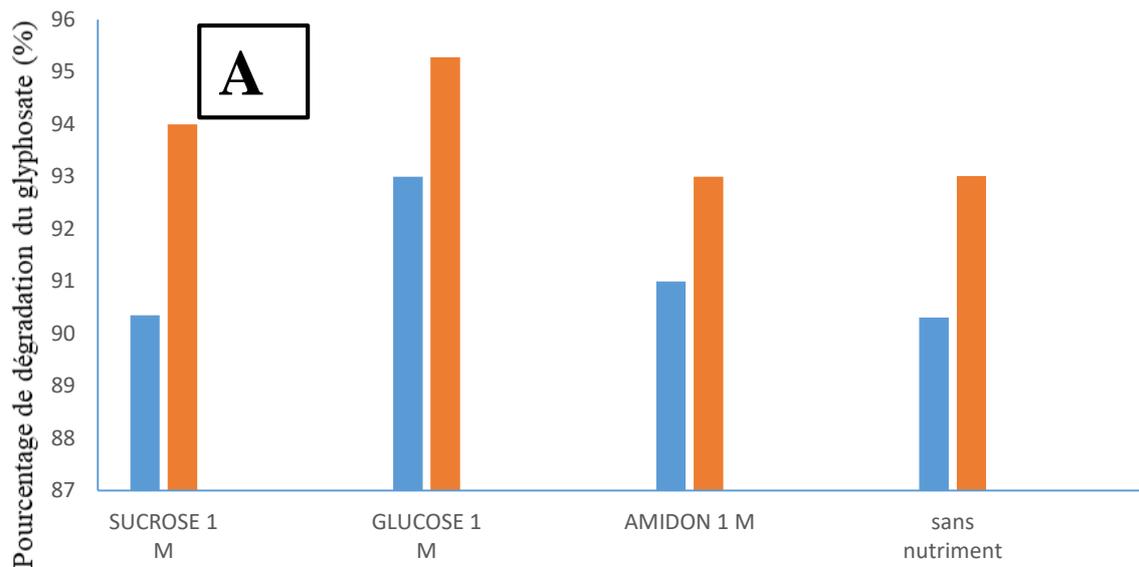


Figure 33: Comparaison du taux de dégradation des souches de *Bacillus subtilis* BT et *Pseudomonas sp.* Psp5 sur le milieu minimum en présence des différentes concentrations de glyphosate et de cyperméthrine à 25 °C après 168 heures d’essai.

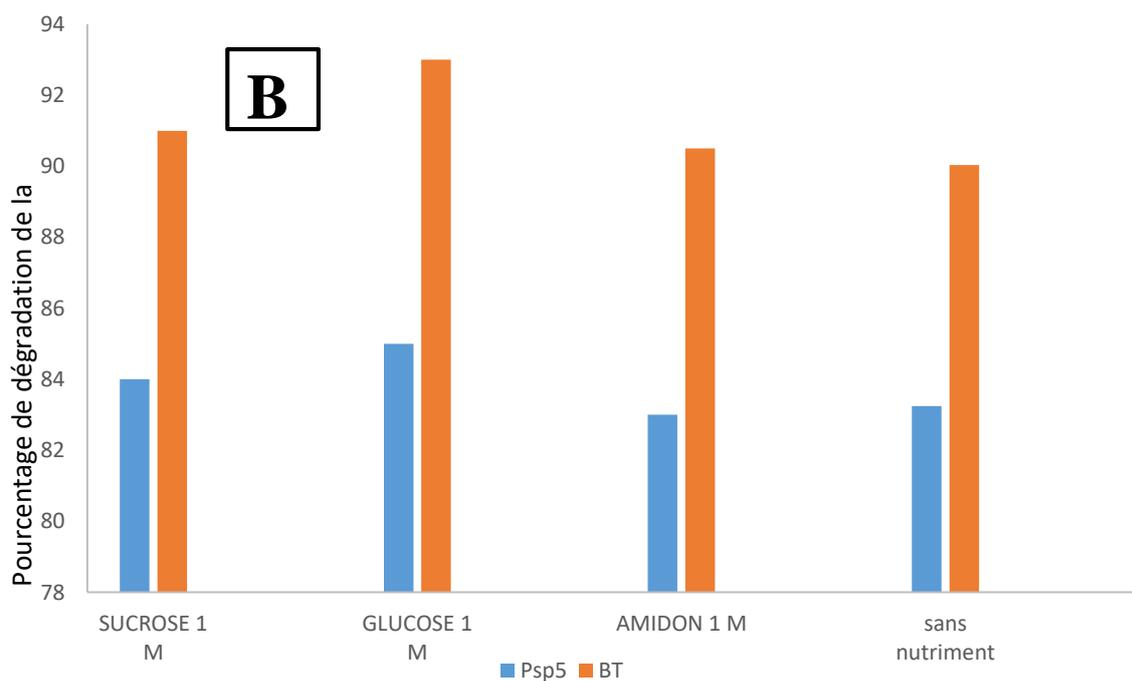
III.4.1.4 Effet des nutriments sur la biodégradation

Les figures 34A et 34B présentent la croissance de deux souches bactériennes en présence du sucrose, glucose et de l’amidon dans le milieu minimum supplémenté de glyphosate et de cyperméthrine. Les souches bactériennes ayant eu les meilleurs taux de dégradation ont été utilisées pour faire les tests de dégradation avec apport de nutriments dans le milieu minimum. L’apport des nutriments tels que le glucose, le sucrose et l’amidon à 1 M dans le milieu MM a influencé positivement la dégradation. Les résultats ont montré un taux de dégradation significatif ($P < 0,05$) dans le milieu supplémenté de glucose que dans le milieu MM sans nutriments. L’apport de nutriments surtout le glucose a amélioré la croissance bactérienne ainsi que le taux de dégradation et cela quelque soit le pesticide testé. Les taux de dégradation des pesticides dans le milieu minimum ont relativement augmenté de 1 % à 5 % selon la nature du nutriment ajouté. Le meilleur taux de dégradation (95,28 %) a été atteint avec l’ajout du glucose avec la souche de *Bacillus subtilis* BT en présence de glyphosate. L’efficacité de la biodégradation des pesticides a donc augmenté avec l’ajout de sources de carbone supplémentaires.



Bactéries en présence de nutriments sur milieu MM+ glyphosate à 50 g/L

■ Psp5 ■ BT



Bactéries en présence de nutriments sur milieu MM+ cyperméthrine à 10 g/L

Figure 34: Effets des nutriments sur le taux de dégradation par la souche de *Bacillus subtilis* BT et *Pseudomonas sp.* Psp5 à 25 °C après 168 heures d'essai sur milieu MM supplémenté de glyphosate[A] et de cyperméthrine [B]

III.4.1.5 Effet du consortia bactérien sur la dégradation

Les consortia bactériens ont été inoculés dans le milieu MM supplémenté de glyphosate à 50 mg/L à 25 °C et de cyperméthrine à 10 mg/L. Les essais ont été réalisés en triple. Le suivi du taux de dégradation des souches bactériennes du consortium bactérien a été effectué par mesure de la Densité Optique à 265 et 480 nm pour le glyphosate et la cyperméthrine avec un spectrophotomètre UV visible. Les souches bactériennes qui ont présenté un meilleur taux de dégradation individuel ont été utilisées pour voir leur capacité de dégradation en association.

La capacité du consortium à dégrader le glyphosate et la cyperméthrine dans le milieu minimum a été ainsi suivie. Les résultats de **la figure 35** indiquent que les taux de dégradation ont été considérablement améliorés par l'utilisation du consortia bactériens. En effet, certains taux de dégradation ont connu une amélioration de plus de 7 %. C'est le cas du taux du consortium des souches (BT+Psp5) en présence du glyphosate à 50 g/L qui est passé à 98 % alors que seules, la souche Psp5 avait un taux de 90,31 % tandis que la souche BT avait un taux de 93,01 %. Ces taux étaient passés respectivement à 93 % et 95,28 % pour les souches Psp5 et BT en présence du glucose. Tous les taux de dégradation ont été améliorés avec l'utilisation du consortia bactériens. Le plus faible taux de dégradation (87,73 %) a été obtenu avec le consortia (B3 +Psp6) en présence de cyperméthrine. Ces deux souches (B3 et Psp6) ont été les moins performantes depuis le début de l'expérimentation. L'utilisation du consortia bactériens dans la biodégradation a beaucoup plus amélioré les taux de dégradation que dans le cas de l'utilisation des nutriments. L'étude du taux de dégradation du consortia bactériens (*Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.*) sur le milieu MM additionné des différentes concentrations de pesticide a donné les meilleurs taux de dégradation de l'étude (98,83 %) pour le consortium (BT et Psp5) en présence du glyphosate. En effet, le consortia bactériens constitué de BT et Psp5 a été capable de dégrader presque la totalité du glyphosate testé à hauteur de 98,83 %. Il a ainsi favorisé la meilleure croissance bactérienne et conduit ainsi à une augmentation considérable du taux de dégradation bactérien. Le consortium bactérien (BT+Psp5) a montré un développement significatif ($P < 0,05$) dans la dégradation du glyphosate.

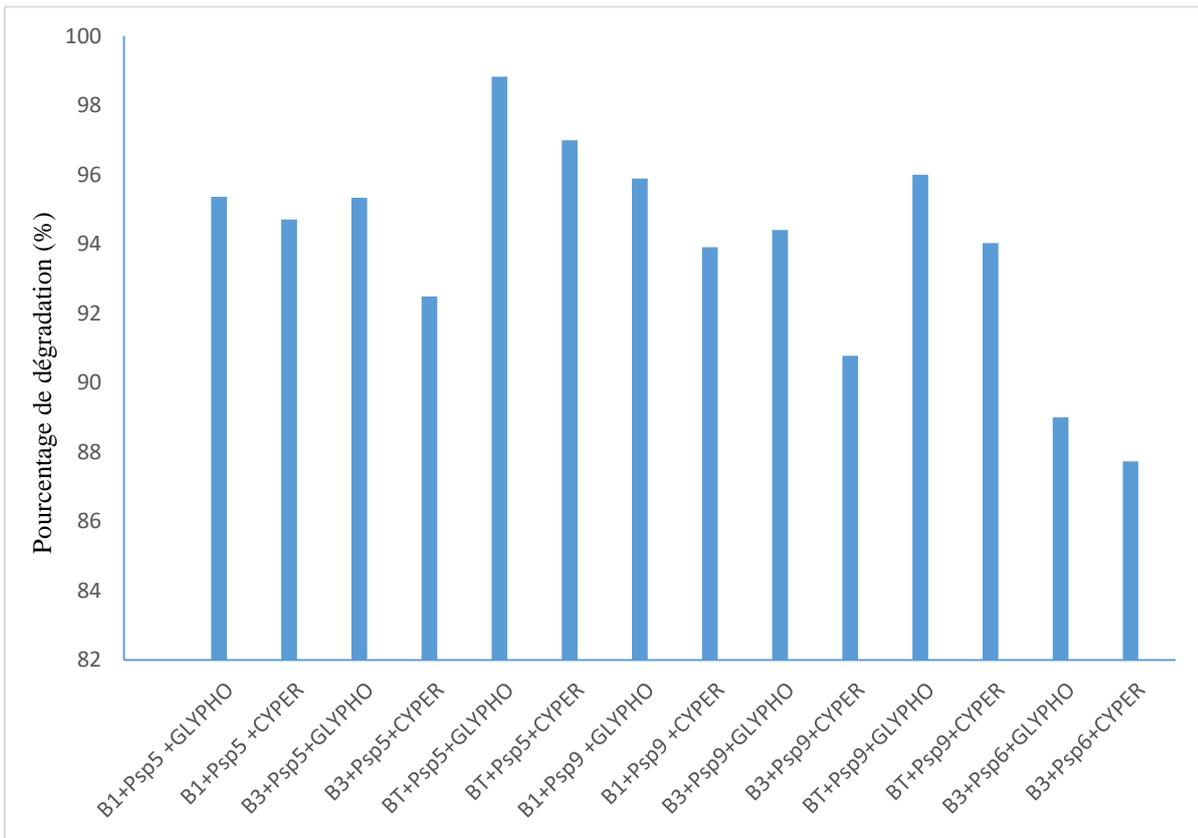


Figure 35: Effet du consortium bactérien sur le taux de dégradation du glyphosate (50 g/L) et de la cyperméthrine (10 g/L) à 25 °C après 168 heures d’essai

III.4.1.6 Métabolites principaux issus de la dégradation des pesticides

Pour confirmer la dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine, les composés biodégradés ont été analysés, une analyse chromatographique du milieu MM pour la recherche des principaux métabolites à H₀ et à H₁₆₈ a été effectuée par HPLC. Le métabolite principal du glyphosate qui est l'acide amino-méthyl phosphonique (AMPA) et celui de la cyperméthrine qui est l'acide 3-phénoxybenzoïque (3PBA) ont été extraits et confirmés par HPLC selon le protocole décrit au **chapitre II.2.5**. Les résultats ont montré la présence effective des métabolites principaux de dégradation et renseignent sur la voie de dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine dans notre étude. **Les figures 36 et 37** représentent les chromatogrammes des métabolites principaux que sont l'acide amino-méthyl phosphonique (AMPA) et l'acide 3-phénoxybenzoïque (3PBA) obtenus en début d'expérimentation à H₀ et à la fin de l'expérimentation à 168 heures à 25 °C avec le glyphosate à 50 mg/L et la cyperméthrine à 10 mg/L pour la souche BT. Les chromatogrammes des témoins et de la souche de *Pseudomonas sp* Psp5 se trouvent en **Annexe 8**.

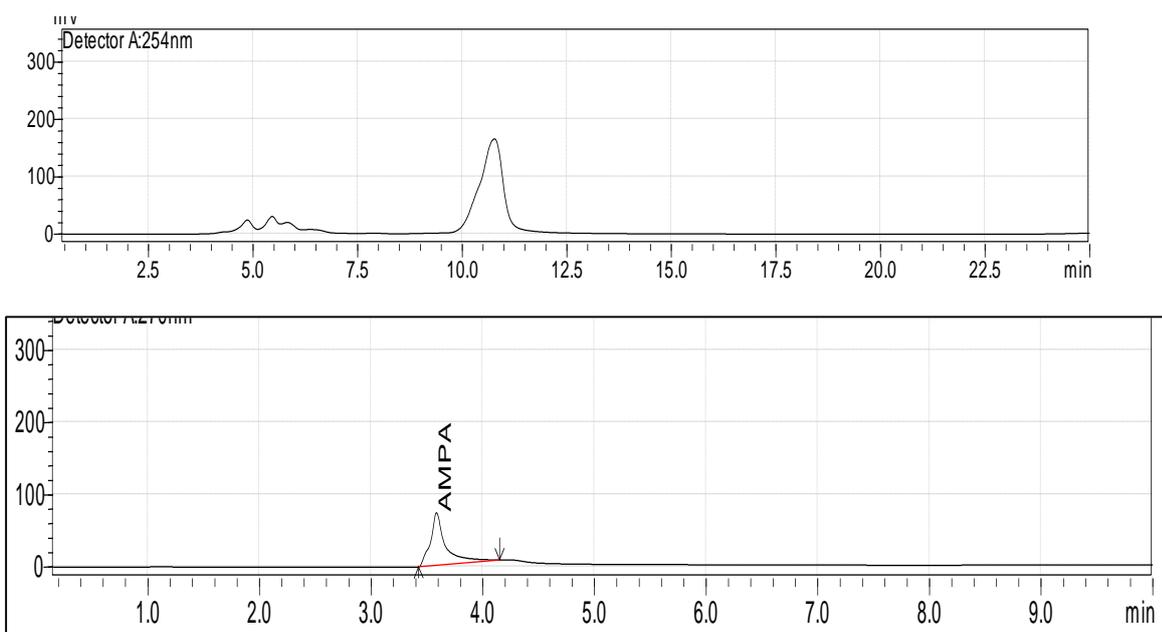


Figure 36: Chromatogramme de l'AMPA obtenu en début d'expérimentation à H₀ et à la fin de la dégradation du glyphosate à H₁₆₈ en milieu liquide en présence du glyphosate à 50 mg/L de la souche de *Bacillus subtilis* BT à 25 °C

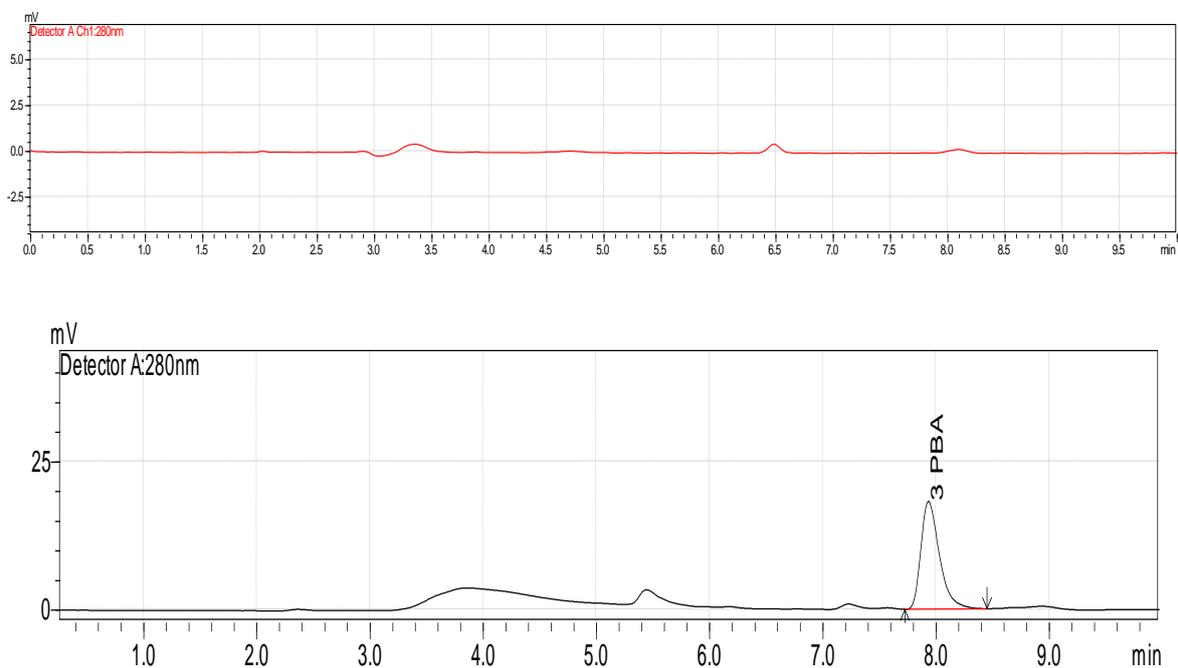


Figure 37: Chromatogramme du 3-PBA obtenu en début d'expérimentation à H₀ et après dégradation de la cyperméthrine H₁₆₈ en milieu liquide en présence de la cyperméthrine à 10 mg/L de la souche de *Bacillus subtilis* BT à 25 °C

Tableau 22 : Concentrations des métabolites AMPA et 3-PBA obtenus en début à (H₀) et à la fin (H₁₆₈) de l'expérimentation

	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
<hr/>		
Souche BT à H ₀	AMPA :	Non déterminé (ND)
Souche BT à H ₁₆₈	3,58	1,265
<hr/>		
Souche BT à H ₀	3-PBA :	Non déterminé (ND)
Souche BT à H ₁₆₈	7,96	1,037
<hr/>		

III.4.2 Séquençage et arbres phylogénétiques des souches performantes

Le séquençage des souches les plus performantes au test de dégradation a été réalisé par la méthode de Sanger. Il a permis d'avoir les séquences (**Annexe 6 et 7**) des souches ayant eu un très bon rendement lors des tests de dégradation et de les comparer aux séquences de référence dans la base de gène NCBI. Ainsi, sur la base des résultats du séquençage effectué, deux arbres phylogénétiques ont été générés par la méthode du maximum de vraisemblance (Maximum Likelihood ML). Cette analyse a porté sur 8 séquences nucléotidiques de *Bacillus subtilis* et 13 séquences de *Pseudomonas sp.* Les souches de référence telles que *Bacillus subtilis subsp subtilis*, *Bacillus spizizenii*, *Bacillus subtilis subsp natto* et *Bacillus inaquosorum* de la banque de gène NCBI ont été utilisées pour les comparaisons. Les arbres phylogénétiques ainsi obtenus ont permis de faire un rapprochement de nos souches ayant eu un meilleur rendement dans le processus de la biodégradation avec ces souches de référence. L'analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques des souches de *Bacillus subtilis* obtenues a indiqué qu'elles présentaient une similarité de 63 % avec la sous espèce de *Bacillus subtilis* qui est *Bacillus subtilis subsp subtilis*. Ainsi, toutes les souches dégradantes de *Bacillus subtilis* obtenues dans notre étude étaient étroitement apparentées à la souche de référence de *Bacillus subtilis subsp subtilis*. **La figure 38** montre que les souches de *Bacillus subtilis* BT, Ba1, Ba3 sont homologues entre elles et présente un pourcentage de similarité de 100 % entre elles. Les souches Ba3, BT, et Ba1 obtenues dans nos travaux forment ainsi un clade proche de la souche de référence *Bacillus subtilis subsp subtilis*.

Sur la base de leur performance dans la dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine, les souches Psp5, Psp6 et Psp9 ont également été séquencées. Huit (8) souches de référence *Pseudomonas atacamensis*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas sp*, *Pseudomonas tolaasii*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas versua*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas mendocina* et *Pseudomonas stutzeri* de la banque de gène NCBI ont été utilisées pour les comparaisons. L'analyse de la séquence du gène de l'ARNr 16S du segment 221 pb suivie par BLAST a indiqué une identité nucléotidique entre les souches Psp5, Psp6 et Psp9 avec la souche de référence *Pseudomonas fluorescens* issue de la base de données de NCBI. Les souches de notre étude sont donc plus proches de la souche de référence *Pseudomonas fluorescens* avec laquelle elle forme un clade (**Figure 39**).

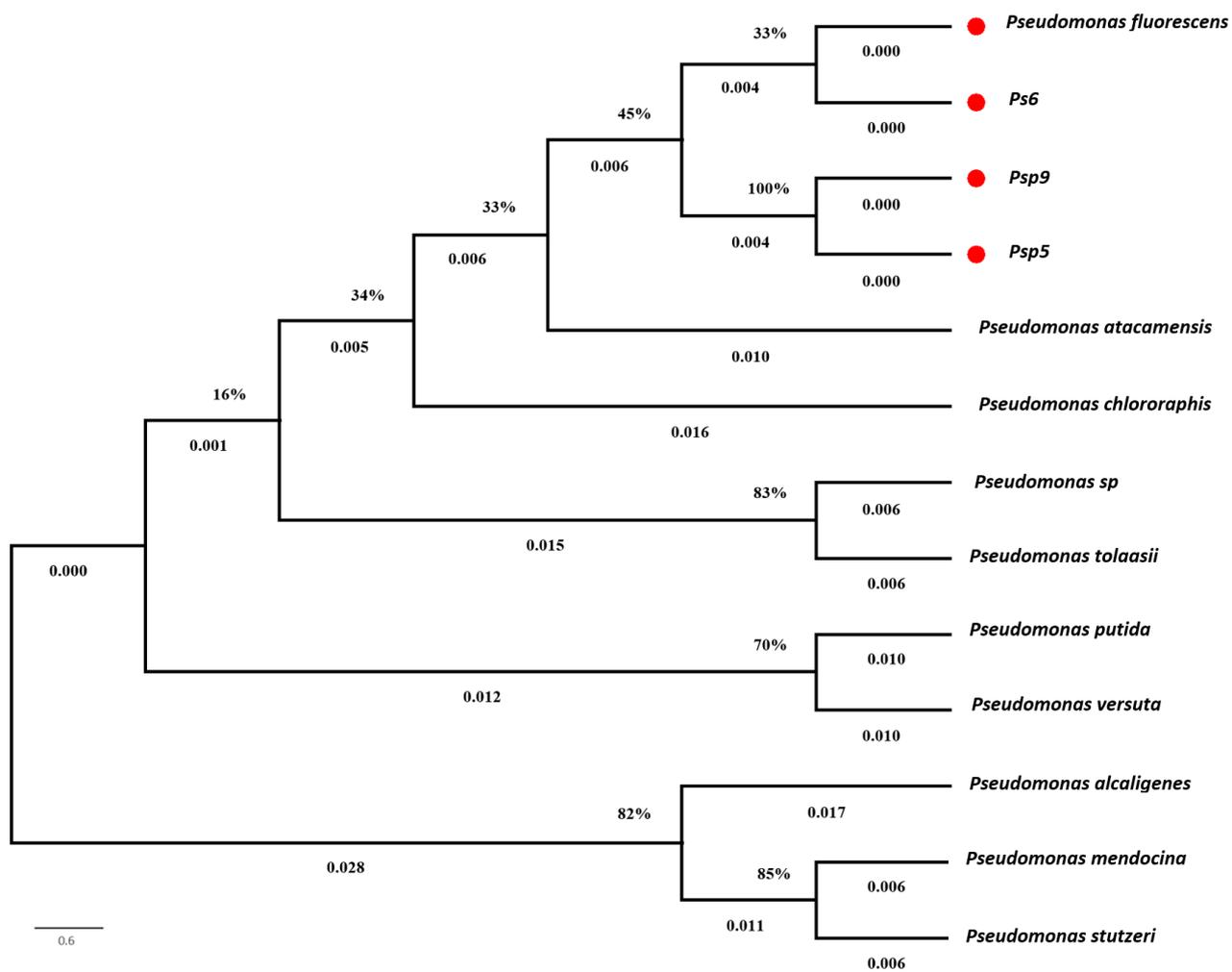


Figure 39 : Arbre phylogénétique montrant les homologues proches des souches de *Pseudomonas sp.* Psp5, Psp6 et Psp9

III. 4.3 DISCUSSION

Les tests de tolérance ont montré une réduction du nombre de bactéries cultivées en milieu solide en présence du glyphosate et de la cyperméthrine à différentes concentrations. Ce faible taux de souches bactériennes capables de tolérer les pesticides pourrait s'expliquer par l'utilisation du milieu solide lors du test de tolérance. Les concentrations utilisées lors des tests de tolérance pourraient aussi être toxiques pour la majorité des bactéries testées. Les résultats des tests de tolérance qui ont montré une diminution du nombre de microorganismes sont en accord avec les résultats des travaux de **Moneke et al. (2010)** et **de Busse et al. (2001)** qui indiquaient que les bactéries étaient généralement réduites en nombre lorsqu'elles étaient cultivées sur milieu solide. Les pourcentages de souches tolérantes obtenues lors de nos tests sont en deçà de ceux rapportés par **Nagwa et al. (2020)** qui mentionnaient que 33 % des souches de *Bacillus* utilisées lors de leurs travaux étaient capables de tolérer le glyphosate à plusieurs concentrations. Au delà des souches microbiennes utilisées dans nos tests de tolérance, plusieurs autres organismes microbiens notamment les actinomycètes ont aussi la capacité à tolérer d'autres polluants tels les organochlorés. En effet, les travaux de **Benimeli et al. (2003)** avaient révélé que 78 % de souches d'actinomycètes utilisées pendant leur expérimentation étaient tolérantes aux organochlorés.

Concernant les tests de dégradation, 17 souches bactériennes dont 6 souches de *Bacillus subtilis* et 11 souches de *Pseudomonas sp.* ont été candidates au test. Après 168 heures d'expérimentation, toutes les souches testées ont dégradé individuellement le glyphosate et la cyperméthrine à différentes concentrations. Ces souches ont pratiquement présenté le même schéma de croissance au cours de l'essai dans le milieu liquide MM. En effet, les courbes de croissance bactérienne ont toutes la même allure et ne présentent pas de phase de latence. L'absence d'une phase de latence au cours de l'essai, s'expliquerait par l'absorbance initiale de l'inoculum bactérien utilisé en début de l'expérience à DO_{600} qui était 0,56 et qui indiquait que les bactéries étaient déjà dans leur phase de croissance. En effet **Yu et al. (2015)** montraient dans leurs travaux qu'une DO_{600} de 0,56 suggère que les bactéries sont dans leur phase de croissance exponentielle. La phase de latence correspondant le plus souvent à la phase d'adaptation des bactéries au pesticide testé. La disparition de cette phase dans notre étude serait due au fait que les souches utilisées dans notre étude proviennent des sols de culture déjà soumis à répétition aux pesticides testés et donc seraient déjà habituées et adaptées à ceux-ci. Plusieurs auteurs dont **Roger and Jacq (2000)** et **Akbar et al. (2014)** corroborent ce fait. Ce phénomène a été également mis en évidence dans les travaux de **Calvayrac (2011)**. Les courbes

de croissance ont présenté une phase de croissance correspondant à une croissance bactérienne effective sur le milieu minimum (MM). Le milieu minimum utilisé ici pour le test de dégradation est un milieu liquide de base très pauvre en nutriments nécessaires à une croissance bactérienne et qui oblige la bactérie à utiliser les pesticides comme source de carbone et d'énergie pour leur croissance. Au vu des résultats des taux de dégradation, les souches testées dégradent de façon différentes les pesticides. En effet, certaines souches dégradent mieux les pesticides que d'autres. Cette différence dans la façon de dégrader des bactéries face aux pesticides serait due à la différence entre les souches face à leur tolérance vis-à-vis du pesticide testé. Dans leurs travaux sur la dégradation du glyphosate par *Acetobacter* et *Pseudomonas fluorescens* isolées des champs de rizières, **Moneke et al. (2010)** abordent dans le même sens. Les souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp.* utilisées dans nos tests dégradent mieux le glyphosate que la cyperméthrine, ces résultats pourraient s'expliquer par une préférence de souches de *Bacillus* pour la molécule de glyphosate et par le fait que le glyphosate serait une meilleure source de carbone pour les souches bactériennes utilisées. Les résultats obtenus sont en adéquation avec ceux des auteurs comme **Chen et al. (2012)** et **Digabel (2013)** qui, lors des études de dégradation du Methyl tert-butyl ether (MTBE), de l'éthyl tert-butyl ether (ETBE) et du 3-PBA évoquaient la sélection et la préférence de certains microorganismes pour un substrat bien donné. Aussi, les souches indigènes utilisées pour les tests avaient déjà un antécédent quant à l'exposition au glyphosate et à la cyperméthrine. Sur cette base, on pourrait évoquer un ancien cas de co-contamination qui influencerait le plus souvent négativement sur la capacité de dégradation d'une souche bactérienne par rapport à une autre. **Auffret et al. (2009)** illustre cet état de fait à travers leurs travaux de recherche. Les résultats de l'étude montrent que les souches de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp* dégradent individuellement les deux pesticides testés à différentes concentrations. Plusieurs travaux scientifiques similaires dont ceux de **Zhao et al. (2015)**, **Panta et al. (2016)**, **Gangola et al. (2018)**, **Bhatt et al. (2020)**, **Singh et al. (2020)** ont montré l'efficacité de plusieurs souches bactériennes dont *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* dans la dégradation de nombreuses molécules actives de pesticides.

Après 96 heures d'essai, la courbe de croissance décroît, ce qui correspond à une diminution de substrat dans le milieu minimum et donc à un déclin de la croissance de bactéries dans le milieu. En milieu de culture artificiel, la phase de déclin chez les souches bactériennes commence normalement 72 heures après l'inoculation, mais dans notre étude elle débute après 96 heures suggérant un épuisement du pesticide présent comme substrat de croissance. Des observations similaires à nos résultats ont été rapportées par **Travaglia et al. (2015)** et **Andriani et al. (2017)** et qui mentionnaient des phases de mort retardées à 216 heures occasionnées par la capacité de

Pseudomonas, *Enterobacter* et *Azospirillum* à dégrader le glyphosate. **Viesser et al. (2020)** ont également observé cette mort cellulaire dans la dégradation du pétrole par les bactéries rhizosphériques. Nos résultats ont montré que la souche de *Bacillus subtilis* BT a été la plus performante à dégrader les deux pesticides testés que toutes les souches de *Pseudomonas sp.* **Bhosle et al. (2013)** et **Dibua et al. (2015)** avaient trouvé des résultats différents lors de leurs travaux respectifs de dégradation de cyperméthrine et de glyphosate. En effet, les souches de *Pseudomonas* utilisées par ces auteurs s'étaient révélées plus performantes que les souches de *Bacillus*.

L'analyse des taux de dégradation indique que les souches testées dégradent mieux le glyphosate que la cyperméthrine. Ce constat permet de suggérer que la présence de cyperméthrine dans le milieu pourrait inhiber un temps soit peu la croissance bactérienne. Ce phénomène a été évoqué par **Gur et al. (2014)** qui mentionnaient que la présence de cyperméthrine pouvait avoir des effets toxiques sur la croissance des bactéries. De nombreuses souches bactériennes peuvent accumuler les pesticides sans les dégrader. En effet, **Singh et al. (1999)** mentionnent que la tolérance d'une souche bactérienne à un pesticide n'est pas synonyme de sa capacité à le dégrader. C'est pourquoi, dans notre étude, plusieurs concentrations de pesticides ont été testées pour non seulement confirmer la biodégradation du glyphosate et de la cyperméthrine mais aussi déterminer les concentrations inhibitrices pour les souches bactériennes utilisées et ainsi s'assurer que ce n'est pas une accumulation de pesticide par les bactéries mais plutôt une dégradation. Les résultats obtenus montrent que les concentrations influencent énormément le taux de dégradation des pesticides par les bactéries utilisées. En effet, les concentrations élevées de 360 g/l et de 200 g/L de glyphosate et de 50 g/L et de 40 g/L de cyperméthrine ralentissent énormément la croissance bactérienne des souches testées; ce qui suggèrent que des concentrations de glyphosate au delà de 360 g/L et de cyperméthrine de 50 g/L seraient inhibitrices pour les souches utilisées dans l'étude. Nos résultats confirment la toxicité effective des fortes concentrations de pesticide sur la croissance des bactéries dans les processus de biodégradation, ce résultat a largement été évoqué par plusieurs auteurs dont **Helow et al. (2013)**, **Pant et al. (2013)**, **Bhosle et al. (2013)**, **Pratibha and Himani (2015)** et **Manogaran et al. (2017)** qui ont montré qu'une concentration élevée de pesticide au delà de 7,2 à 50 g/L et de 150 à 6871 ppm pouvait inhiber la croissance des microorganismes.

L'ajout des nutriments dans le milieu minimum (MM) a amélioré la biodégradation. En effet, l'ajout du glucose, de l'amidon et du sucrose dans le milieu MM a augmenté les taux de dégradation. Les souches bactériennes ont utilisé le pesticide et les nutriments présents dans le

milieu pour leur croissance. Le glucose s'est révélé être le meilleur nutriment pour la biodégradation. De nombreux travaux scientifiques ont montré l'importance et l'effet positif des nutriments dans la biodégradation. Les travaux de **Sarkar et al. (2009)** et **Chen et al. (2012)** ont montré que l'ajout de nutriments comme le glucose améliore la biodégradation. Cependant, ce résultat n'est pas partagé par des auteurs comme **Cycon et al. (2011)** qui mentionnaient que la supplémentation avec les nutriments dans le milieu conduit les microorganismes à utiliser la source de carbone facilement disponible plutôt que d'utiliser le pesticide.

Concernant l'effet du consortium bactérien sur la dégradation, les résultats ont montré que les consortia bactériens testés ont davantage dégradé les pesticides sur le milieu MM. Le consortium a montré une dégradation accrue et efficace ; il a ainsi amélioré le processus de dégradation. Le taux maximal de dégradation de 98,83 % a été atteint avec le consortium alors qu'il était de 93,01 % dans le milieu MM additionné de pesticide (glyphosate) et de 95,28 % dans le milieu supplémenté de glucose. Des observations similaires ont été rapportées par **Singh et al. (2014)** qui soulignaient le potentiel énorme des consortia bactériens dans la technologie de la biodégradation. En effet, plusieurs auteurs comme **Brune et al. (2012)** et **Digabel (2013)** expliquaient cette association de microorganismes dans la dégradation des molécules xénobiotiques comme étant un mécanisme de commensalisme. Les résultats obtenus dans notre étude sont cohérents avec ceux de **Salunkhe et al. (2013)** ; **Yu et al. (2015)** et de **Buvaneswari et al. (2018)** qui révélaient que l'utilisation du consortium a plus la capacité à dégrader les pesticides que les microorganismes individuellement. La principale raison pour laquelle toutes les souches étudiées dégradent les pesticides étudiés est qu'elles sont dotées d'un potentiel de dégradation des pesticides étudiés qui pourrait être dû à leur capacité à synthétiser des enzymes pour la dégradation de la cyperméthrine et du glyphosate. Les souches dégradantes obtenues dans notre étude seraient donc dotées d'enzymes spécifiques de la dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine. Ce point de vue est en accord avec plusieurs travaux scientifiques sur la capacité de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp* à dégrader efficacement le glyphosate et la cyperméthrine en synthétisant les enzymes appropriées (**Jacob et al., 1988** ; **Akbar et al., 2014.**, **Dibua et al., 2015**). Les enzymes cataboliques impliquées dans la dégradation du glyphosate sont la C-P lyase et la glyphosate oxydoréductase (**Zhao et al., 2015**), mais l'enzyme clé de la dégradation du glyphosate en acide amino Méthyl Phosphonic (AMPA) par clivage de la liaison C-N est La glyphosate oxydoréductase (GOX). Cette enzyme, avec une haute spécificité au glyphosate, est essentielle pour la dégradation du glyphosate via le clivage de la liaison C-P inactivée et la formation de la sarcosine (**Hove-Jensen et al., 2014** ; **Zhan et al., 2018**). D'autres auteurs dont **Villarreal-Chiu et al. (2012)** ont évoqué des hydrolases

comme la phosphonoacétaldéhyde hydrolase, la phosphonoacétate hydrolase et la phosphoenolpyruvate hydrolase dans la dégradation du glyphosate. Concernant la dégradation de la cyperméthrine, les enzymes impliquées seraient les carboxylestérase et oxydoréductases, les laccases et les hydrolases (**Yin et al., 2013**).

L'analyse des principaux métabolites de la cyperméthrine et du glyphosate a révélé leur présence dans le milieu, indiquant une dégradation effective des pesticides étudiés. Les principaux produits de dégradation obtenus qui sont l'acide amino-méthyl phosphonique (l'AMPA) et l'acide 3-phénoxybenzoïque (3PBA) sont semblables à ceux obtenus par **Lin et al. (2011)** et **Mccooy et al. (2012)**. Les résultats obtenus sont en accord avec ces auteurs qui ont également signalé la présence de ces mêmes métabolites. Cependant, bien que le 3- PBA soit considéré comme le métabolite principal de l'hydrolyse de la cyperméthrine, **Yin et al. (2013)** et **Bhosle et al. (2013)** n'en n'ont pas trouvé dans leurs travaux. Cette différence de résultats pourrait se justifier par la durée et les conditions des tests de dégradation de ces auteurs. En effet, les travaux de **Bhosle et al. (2013)** se sont déroulés sur 14 jours sur des sols arrosés à l'eau distillée et traités au pesticide par les auteurs eux-mêmes. Concernant les travaux de **Yin et al. (2013)**, ils se sont déroulés pendant 3 jours sur des sols inoculés par le milieu minimum contenant les pesticides.

Le séquençage a donné des informations sur les meilleures souches dégradantes de notre étude. Il a révélé que les souches ayant eu les meilleurs taux de dégradation dans l'étude sont affiliées à la souche de référence *Bacillus subtilis subsp subtilis* qui est la souche la plus répandue. Quant aux meilleures souches dégradantes de *Pseudomonas sp* obtenues dans notre étude, elles sont toutes apparentées à *Pseudomonas fluorescens*. Les espèces bactériennes comme *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus subtilis* sont connues pour être très actives sur le plan métabolique. En effet, elles sont capables d'utiliser et de dégrader une large gamme de composés xénobiotiques. Plusieurs travaux de recherche ont confirmé l'implication et la très grande capacité de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas fluorescens* à dégrader plusieurs composés xénobiotiques. Les travaux de **Acharya et al. (2015)**, **Dibua et al. (2015)**, **Singh et al. (2019)**, **Gangola et al. (2018)** ont montré la capacité et l'efficacité de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas* à dégrader des composés chimiques multiples.

III.4.4 CONCLUSION PARTIELLE

Dans ce chapitre, la capacité de dégradation de 17 souches bactériennes (dont 6 *Bacillus subtilis* et 11 *Pseudomonas sp*) en présence de différentes concentrations de glyphosate et de cyperméthrine a été étudiée pendant 7 jours. Les résultats indiquent que toutes les 17 souches

souches de *B. subtilis* et *Pseudomonas. sp* étaient capables de croître sur le milieu minimum (MM) supplémenté des différentes concentrations de glyphosate et de cyperméthrine en les utilisant comme source de carbone et d'énergie. Parmi les souches candidates, six (6) se sont distinguées par leurs meilleurs taux de dégradation qui se situaient entre 70 % et 93,01 % quelque soit le pesticide testé. Les concentrations élevées de glyphosate (360 g/L et 200 g/L) et de cyperméthrine (50 g/L et 40 g/L) avaient tendance à inhiber la croissance des souches dégradantes. L'apport des nutriments comme le glucose, le sucrose et l'amidon dans le milieu MM a amélioré la dégradation de 3 % en moyenne. L'utilisation du consortium bactérien (*Bacillus subtilis* + *Pseudomonas sp*) pour la dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine a considérablement amélioré les taux de dégradation de plus de 5 % et a donné les meilleurs résultats que les souches testées individuellement. Le séquençage et l'analyse phylogénétique des 6 meilleures souches ayant eu un meilleur rendement de dégradation ont contribué à l'identification complète des souches dégradantes et ont montré qu'elles sont apparentées à la souche de *Bacillus subtilis subsp subtilis* et *Pseudomonas fluorescens*. L'étude sur la dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine par les souches bactériennes isolées des sols de culture maraîchère renseigne sur la capacité métabolique de ces souches à croître et à dégrader ces différentes molécules. Cette étude sur la biodégradation du glyphosate et de la cyperméthrine a donné des résultats intéressants et très prometteurs car nous a permis de sélectionner six (6) souches bactériennes ayant de très bonnes capacités de dégradation.

CONCLUSION GÉNÉRALE

ET

PERSPECTIVES

La contamination des sols de culture par les pesticides est extrêmement nuisible pour l'environnement et constitue un problème de santé public important au niveau national et mondial. La présente étude souligne l'ampleur du problème et l'importance de développer de nouveaux procédés qui visent à éliminer et à contrôler la contamination de l'environnement (eau sol) par ces molécules xénobiotiques. Cette étude s'inscrit dans le cadre des alternatives aux pesticides chimiques et a pour objectif général d'évaluer les performances métaboliques de *Bacillus subtilis* et de *Pseudomonas sp* en vue de leur utilisation dans un processus de biodégradation des pesticides chimiques utilisés en culture maraîchère. Au terme d'une prospection sur le terrain et l'utilisation de plusieurs techniques scientifiques différentes telle la chromatographie, la microbiologie, la physico-chimie et la biologie moléculaire, l'identification précise de six souches bactériennes ayant une forte capacité de dégradation a pu être effectuée.

L'enquête a montré que tous les producteurs utilisent les pesticides chimiques sur leurs exploitations. Elle a révélé également l'utilisation de 43 noms commerciaux de pesticides chimiques dont de nombreux pesticides destinés à la culture du coton. Les insecticides sont les pesticides les plus utilisés (72,50 %) et la famille chimique la plus représentée est celle des pyréthriinoïdes de synthèse. L'étude a aussi permis de mettre en exergue les mauvaises pratiques agricoles des producteurs qui exposent à la fois producteurs, consommateurs et environnement. Afin d'avoir une meilleure approche de la pollution chronique des sols de culture maraîchère par les pesticides, une analyse des résidus des molécules actives de pesticides répertoriés dans l'enquête a été effectuée. C'est ainsi que l'analyse chromatographique a permis d'évaluer la contamination des sols de culture maraîchère par quatre pesticides les plus rencontrés lors de l'enquête. Le glyphosate était détecté dans 26,95 % des sols avec une moyenne allant de $0,07 \pm 0,006$ à $0,015 \pm 0,012$ mg/ kg de sol. La cyperméthrine était détectée dans 25,21 % des sols étudiés avec des moyennes variant de $0,028 \pm 0,02$ à $0,062 \pm 0,053$ mg/kg de sol. Quant au profénofos et la carbendazime, ils étaient présents dans respectivement 24,34 % et 23,47 %. Leurs concentrations moyennes variaient de $0,068 \pm 0,067$ à $0,498 \pm 0,27$ mg/kg de sol et de $0,007 \pm 0,003$ à $0,012 \pm 0,007$ mg/kg de sol respectivement pour le profénofos et la carbendazime. La présence de ces résidus de pesticides même en petite quantité constituent un risque sanitaire pour l'environnement à cause des phénomènes de bioconcentration. Cette présence témoigne de l'ampleur de l'utilisation de ces pesticides dans la protection des légumes et représente un danger pour la population et les produits légumiers. La caractérisation physicochimique des sols de culture maraîchère a montré que les sols des trois zones de production présentent beaucoup de similitudes mis à part quelques paramètres tels que la texture et le rapport C/N.

L'analyse microbiologique classique des sols de culture maraîchère a montré que ces sols sont fortement colonisés par *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* La biologie moléculaire a permis de constituer une biocollection de 56 souches de *Bacillus subtilis* et 63 souches de *Pseudomonas sp.* par les méthodes classiques. L'étude sur la dégradation de la cyperméthrine et du glyphosate par *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.* a montré que les souches candidates au test de dégradation en milieu liquide avaient toutes la capacité à utiliser et à croître dans le milieu minimum (MM) supplémenté de différentes concentrations de pesticides. Ainsi, six souches bactériennes se sont distinguées par leur fort taux de dégradation qui se situait entre 70 % et 93,01 % quelque soit le pesticide testé. L'effet des différentes concentrations sur la dégradation a montré que les concentrations élevées de glyphosate (360 g/L) et 200 g/L) et de cyperméthrine (50 g/L et 40 g/L) inhibaient la croissance des souches dégradantes. Cependant, l'apport des nutriments a amélioré les taux de dégradation de 3 % tandis que l'utilisation du consortium bactérien (*Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp.*) a amélioré la dégradation de 5 % en moyenne. Ainsi, le consortium bactérien a donné les meilleurs résultats avec un taux de dégradation des pesticides qui se situait entre 89 % à 98,83 %. La présence des métabolites principaux comme l'acide aminométhyl phosphonique (AMPA) et l'acide 3-phenoxybenzoïque (3-PBA) dans le milieu minimum (MM) au cours de l'essai a confirmé la dégradation des pesticides. Le séquençage et l'analyse phylogénétique des six souches dégradantes les plus performantes ont montré qu'elles sont apparentées à la souche de *Bacillus subtilis subsp subtilis* et *Pseudomonas fluorescens* . L'étude de la dégradation du glyphosate et de la cyperméthrine par les souches de *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas sp* isolées des sols de culture maraîchère a montré que les six souches sont douées d'une grande activité métabolique. Ainsi, au vu des résultats concluants et prometteurs, les six souches bactériennes obtenues présentent un intérêt particulier du fait de leur grande capacité à dégrader le glyphosate et la cyperméthrine à toutes les concentrations. L'utilisation de ces souches bactériennes dans des processus de bioremédiation des sols contaminés par les deux pesticides (glyphosate et cyperméthrine) serait non seulement un très bon choix mais aussi un énorme avantage pour la protection de l'environnement et implicitement la santé de la population. Toutefois la mise en œuvre d'une telle technique à l'échelle réelle nécessite des études plus approfondies sur la gestion des effluents et le maintien permanent des bactéries dans leur phase de croissance.

PERSPECTIVES

Il conviendrait du point de vue des perspectives de :

- poursuivre l'étude sur une durée plus longue jusqu'à la dégradation complète des métabolites obtenus,
- mener une étude sur les véritables gènes et enzymes impliqués dans la dégradation,
- faire une étude avec d'autres molécules actives et élargir l'étude à d'autres sols de culture et à d'autres régions,
- réaliser à l'échelle pilote une étude in situ afin d'envisager par la suite un transfert technologique à grande échelle.

SUGGESTIONS

Aux autorités

- Sensibiliser et les producteurs maraîchers sur les dangers liés à l'utilisation excessive des pesticides chimiques,
- former les producteurs maraîchers aux bonnes pratiques culturales
- Vulgariser l'utilisation des pesticides biologiques

Aux producteurs maraîchers

- Respecter les bonnes pratiques culturales surtout les délais avant récolte,
- éviter l'usage excessif des pesticides au risque d'une contamination des légumes, de l'homme et de l'environnement,
- sensibiliser les producteurs à proscrire l'usage des pesticides obsolètes, périmés non homologués, vendus dans des points non agréés par l'état et de provenance inconnue.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Abatenh E., Gizaw B., Tsegaye Z., Wassie M., 2017. Application of microorganisms in bioremediation-review. *Journal of Environmental Microbiology*, 1 : 1- 8.

Abotchi K., 1994. Etude des résidus d'une formulation de cyperméthrine (cyperax SE) dans trois types de culture maraîchère (chou, tomate, pomme de terre) et dans le sol. Thèse de doctorat vétérinaire de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 107 p.

Abou B., Cantoreggi N., Simos J., Duchemin E., 2016. Impacts sur la santé des pratiques des agriculteurs urbains à Dakar (Sénégal). *Revue électronique en sciences de l'environnement VertigO*, 16 : 1-14.

Acharya K.P., Shilpkar P., Shah M.C., Chellapandi P., 2015. Biodegradation of Insecticide Monocrotophos by *Bacillus subtilis* KPA-1, Isolated from Agriculture Soils. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 175 : 1789-1804.

Acquavella J.F., Bruce H., Alexander B.H., Mandel J.S., Gustin C., Baker B., 2004. Glyphosate biomonitoring for farmers and their families: results from the farm family exposure study. *Environmental Health Perspectives*, 112 : 321-326.

Adamou R., Abdoulaye A., Soumaïla M., Moussa I., Coly A., Alphonse Tine A., Ikhiri K., 2010. Dégradation abiotique de la Deltaméthrine et de l'Etofenprox dans les eaux naturelles du Niger. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 29 : 45-54.

Agarry S., Latinwo K.G., 2015. Biodegradation of diesel oil in soil and its enhancement by application of bioventing and amendment with brewery waste effluents as biostimulation-bioaugmentation agents. *Journal of Ecological Engineering*, 6 : 82-91.

Agnandji P., Cachon B.F., Ménonvè A., Mawussi A.S.I., Sanni A., Fanou A.L., 2018. Analyse des pratiques phytosanitaires en maraîchage dans les zones intra-urbaines (Cotonou) et péri-urbaines (Sèmè-kpodji) au Sud-Bénin. *Revue Africaine d'Environnement et d'Agriculture*, 1 : 2-11.

Agoussar A., 2017. Effet des pesticides sur la diversité bactérienne des champs agricoles et la capacité des bactéries à les dégrader. Mémoire du grade de Maîtrise en Microbiologie de l'université de Montréal, 92 p.

Aikpokpodion P.E., 2010. Nutrients Dynamics in Cocoa Soils, leaf and beans in Ondo State, Nigeria. *Journal of agricultural sciences*, 1 : 1-9.

Ahouangninou C., Fayomi B.E., Martin T., 2011. Évaluation des risques sanitaires et environnementaux des pratiques phytosanitaires des producteurs maraîchers dans la commune rurale de Tori-Bossito (Sud-Bénin). *Cahiers Agricultures*, 20 : 216-222.

Ahouangninou C., Martin T., Edorh P., Bangana B.S., Onil S., Louis S.L, Dion S., Fayomi B., 2012. Characterization of Health and Environmental Risks of Pesticide Use in Market-Gardening in the Rural City of Tori-Bossito in Benin, West Africa. *Journal of Environmental Protection*, 3 : 241-248.

Aissaoui A., 2013. Evaluation du niveau de contamination des eaux de barrage hammam Grouz de la région d'Oued Athmania (wilaya de Mila) par les activités agricoles. Mémoire de magister en biologie, écologie végétale appliquée et gestion de l'environnement de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou, Algérie, 133 p.

Akassimadou E.F., Yao-Kouamé A., 2014. Caractéristiques morpho-pédologiques et potentiels d'un sol de bas-fond secondaire développé sur granito-gneiss en région de savane guinéenne (Centre de la Côte d'Ivoire). *Journal of Applied Biosciences*, 79 : 6968-6982.

Akbar S., Sultan S., Kertesz M., 2014. Determination of Cypermethrin degradation Potential of Soil Bacteria Along with Plant Growth-Promoting Characteristics. *Current Microbiology*, 70 : 75-84.

Akbar S., Sultan S., Kertesz M., 2015. Bacterial community analysis of cypermethrin enrichment cultures and bioremediation of cypermethrin contaminated soils. *Journal of Basic Microbiology*, 54 : 1-11.

Akotto O.F.; Alui K.A., Bongoua-Devisme A.J., Kagoyiré K., Yao K.A., 2014. Facteurs physico-chimiques affectant la distribution et la domestication de *Cola attiensis* en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 22 : 3478-3492.

Akpo K.S., Coulibaly S.L., Coulibaly L., Savane I., 2016. Evolution Temporelle de l'utilisation des pesticides en agriculture tropicale dans le bassin versant de la Marahoué, Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 14 : 121-131.

Aktar M.D.W., Sengupta D., Chowdhury A., 2008. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2 : 1-12.

Alloue-Boraud W.A.M., Koffi L.B., Dadié A.T., Dje K.M., Ongena M., 2014. Utilisation de *Bacillus subtilis* GAI pour la lutte contre les germes d'altération de la mangue en Côte D'ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 25 : 3954-3965.

Amin M., Rakhisi Z., Ahmady A.Z., 2015. Isolation and Identification of *Bacillus Species* from Soil and Evaluation of Their Antibacterial Properties. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 2 : e23233.

Andriani, L.T., Aini, L.Q., Hadiastono T., 2017. Glyphosate biodegradation by plant growth promoting bacteria and their affect to paddy germination in glyphosate contaminated soil *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 5 : 995-1000.

Anses, 2010. Evaluation des risques sanitaires liés à l'exposition par ingestion de *Pseudomonas* dans les eaux destinées à la consommation humaine (hors eaux conditionnées). Rapport, Edition scientifique, 85 p.

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, 15^{ième} edition, volume 1, 771 p.

Arraj T., 2015. Conception d'un système d'élimination du glyphosate des eaux de drainage agricole. Thèse de doctorat de l'Université de Lorraine en Géosciences, 108 p.

Artiola F.J., Fuller W.H., 1982. Adsorption of some mono-hydroxybenzene derivatives by soils. *Soil Science*, 133 : 218-227.

Ascherio A., Chen H., Weisskopf M.G., O'reilly E., Mccullough M.L., Calle E.E., Schwarzcild M.A., Thun M.J., 2006. Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 60 : 197-203.

Ashe S., Maji U.J., Sen R., Mohanty S., Maiti N.K., 2014. Specific oligonucleotide primers for detection of endoglucanase positive *Bacillus subtilis* by PCR. *Springer*, 4 : 461- 465.

Avşar C., Koyuncu H., Aras E.S., 2017. Isolation and Molecular Characterization of *Bacillus spp.* Isolated from Soil for Production of Industrial Enzymes. *Biological and Chemical Research.*, 3 : 72-86.

Auffret M., Labbé D; Thouand G., Greer C.W., Fayolle-Guichard F., 2009. Degradation of a Mixture of Hydrocarbons, Gasoline, and Diesel Oil Additives by *Rhodococcus Aetherivorans* and *Rhodococcus Wratislaviensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75 : 7774-7782.

Ayad M.N., 2012. Identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés. Mémoire de magister de l'université d'Oran en chimie organique, 87 p.

Ballot C. S. A., Mawussi G., Atakpama W., Moita –Nassy M., Yangakola T. M., Zinga I., Silla S., Kpérkouma W., Dercon G., Komlan B., Koffi A., 2016. Caractérisation physico-

chimique des sols en vue de l'amélioration de la productivité du manioc (*Manihot esculenta* Crantz) dans la région de Damara au centre-sud de Centrafrique. *Agronomie Africaine*, 28 : 9-23.

Barriuso E., Calvet R., Schiavon M., Soulas G., 1996. Les pesticides et les polluants organiques des sols. Transformations et dissipation. *Etude et Gestion des Sols*, (Numéro spécial), 3 : 279-295.

Bassin J. P., Márcia D., Alexandre R., 2017. Molecular Biology Techniques Applied to the Study of Microbial Diversity of Wastewater Treatment Systems. *Springer*, 93 : 205-299.

Batsch D., 2011. L'impact des pesticides sur la santé humaine. Thèse de doctorat en pharmacie de l'université Henri Poincaré Nancy 1, 184 p.

Bayendi L. S. M., Ndong N. A., Francis F., 2017. Le maraîchage périurbain à Libreville et Owendo (Gabon) : pratiques culturelles et durabilité. *Cahiers Agricultures*, 26 : 45002.

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

Benguenab A., 2022. Bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures avec des champignons telluriques. Thèse de Doctorat de l'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem en Microbiologie Appliquée. 180 p.

Ben Hassine H., Aloui T., Gallali T., Bouzid T., El Amri S., Ben Hassen R., 2008. Evaluation quantitative et rôle de la matière organique dans les sols cultivés en zones subhumides et sémi-arides méditerranéennes de la Tunisie. *Agro solution Ressources*, 2 : 5-19.

Bergey's manual of systematic bacteriology 8nd edition, 2009. Baltimor. 208-1234.

Benimeli C.S., Amoroso M.J., Chaile A.P., Castro G.R., 2003. Isolation of four aquatic *streptomycetes* strains capable of growth on organochlorine pesticides. *Bioresource Technology*, 89 : 133-138.

Bernard R., 2007. Résistance à la bacitracine chez *Bacillus subtilis*. Thèse de doctorat de l'Université de la Méditerranée - Aix-Marseille II en Microbiologie et Biotechnologies, 128 p.

Bhatt P., Yaohua H., Wenping Z., Anita S., Shaohua C., 2020. Enhanced Cypermethrin Degradation Kinetics and Metabolic Pathway in *Bacillus thuringiensis* Strain SG4. *Microorganisms*, 8 : 223-238.

Bhoosreddy G.L., 2014. Decolorization and Biodegradation of Direct Blue 2B by Mix Consortia of *Bacillus*. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9 : 34-40.

Bhosle N.P., Sahera N., 2013. Remediation of Cypermethrin-25 EC by Microorganisms. *European Journal of Experimental Biology*, 3 : 144-152.

Bodereau B., 2011. Récepteurs nicotiniques neuronaux d'insectes et insecticides : caractérisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l'efficacité des néonicotinoïdes. Thèse de doctorat de l'Université d'Angers en biologie des organismes, 196 p

Boni B.Y., Pierre S., Assogba F.K., Mensah A., Taofic A., Verheggen F., Frédéric F., 2017. Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*, 4 : 288-304.

Boschetto, G., 2013. Évaluation de la pertinence de l'utilisation des herbicides en lien avec le développement durable. Essai. Université de Sherbrooke, 86 p.

Bouya H., Errami M., Salghi R., Bazzi L.H., Zarrouk A., Al-Deyab S.S., Hammouti B., Bazzi L., Chakir A., 2012. Electrochemical Degradation of Cypermethrin Pesticide on a SnO₂ Anode. *International Journal of Electrochemical Science*, 7 : 3453-3465.

Brown V.I., Lowbury E.J.L., 1965. Use of an improved Cetrimide Agar Medium and of culture methods for *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Clinical Pathology*, 18 : 752-756

Brune K.D., Bayer T.S., 2012. Engineering microbial consortia to enhance biomining and Bioremediation. *Frontiers in microbiology*, 3 : 1-6.

Bushra J., Fariha H., Hameed A., Safia A., 2007. Isolation of *bacillus subtilis* MH-4 from soil and its potential of polypeptidic antibiotic production. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20 : 26-31.

Busse M., Ratcliff A.M., Shestak C.J., Powers R.F., 2001. Glyphosate Toxicity and the Effects of Long-Term Vegetation Control on Soil Microbial Communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 33 : 1777-1789.

Buvaneswari G., Thenmozhi R., Nagasathya A., Thajuddin N., Praveen Kumar D., 2018. GC-MS and molecular analyses of monocrotophos biodegradation by selected bacterial isolates *African Journal of Microbiology Research*, 12 : 52-61.

Cadiere, 2006. Traitement biologique des sols pollués : recherche et innovation. Etude réalisée pour le compte de l'ADEME par l'ADIT - Société Nationale d'Intelligence Stratégique, 92 p.

Calvayrac C., 2011. Dégradation biologique de la sulcotrione dans un sol agricole : recherche d'une éventuelle biodégradation accélérée et caractérisation de souches bactériennes

potentiellement dégradantes. Thèse de doctorat de l'Université de Perpignan Via Domitia, 269 p.

Carles L., 2016. Devenir de mélanges de pesticides : étude des voies de biodégradation et développement d'une méthode préventive de biorémédiation. Thèse de doctorat de l'Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II en Sciences agricoles, 298 p.

Changey F., 2011. Etude de l'évolution du potentiel génétique de populations bactériennes dégradant l'atrazine. Thèse de doctorat de l'Université de Bourgogne en Sciences agricoles, 170 p.

Chenal J., Yemadji N., Hasler S., Kemajou A. 2018. Villes africaines : environnement et enjeux de développement durable. 73 p.

Chen S., Hu W., Xiao Y., Deng Y., Jia J., Hu M., 2012. Degradation of 3-Phenoxybenzoic Acid by a *Bacillus* sp. *PLoS One*, 7: e50456.

Chérif S., Wortham H., 1997. A new laboratory protocol to monitor the volatilization of pesticides from soils. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 68 : 199-212.

Chien C.C., Lin B.C., Wu C.H., 2013. Biofilm formation and heavy metal resistance by an environmental *Pseudomonas* sp. *Biochemical Engineering Journal*, 78 : 132-137.

Cissé I., Tandia A.A., Fall S.T., Diop E.H.S. 2003. Usage incontrôlé des pesticides en agriculture périurbaine : cas de la zone des Niayes au Sénégal. *Cahier Agricole*, 12 : 181-186.

Coelho L.M., Rezende H.C., Coelho L.M., De Sousa P.A.R., Danielle F.O., Melo D.F.O., Coelho N.M.M., 2015. Bioremediation of Polluted Waters Using Microorganisms. *Advances in Bioremediation of Wastewater and Polluted Soil*, chapter 1, 22 p.

Coignet S., 2014. Etude rétrospective des infections à *Pseudomonas luteola* chez le furet. Thèse de Doctorat vétérinaire de l'École Nationale Vétérinaire D'Alfort, 108 p.

Cycon M., Zofia P.S., 2016. Pyrethroid degrading Microorganisms and Their Potential for the Bioremediation of Contaminated Soils: A review. *Frontiers in Microbiology*, 7 : 1-26.

Cycon M., Marcin W., Zofia P.S., 2011. Biodegradation kinetics of the benzimidazole fungicide thiophanate-methyl by bacteria isolated from loamy sand soil. *Biodegradation*, 22 :573-583.

Czernichowski-Lauriol I., Caudron M., 1999. Pollution des eaux souterraines et superficielles par des produits phytosanitaires dans un même bassin hydrogéologique Application dans le bassin de la Serre, département de l'Aisne. Rap. BRGM R 40615, 71 p.

Czerwiec Q., 2020. Evaluation du potentiel ligninolytique bactérien pour la production de molécules aromatiques. Thèse de doctorat de l'Université de Reims Champagne-Ardenne Discipline : sciences agronomiques, biotechnologiques agro-alimentaires, 209 p.

Danchin A., Glaser P., Kunst F., Moszer I., Rapoport G., 1998. *Bacillus subtilis* dévoile ses gènes. *Biofutur*, 174 : 14-17.

Danho M., Abo K., Touré A., Kra K.D., Akamou F., Bah B., Kouakou N.J., Kouamé K.F., 2015. République de Côte d'Ivoire, 2015. Index phytosanitaire 2015, Ministère de l'agriculture et du développement rural (MINADER).

Dao M.C.E., Sanou J., Pare S., 2016. Maraîchage urbain et semi-urbain de *Moringa oleifera* Lam par des associations de femmes au Burkina Faso : contraintes et opportunités. *Revue électronique en sciences de l'environnement VertigO*, 16 : 20-38.

De Bon H., Lassina F., Patrick D., Zana C., Yannick B., 2018. Etude d'identification et analyse des contraintes à la production maraîchère selon les grandes zones agro-climatiques de la Côte d'Ivoire PS n°009/FIRCA/DCARA/PRO2M/2018. Rapport d'expertise Cirad, 140 p.

Desgranges N., 2015. Développement d'échantillonneurs passifs de type pocis pour l'évaluation de la contamination en pesticides des eaux de bassins versants languedociens. Thèse de doctorat de l'université de bordeaux en chimie analytique et environnementale, 361 p.

Diarra A., 2015. Revue des politiques sur les pesticides et les produits vétérinaires dans l'espace CEDEAO. Department of Agricultural, Food, and Resource Economics, Michigan State University, 66 p.

Diaw D., Mame A.F.N., Oubeidillah Y.A., Idy C.S., Tahir A.D., 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. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 12 : 1914-1919.

Dibua U.M.E., Okorie M.V., Enemu S., 2015. Isolation, Characterization and Biodegradation Assay of Glyphosate Utilizing Bacteria from Exposed Rice Farm. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 5 : 95-109.

Digabel Y., 2013. Etude de la diversité bactérienne et génétique dans des cultures dégradant l'ETBE ou le MTBE. Thèse de doctorat de l'Université de Lyon en microbiologie environnementale, 188 p.

Dijl J.M.V., Hecker M., 2015. *Bacillus subtilis*: from soil bacterium to super-secreting cell factory. *Microbial Cell Factories*, 12 : 1-6.

Diop A., 2013. Diagnostic des pratiques d'utilisation et quantification des pesticides dans la zone des Niayes de Dakar (Sénégal). Thèse de doctorat de l'Université du Littoral Côte d'Opale, 190 p.

Doan T., 2003. Etude fonctionnelle du génome de *Bacillus subtilis* : de nouvelles régulations transcriptionnelles du métabolisme central du carbone. Thèse de doctorat de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon en Génétique, 218 p.

Doumbia M., Kwadjo K.E., 2009. Pratiques d'utilisation et de gestion des pesticides par les maraîchers en Côte d'Ivoire : Cas de la ville d'Abidjan et deux de ses banlieues (Dabou et Anyama). *Journal of Applied Biosciences*, 18 : 992-1002.

Dousse D., 2009. La cyperméthrine dans l'environnement. Projet Alpeau : volet micropolluant, Interreg France-Suisse, 11 p.

Dousse D., 2011. Risque de contamination de l'eau souterraine en forêt lors du traitement des grumes à la cyperméthrine : Etude de terrain en milieu poreux et en milieu karstique. Rapport technique du projet de master et du service civil. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Université de Neuchâtel, Interreg France-Suisse, 89 p.

Ducroquet H., Tillie P., Louhichi K., Gomez-Y-Paloma S., 2017. L'agriculture de la Côte d'Ivoire à la loupe : Etat des lieux des filières de production végétales et animales. Publications Office of the European Union: Luxembourg, 244 p.

Dwivedi D., Johri B., 2003. Antifungals from fluorescent pseudomonads: biosynthesis and regulation. *Current. Science*, 8 : 1693-1703.

Earl A.M., Richard L.R., Kolter R., 2007. *Bacillus subtilis* Genome Diversity. *Journal of bacteriology*, 189 : 1163-1170.

Ehon A.F.C., 2017. Caractérisation techno-fonctionnelle et sélection de bactéries du genre *Bacillus* pour le contrôle de la fermentation de la pâte de manioc : application biotechnologique pour la fermentation d'attiéké. Thèse de doctorat de l'université Félix Houphouët Boigny de Côte d'Ivoire en Biotechnologie agroalimentaire, 148 p.

El Mrabet K., 2008. Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant pressurisé. Thèse de doctorat de l'université Pierre et Marie Curie en chimie analytique, 295 p.

Errami M., 2012. Devenir atmosphérique de bupirimate et transfert de ses métabolites (les diazines) dans l'atmosphère, sa dissipation dans les fruits de tomate et sa dégradation électrochimique. Thèse de doctorat de l'université de Ibn Zohr & Université de Reims Champagne-Ardenne en Science d'Ingénieur & Qualité De L'Environnement, 230 p.

Faille A., 2010. Identification de composés naturels contre *Saprolegnia sp.*, un champignon pathogène en aquaculture. Doctorat en Microbiologie et Immunologie Université de Montréal, 98 p.

FAO : Food and Agriculture Organisation, 1977. Directives pour la description des sols. Seconde édition. Service des ressources en sols, de leur mise en valeur et de leur conservation. Division de de la mise en valeur des terres et des eaux, 72 p.

FAO : Food and Agriculture Organisation, 2014. Pollinator safety in agriculture. Pollination services for sustainable agriculture field manuals, food and agriculture organization of the United Nations, Rome 2014, 138 p.

Fathepure B.Z., 2014. Recent studies in microbial degradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments. *Frontiers in Microbiology*, 5 : 173-189.

Faugier F., 2010. Diversité bactérienne des sols : accès aux populations à effectifs minoritaires "the rare biosphère". Thèse de doctorat de l'Ecole Doctorale Centrale de Lyon, 173 p.

Fayeulle A., 2013. Étude des mécanismes intervenant dans la biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques par les champignons saprotrophes telluriques en vue d'applications en bioremédiation fongique de sols pollués. Thèse de doctorat de l'Université du Littoral Côte d'Opale en Biotechnologies, 194 p.

Fernández M., Porcel M., De laTorre J., Molina-Henares M.A., Daddaoua A., Liamas M.A., Roca A., Carriel V., Garzón I., Ramos J.L., Alaminos M., Duque E., 2015. Analysis of the pathogenic potential of nosocomial *Pseudomonas putidas* trains. *Frontiers in Microbiology*, 6 : 1-11.

Fishel F.M., 2014. What are inert ingredients? PI-44, University of Florida, USA, 2 p.

Fishel F.M., 2016. Pesticide Formulations. PI231, University of Florida, USA, 14 p.

Fleischer G., Andoli V., Coulibaly M., Randolph T., 1998. Analyse socio-économique de la filière des pesticides en Côte d'Ivoire. Série de Publication du Projet de Politique des Pesticides, N° 06/F, Novembre 1998. Institut des Sciences Economiques, Faculté d'Horticulture, Université de Hanovre, 112 p.

Fosu-Mensah Y. B., Okoffo E.D., Godfred D., Gordon C., 2016. Assessment of organochlorine pesticide residues in soils and drinking water sources from cocoa farms in Ghana. *SpringerPlus*, 5 : 1-13.

Galarza-Seeber R., Latorre J.D., Hernandez-Velasco X., Wolfenden A.D., Bielke L.R., Menconi A., Hargis B.M., Tellez G., 2015. Isolation, screening and identification of *Bacillus spp.* as direct-fed microbial candidates for aflatoxin B1 biodegradation. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5 : 702-706.

Gangola Saurabh, Anita Sharma, Pankaj Bhatt, Priyanka Khati, Parul Chaudhary, 2018. Presence of esterase and laccase in *Bacillus subtilis* facilitates biodegradation and detoxification of cypermethrin. *Scientific Reports*, 8 : 12755.

Garioiaz H., Mohammed B., Abderahmane E., Belkheir H., Angel R., 2012. Analysis of cypermethrin residues and its main degradation products in soil and formulation samples by gas chromatography-electron impact mass spectrometry in the selective ion monitoring mode. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 92 : 1378-1388.

Gauvry E., 2017. Modélisation de la sporulation de *Bacillus subtilis* BSB1 et liens physiologiques avec les cinétiques de croissance. Thèse de doctorat de l'université de Bretagne occidentale en microbiologie, virologie, parasitologie, 218 p.

Geisy J.P., Dobson S., Solomon K., 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 167 : 35-120.

Genot V., Gilles C., Vincent B., Bock L., 2009. L'état de fertilité des terres agricoles et forestières en région wallonne (adapté du chapitre 4 - sol 1 de L'Etat de l'Environnement wallon 2006-2007, *Base* [En ligne], 1 : 121-138.

Gholami A., Majidpour A., Talebi-Taher M., Boustanshenas M., Adabi M., 2016. PCR-based assay for the rapid and precise distinction of *Pseudomonas aeruginosa* from other *Pseudomonas species* recovered from burns patients. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 57 : 1-5.

Gibbons D., Christy M., Pierre M., 2015. A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. *Environmental Science and Pollution Research*, 22 : 103-118.

Guigon-Moreau, 2006. Transferts des pesticides vers les eaux superficielles et l'atmosphère : caractérisation et modélisation sur le bassin versant de la Vesle. Thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie en Géosciences et ressources naturelles, 251 p.

Guermouche M.A., 2014. Caractérisation moléculaire des bactéries impliquées dans la biodégradation des hydrocarbures. Thèse de doctorat de l'Université d'Oran, Option : Microbiologie, 166 p.

Gur O., Murat O., Algur O.F., 2014. Biodegradation of the synthetic pyrethroid insecticide α -cypermethrin by *Stenotrophomonas maltophilia* OG2. *Turkish Journal of Biology*, 38 : 684-689.

Heatley, 1944. A method for assay of penicilline. *Biochemical Journal*, 38 : 61-69.

Helow E.R., Mohamed E.I.B., Mona E.M.M., Eman A.H.M., Youssef M.E., 2013. Biodegradation of Chlorpyrifos by a Newly Isolated *Bacillus subtilis* Strain, Y242. *Bioremediation Journal*, 17 : 113-123.

Hénault-Ethier L., 2015. Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it. Executive summary and littérature review. Équiterre. Montréal, Canada. 68 p.

Henderson A.M., Gervais J.A., Luukinen B., Buhl K., Stone D., 2010. Glyphosate technical fact sheet. National pesticide information center, Oregon state university extension services, USA, 14 p.

Hintzen E.P., Lydy M.J., Belden J.B., 2009. Occurrence and potential toxicity of pyrethroids and other insecticides in bed sediments of urban streams in central Texas. *Environmental Pollution*, 157 : 110-116.

Hove-Jensen B., David L.Z.I., Bjarne J., 2014. Utilization of Glyphosate as Phosphate Source: Biochemistry and Genetics of Bacterial Carbon-Phosphorus Lyase. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78 : 176-197.

Huang Y., Xiao L., Li F., Xiao M., Lin D., Long X., Wu Z., 2018. Microbial Degradation of Pesticide Residues and an Emphasis on the Degradation of Cypermethrin and 3-phenoxy Benzoic Acid: A Review. *Molecules*, 23: 1-23.

Hussaini S.Z., Shaker M., Iqbal M.A., 2013. Isolation of Fungal Isolates for Degradation of Selected Pesticides. *Life Sciences*, 2 : 50-53.

INERIS : Institut national de l'environnement industriel et des risques, 2016. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Cyperméthrine, DRC-18-157877-10983A, 48 p.

Isenring R., 2010. Les pesticides et la perte de la biodiversité. Pesticide Action Network Europ., 15 p.

ISO 16308 : 2014. Qualité de l'eau. Détermination du glyphosate et de l'AMPA. Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) avec détection par spectrométrie de masse en tandem, 28 p.

ISO 6888 : 2003. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). Partie 3 : Recherche et méthode NPP pour les faibles nombres, 12 p.

ISO 9297 : 1989. International Organization for Standardization, 1989. Qualité de l'eau - Dosage des chlorures -Titrage au nitrate d'argent avec du chromate comme indicateur (Méthode de Mohr), 8 p.

Isra M., Sameen R.I., Kanwal S., Alvina G., Khalid R.H., 2016. Effects of Pesticides on Environment. *Springer International Publishing Switzerland*, 254 p.

Jacob GS., Garbow JR., Hallas LE., Kimack NM., Kishore GM., Schaefer J., 1988. Metabolism of glyphosate in *Pseudomonas sp.* strain LBr. *Applied Environmental Microbiology*, 54 : 2953-2958.

Jacot S., 2003. Etude des gènes exprimés au cours du repas sanguin dans l'intestin de la tique *Ixodes ricinus*. Thèse de doctorat de l'Université de Neuchâtel. Institut de zoologie. 104 p.

Järvan M., Edesi L., Adamson A., Võsa T., 2014. Soil microbial communities and dehydrogenase activity depending on farming systems. *Plant, Soil and Environment*, 60 : 459-463.

Joly P., 2014. Maize herbicides mixtures effects on soil microbial communities : microcosms studies. Thèse de doctorat de l'Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II en écologie microbienne, 191 p.

Kaboré-Ouédraogo P.W., Savadogo P.W., Ouattara C.A.T., Savadogo A., Traoré A.S., 2010. Etude de la Bio-dépollution de Sols contaminés par les Hydrocarbures au Burkina Faso. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 30 : 19-28.

Kadjo V., Etchian O.A, Ble M.C, Soro D., Yapi J.N., Otchoumou A., 2016. Caractérisation de la pêche aux crevettes d'eau douce *Atya scabra* (Leach, 1815) (*Decapoda: Atyidae*) dans la rivière Bia, Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10 : 620-631.

Kaki A.A., 2014. Recherche de nouvelles potentialités de bactéries du genre *Bacillus* pour l'agriculture et l'agroalimentaire. Thèse de l'université de Constantine 1 en collaboration avec l'Université de Liège, option : bioprocédés et biotechnologie, application mycologique, 113 p.

Kanda M., Apkavi S., Wala K., Djaneye-Boundjou G., Akpagana K., 2014. Diversité des espèces cultivées et contraintes à la production en agriculture maraîchère au Togo. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8 : 115-127.

Kanda M, Wala K, Batawila K, Djaneye-Boundjou G, Ahanchede A, Akpagana K., 2009. Le maraîchage périurbain à Lomé : pratiques culturelles, risques sanitaires et dynamiques spatiales. *Cahiers Agricultures*, 18 : 356-363.

Kannahi M., Radhika M., 2014. Bioremediation of pesticide (Cypermethrin) using bacterial species in contaminated soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3 : 427-435.

Kébé I.B., Joseph M., Kouamé F.N., Prakash K.H., Gary S., Ake S., 2009. Isolement et identification de microorganismes indigènes de cacaoyères en Côte d'Ivoire et mise en évidence de leurs effets antagonistes vis-à-vis de *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses. *Sciences & Nature*, 6 : 71-82.

Khan S.U., 1980. Pesticides in the soil environment. Fundamental aspects of pollution control and environmental science, *Elsevier*, 247 p.

Kihampa C., Rubhera R.M., Hussein M., 2010. Levels of pesticide residues in irrigation effluent from tomato fields in Owiro Estate, Tanzania. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4 : 601- 607.

Kjeldahl J., 1883. Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Korpern. Fresenius, *Journal of Analytical Chemistry*, 22 : 366-382.

Koua S.H., 2020. Biocontrôle des agents fongiques et viraux du cacao (*Theobroma cacao L.*) et stimulation des mécanismes de défense du cacaoyer à l'aide de *Bacillus subtilis* isolées de la rhizosphère. Mémoire de thèse de Doctorat de l'université Nangui Abrogoua. Spécialité: Microbiologie et biotechnologie des aliments, 205 P.

Kouadio K.P., Yoboué K.E., Touré N., Beugré C.M., Aka K.F., Kouakou K. J., Yao-K.A., 2018. Effet des téguments de fèves de cacao sur la fertilité chimique d'un ferralsol et quelques paramètres de croissance du manioc, à Ahoué, Sud-Est Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 121 : 12144-12156.

Kouakou KJ., Seu J.G, Ahoua ES., Koffi B.Y., Moussa B., Fatiha Z., Mounia T., Denezon O.D, Yves-Alain B., 2019. Caractérisation physico-chimique des horizons de surface de sols à maraîchers dans la ville d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13 : 1193-1200.

Kpan K.G.K., Ehouman M.N., Touré M., Brou Y.L., Tiho S., Traoré S.K., Dembélé A., 2018. Toxicité d'un Herbicide à base de Glyphosate sur le ver de Terre *Eudrilus Eugeniae* kinberg, 1867 (*Oligochaeta, Eudrilidae*). *European Journal of Scientific Research*, 150 : 285-298.

Kpan K.G.K., Tiho S., Ehouman M.N., Toure M., Dembélé A., 2017. Évaluation de la toxicité d'un herbicide à base de 2,4-D sur le ver de terre *Eudrilus eugeniae* Kinberg, 1867 (*Oligochaeta, Eudrilidae*), *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 5 : 304-312.

Kumar A., Bhoot N., Soni I., John P.J., 2013. Isolation and characterization of a *Bacillus subtilis* strain that degrades endosulfan and endosulfan sulphate. *Biotechnology*, 4 : 1-9.

Kumar K., Kumawat P., 2018. A review on the effect of herbicides on the earthworms. *International Journal of Zoology Studies*, 3: 120-125.

Kumar R., Shambhavi A.T., Purushottam J.S., Shishu P.S., 2020. Isolation and Identification of *Bacillus Species* from Soil for Phosphate, Potassium Solubilisation and Amylase Production. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9 : 415-426.

Kumar P., Madhu K., Rituraj B., Dipendra K.M., Bharti S., 2021. *Bacillus thuringiensis* as microbial biopesticide : uses and application for sustainable agriculture. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31 : 1-7.

Kupferschmied P., Maurhofer M., Keel C., 2013. Promise for plant pest control: Root-associated pseudomonads with insecticidal activities. *Frontiers in Plant Science*, 4: 1-17.

Kwon G.H., Lee H.L., Park J.Y., Kim J.S., Lim J., Cheon-Seok Park C.S., Kwon D.Y., Yong-Suk Kim Y.S., Kim J. H., 2009. Development of a RAPD-PCR method for identification of *Bacillus* species isolated from Cheonggukjang. *International Journal of Food Microbiology*, 129 : 282-287.

Langiano D.C.V., Martinez B.R., 2008. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147 : 222-231.

Larpent J.P., Larpent M.G., 1990. Memento technique de microbiologie. Seconde édition. Technique et documentaire. *Lavoisier*, 417 p.

Le Bellec F., Scorbiac M., Sauzier J., 2017. Les pratiques phytosanitaires des producteurs de légumes de l'île Maurice : impacts et perspectives de changement. *Cahiers Agricultures*, 26 : 1-9.

Leboeuf C.D.B., Benizri E., Corbel G., Piutti S., A. Guckert A., 2002. Distribution of *Pseudomonas sp* populations in relation to maize root location and growth stage. *Agronomie*, 23 : 441-446.

Lefevre M., Racedo S.M., Denayrolles M, Ripert G., Desfougeres T., Lobach A.R., Simon R., Pelerin F., Jüsten P., Urdaci M.C., 2017. Safety assessment of *Bacillus subtilis* CU1 for use as a probiotic in Humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 83 : 54-65.

Leoz M.B., Garbisu C., Charcosset J.Y., Sanchez-Perez J.Y., Miguel, Antiguada I., Ruiz-Romera E., 2013. Non-target effects of three formulated pesticides on microbially-mediated processes in a clay-loam soil. *Science of the Total Environment*, 449 : 345-354.

Lim J.H, Ahn C.H., Jeong H.Y., Kim Y.H., Kim S.D., 2016. Genetic Monitoring of Multi-Functional Plant Growth Promoting Rhizobacteria *Bacillus subtilis* AH18 and *Bacillus licheniformis* K11 by Multiplex and Real-Time Polymerase Chain Reaction in a Pepper Farming Field. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 54 : 221-228.

Lin Q. S., Chen S.H., Hu M. Y., Ul Haq M. R., Yang L., Li H., 2011. Biodegradation of cypermethrin by a newly isolated *Actinomyces* HU-S-01 from wastewater sludge. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 8 : 45-56.

Locatelli L., Tarnawski S., Hamelin J., Rossi P., Aragno M., Fromin N., 2002. Specific PCR Amplification for the Genus *Pseudomonas* Targeting the 3' Half of 16S rDNA and the Whole 16S–23S rDNA Spacer. *Systematic and Applied Microbiology*, 25 : 220-227.

Lompo D.JP., 2007. Impact des résidus de pesticides sur les microorganismes des sols dans les agrosystèmes cotonniers du Burkina Faso. Mémoire Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) de l'université polytechniques de Bobo-dioulasso en Gestion Intégrée des Ressources Naturelles, 60 p.

Lucien L.C., 1986. The central limit theorem around 1935. *Statistical Science*, 1: 78-91.

Madjouma K., Kperkouma W., Komlan B., Gbandi D.B., Adam A., Koffi A., 2009. Le maraîchage périurbain à Lomé pratiques culturales, risques sanitaires et dynamiques spatiales. *Cahiers Agricultures*, 18 : 356-363.

Maïga M., Blanchoud H., Drissa D., Alliot F., Cissé A.S., Chevreuil M., 2014. Pesticides Occurrence in an Alfisol of Sudano-Sahelian Agricultural Watershed (Korokoro, Mali). *International Journal of Engineering Research and Applications*. 8 : 130-141

Majid M.R., Pahlaviani K., Massiha A., Issazadeh K., Panah Z., Muradov P.Z., 2012. Biodegradation of Cypermethrin by using Indigenous Bacteria Isolated from Surface Soil. 2nd International Conference on Environment and Industrial Innovation, IPCBEE 35, IACSIT Press, Singapore, 71-76.

Makaya D.N.N.P., 2018. Etude des mécanismes de résistances par efflux aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa* dans le district d'Abidjan, Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat en génétique et amélioration des espèces de l'Université Félix Houphouët-Boigny, 165 p.

Mambé-Ani P., Ouattara K.N., Elleingand F.E., Kadjo V., 2019. Assessment of the impact of pesticide use in urban and periurban agriculture in Abidjan, Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13 : 2824-2837.

Mamy L., Barriuso E., Gabrielle B., 2008. Evaluer les risques environnementaux des pesticides : exemple du désherbage des cultures résistantes ou non au glyphosate. *Innovations Agronomiques*, 3 : 121-143.

Marc J., 2004. Effets toxiques d'herbicides à base de glyphosate sur la régulation du cycle cellulaire et le développement précoce en utilisant l'embryon d'oursin. Thèse de doctorat de l'Université de Rennes 1 en Biologie, 165 p.

Marchadier E., 2009. Etude fonctionnelle d'un centre d'interactions protéiques chez *Bacillus subtilis* par une approche intégrée. Thèse de Doctorat de l'Université Paris XI, UFR Scientifique D'Orsay, 203 p.

Marchal N., Bourdon J.L., Richard C.L., 1991. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Edition Doin, 49-65.

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. Thèse de doctorat de l'Université de Grenoble en chimie biologie, 249 p.

Matthys B., Adiko A.F., Cissé G., 2006. Le réseau social des maraîchers à Abidjan agit sur la perception des préoccupations et des risques sanitaires liés à l'eau. *Revue électronique en sciences de l'environnement VertigO*, 3 : 1-11.

Maxime A., 2014. Dynamique de formation des biofilms de *Bacillus subtilis* à l'interface eau-air : expériences et modélisation. Mémoire de thèse de l'Université Paris Sud - Paris XI, Biophysique, 163 p

Mccoys M.R., Yang Z., Fu X., Ahn K.C., Gee.S.J., Bom D.C., Zhong P., Chang.D., Hammock B.D., 2012. Monitoring of total type II pyrethroid pesticides in Citrus oils and water by converting to a common product phenoxybenzoic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 : 5065-5070.

Meghdas I., Hamze M., Dabboussi F., Baida N., Daniel Izard D., 2004. Taxonomie du genre *Pseudomonas* : rétrospective et actualité. *Lebanese Science Journal*, 5 : 115-136.

Ministère de l'agriculture et du développement rural, 2018. Programme de transformation de l'agriculture en Afrique de l'Ouest (PTAAO) Plan de Gestion des Pestes (PGP). Rapport final, Ministère de l'agriculture et du développement rural. République de Côte d'Ivoire, 54 p.

Ministère de l'agriculture et du développement rural, 2009. Etat des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture. Rapport national, Ministère de l'agriculture, République de Côte d'Ivoire, 64 p.

Monard C., 2008. Biodégradation des herbicides en sols tempérés – Contrôle des communautés bactériennes dégradantes par la bioturbation du sol. Thèse de doctorat de l'université de Rennes 1 en biologie, 251 p.

Moneke A. N., Okpala G.N., Anyanwu C.U., 2010. Biodegradation of glyphosate herbicide in vitro using bacterial isolates from four rice fields. *African Journal of Biotechnology*, 9 : 4067-4074.

Manogaran M., Mohd Y.S., Nur A.Y., Wan L.W.J., Siti A.A., 2017. Isolation and characterisation of glyphosate-degrading bacteria isolated from local soils in Malaysia. *Springer*, 28 : 471-479.

Mössel D.A.A., Koopman M.J., Jongerius E., 1967. Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. *Applied Microbiology*, 15 : 650-653.

Muhinda M.J.J., Nzeyimana I., Bucagu C., Culot M., 2009. Caractérisation physique, chimique et microbiologique de trois sols acides tropicaux du Rwanda sous jachères naturelles et contraintes à leur productivité. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13 : 545-558.

Muliele M.T., Nsombo B.M., Olivier M. Kapalay, Mafuka P.M.M., 2017. Amendements organiques et dynamique de l'azote minéral dans le sol sableux de Kinshasa (RD Congo). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 32 : 5156-5167.

Murati M., 2012. Etude d'élimination de trois herbicides : Atrazine, Sulcotrione et Mésotrione en milieu aqueux par les procédés électrochimiques d'oxydation avancée. Thèse de doctorat de l'université de Marne la Vallée en ingénierie de l'environnement, 141 p.

Nangah K.Y., Yao-Kouamé A., Yao G.F., Kouakou Y.K. N., Alui K.A., Savane I., 2012. Attributs physico-chimiques et contrainte à la productivité agricole des sols du site manganésifère de Lauzoua (Guitry) en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 50 : 3459-3467.

Nandjui J., Voko D.R.R., Kouadio A.N.M.S., Fotso B., Yao T., Zézé A., 2013. Assessment of the occurrence and abundance of mycorrhizal fungal communities in soils from yam (*Dioscorea spp.*) cropping fields in Dabakala, North Côte d'Ivoire. *African Journal of Agricultural Research*, 8 : 5572-5584.

Naré R.W.A., Savadogo P.W., Gnankamary Z., Nacro H.B., Sedogo M.P., 2015. Analyzing Risks Related to the Use of Pesticides in Vegetable Gardens in Burkina Faso *Agriculture, Forestry and Fisheries*, 4 : 165-172

Nagwa I.E., Abdelhadi A.A., Rasha H.A., Ibrahim S., Ibrahim A.A., Gamal O., Dalia S.A., 2020. *Bacillus aryabhatai* FACU: A promising bacterial strain capable of manipulate the glyphosate herbicide residues. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27 : 2207-2214

Ndao T., 2008. Etude des principaux paramètres permettant une évaluation et une réduction des risques d'exposition des opérateurs lors de l'application de traitements phytosanitaires en culture maraîchère et cotonnière au Sénégal. Thèse de doctorat de l'université de Gembloux en Sciences Agronomiques, 196 p.

N'Diaye O.B.K., 2010. Technologie de décontamination des sols contaminés par des pesticides au Mali. Essai présenté au centre universitaire de formation en environnement en vue de l'obtention du grade de maitre en environnement, Université de Sherbrooke, 104 p.

Ndjéri-ndjouhou M., 2012. Synthèse et caractérisation de la birnessite électro-déposée : application à la dégradation du glyphosate. Thèse de docteur de l'Université d'Evry Val d'Essonne en Chimie, 276 p.

NF ISO 10390, 2005. Qualité du sol - Détermination du pH, 7 p.

NF ISO 18787, 2004. Produits agricoles et alimentaires - Détermination de l'activité de l'eau, 9 p.

Ngom S., Seydou T., Thiam M.B., Anasthasie M., 2012. Contamination des produits agricoles et de la nappe phréatique par les pesticides dans la zone des Niayes au Sénégal. *Revue des Sciences et de la Technologie*, 25 : 119-130.

Niemi R.M., Heiskanen I., Ahtiainen J.H., Rahkonen A., Mäntykoski K., Welling L., Laitinen P., Ruuttunen P., 2009. Microbial toxicity and impacts on soil enzyme activities of pesticides used in potato cultivation. *Applied Soil Ecology*, 41: 293-304.

Nikbin VS, Abdi-Ali A, Feizabadi MM, Gharavi S., 2007. Pulsedfield gel electrophoresis & plasmid profile of *Pseudomonas aeruginosa* at two hospitals in Tehran. *Indian Journal of Medical Research*, 126 : 146-51.

Nhu-Trang T.T., MAzzella N., Brigitte D., Delmas F., 2009. Développement et validation d'une méthode permettant le dosage du glyphosate et de l'AMPA dans les eaux surface par HPLC-ESI-MS/MS. XXXIXème congrès du Groupe Français des Pesticides, 13-15 mai 2009, Toulouse, 14 p.

Noumeur S.R., 2008. Biodégradation du 2,4-dichlorophénol par le microbiote tellurique de la région de Hamla (Batna). Mémoire de Magister en Microbiologie appliquée et biotechnologies microbiennes. Université de Mentouri Constantine, 74 p.

OMS, Organisation Mondiale de la Santé, 2011. Gestion des pesticides utilisés en santé publique et charge croissante des maladies à transmission vectorielle, 12 p.

OMS, Organisation Mondiale de la Santé, 1991. L'utilisation des pesticides en agriculture et ses conséquences pour la santé publique. Genève, 151 p.

Ongena M., 2014. Biopesticides : une protection plus naturelle pour les cultures. Université de Liège Gembloux Agro-bio Tech, Unité de Bioindustries. 10 p.

Onuwa P.O., Ishaq S. E., Adams U. I., Rufus S., 2017. Determination of Pesticide Residues in Edible Crops and Soil from University of Agriculture Makurdi Farm Nigeria. *Asian Journal of Physical and Chemical Sciences*, 3 : 1-17.

Ouattara H.G., Reverchon S., Niamke S.L., Nasser W., 2011. Molecular identification and pectate lyase production by *Bacillus* strains involved in cocoa fermentation. *Food Microbiology*, 28 : 1-8.

Pace N. R., 1996. New perspective on the natural microbial world: molecular microbial ecology. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 2 : 192-196.

Pankaj, S.A., Gangola S., Khati P., Govind K.G, Srivastava A., 2016. Novel pathway of cypermethrin biodegradation in a *Bacillus sp.* strain SG2 isolated from cypermethrin-contaminated agriculture field. *Biotechnology*, 6 : 1-11.

Pansu M., Gautheyrou J., 2003. L'analyse du sol, minéralogique, organique et minérale. *Springer*, 996 p.

Panta R., Piyush P., Rhitu K., 2016. Rhizosphere mediated biodegradation of 1,4-dichlorobenzene by plant growth promoting rhizobacteria of *Jatropha curcas*. *Ecological Engineering*, 94 : 50-56.

Pant G., Kumar S.M., Sibi G., 2013. Isolation, identification and characterization of p, p' - DDT degrading Bacteria from soil. *Journal of Environmental Science and technology*, 6 : 10-137.

Perdu C., 2013. Etude de deux protéines impliquées dans l'injection de toxines par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de thèse de l'Université de Grenoble en Virologie, Microbiologie, Immunologie, 258 p.

Pereira R.P.A., Peplies J., Mushi D., Brettar I., Höfle M.G., 2018. *Pseudomonas*-Specific NGS Assay Provides Insight into Abundance and Dynamics of *Pseudomonas* Species Including *P. aeruginosa* in a Cooling Tower. *Frontiers in Microbiology*, 9 : 1-15.

Periquet A., Michel B., Francine C., Michel C., Lecerf J.M., Leguille C., 2004. Pesticides, risques et sécurité alimentaire. Agence pour la recherche et l'information en fruits et légumes frais, 216 p.

Pesce S., 2006. Effets de pesticides sur l'activité et la diversité des communautés microbiennes d'un milieu lotique récepteur. Etudes in situ et expérimentales. Thèse de doctorat de l'Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, en Biochimie, Biologie Moléculaire, 202 p.

Pfleiger M., 2009. Etude de la dégradation photochimique des produits phytosanitaires absorbés à la surface des aérosols atmosphériques. Thèse de doctorat de l'Université de Provence en biosciences de l'environnement, chimie, santé, 293 p.

Pimentel D., 1995. Amounts of pesticide reaching target Pest: environmental impacts and ethics. *Journal of Agriculture and environment ethics*, 8 : 17-29.

Pollegioni L., Ernst S., Daniel S., 2011. Molecular basis of glyphosate resistance - different approaches through protein engineering. *The Febs Journal*, 278 : 2753-2766.

Prakash A., Duraipandian T., Ashu K., Ajith K., Sonia A., Sapana T., Barua A., Kannusamy S., 2014. Isolation, identification and characterization of *Burkholderia pseudomallei* from soil of coastal region of India. *SpringerPlus*, 3 : 1-10.

Pratibha P., Himani T., 2015. Isolation and identification of cypermethrin degrading *Serratia nematodiphila* from cauliflower rhizosphere. *International Journal of PharmTech Research*, 7 : 64-71.

Queyrel W., 2014. Modélisation du devenir des pesticides dans les sols à partir d'un modèle agronomique : évaluation sur le long terme. Thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie curie en Agronomie, Hydrologie et Environnement, 263 p.

Rachel C., 1962. Silent spring, Boston, Houghton Mifflin, 287 p.

Rafique N., Tariq S.R., Dildar A., 2016. Monitoring and distribution patterns of pesticide residues in soil from cotton/wheat fields of Pakistan. *Environmental monitoring assessment*, 188 : 1-12.

Raheem S.S., Mustafa A.A., AL-Saad H.T., 2017. Determination of Carbendazim Fungicide and Oxymatrine Insecticide Residues in the Soils of Four Agriculture Stations in Basrah Governorate by HPLC. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 7 : 9-16.

Rai A., 2017. Effet du stress salin sur les bactéries du sol : rôle d'extraits dérivés de *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca* et *Opuntia ficus-indica* sur la relation bactérie-plante sous stress salin, Thèse de l'Université Ferhat Abbas Sétif de Bouira en Microbiologie, 247 p.

Rainaud P-L., 2013. Evaluation des risques à long terme des herbicides à base de glyphosate sur la santé humaine, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, 179 p.

Rani K., Dhanial G., 2014. Bioremediation and Biodegradation of Pesticide from Contaminated Soil and Water - A Novel Approach. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3 : 23-33.

Rapport des consultations, 2013. Rapport des consultations de la Banque mondiale sur le genre. Être femme en Côte d'Ivoire : Quelles stratégies d'autonomisation ? Banque Mondiale, bureau régional, Côte d'Ivoire, Juin 2013.

Rhoads D.D., Randall D.W., Yan S., Scot E.D., 2012. Comparison of Culture and Molecular Identification of Bacteria in Chronic Wounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 13 : 2535-2550.

Richou-Bac L., Venant A., 1985. Une nouvelle famille d'insecticide : les pyréthrinoïdes de synthèse. Communication, *Bulletin de l'académie Vétérinaire de France*, 58 : 199-212.

Roger P., Jacq V., 2000. Introduction à la bioremédiation des sols, des eaux et de l'air. Université de Provence Aix-Marseille 1, 99 p.

Rose M.T., Cavagnaro T.R., Scanlan C.A., Rose T.J., Vancov T., Kimber S., Kennedy I.R., Kookana R.S., Zwieter L.V., 2016. Impact of Herbicides on Soil Biology and Function. *Advances in Agronomy*, Chapter three, 136: 88 p.

Saha S., Dutta D., Karmakar R., Deb Prasad Ray D.P., 2012. Structure–toxicity relationship of chloroacetanilide herbicides: Relative impact on soil microorganisms. *Environmental toxicology and pharmacology*, 34 : 307–314.

Salunkhe V.P., Sawant I.S., Banerjee K., Yogita R. R., Wadkar P.N., Oulkar D.P., Naik D.G., Sawant S.D., 2013. Biodegradation of Profenofos by *Bacillus subtilis* Isolated from Grapevines (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 : 7195-7202.

Samaké D., 2008. Traitement des eaux usées de tanneries à l'aide de matériaux à base d'argile. Sciences de la Terre. Thèse de l'université Joseph-Fourier-Grenoble. 168 p.

Sambrock J., Fritsch E.F., Maniatis T., 1990. Molecular Cloning, A Laboratory Manual (Second Edition), Volumes I. 2 and 3. *Journal of Basic Microbiology*, 30 : 623-624.

Sánchez D., Matthijs S., Gomila M., Tricot C., Mulet M., García-Valdés E., Lalucata J., 2014. *rpoD* Gene Pyrosequencing for the Assessment of *Pseudomonas*. Diversity in a Water Sample from the Woluwe River. *Applied and Environmental Microbiology*, 80 : 4738-4744.

Sarkar S., Seenivasan S., Premkumar R., 2009. Biodegradation of propiconazole by *Pseudomonas putida* isolated from tea rhizosphere. *Plant, Soil and Environment*, 55 : 196-201.

Savadogo P. W., 2001. Etude de la biodégradation anaérobie des pesticides utilisés en agriculture au Burkina Faso : cas particuliers du Décis, de l'ultracide et du sumithion. Thèse de doctorat de l'université de Ouagadougou en sciences biologiques appliquées option : biochimie-microbiologie, 114 p.

Savadogo P.W., Savadogo A., Ouattara A.S., Sedogo M.P., Traoré S., 2007. Anaerobic biodegradation of Sumithion an organophosphorus insecticide used in Burkina Faso agriculture by acclimatized indigenous bacteria. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11 : 1896-905.

Scales B.S., Dickson R.P., LiPuma J.J., Gary B. Huffnagle G.B., 2014. Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the *Pseudomonas fluorescens* Species Complex, an Unappreciated Colonizer of Humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 27 : 927-948.

Schrack D., Coquil X., Ortar A., Benoît M., 2009. Rémanence des pesticides dans les eaux issues de parcelles agricoles récemment converties à l'Agriculture Biologique. *Innovations Agronomiques*, 4 : 259-268.

Séry A., 2012. Le microcrédit : l'empowerment des femmes ivoiriennes. Thèse de doctorat, Université Paul-Valéry-Montpellier III, Montpellier, 382 p.

Sharma S., Sundaram C.S., Luthra P.M., Singh Y., Sirdeshmukh R., Gade W.N., 2006. Role of proteins in resistance mechanism of *Pseudomonas fluorescens* against heavy metal induced stress with proteomics approach. *Journal of Biotechnology*, 126 : 374-382.

Singh H., Dhruv S., Ajay K., Sharma A., Damini M., Singh M.C., 2020. Biodegradation of pesticides in soil a review. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 9 : 705-718.

Singh B.K., Ramesh C.K., Ajay Singh, Rup L., Tripathi K.K., 1999. Biochemical and Molecular Basis of Pesticide Degradation by Microorganisms. *Critical Reviews in Biotechnology*, 19 : 197-225.

Singh D.K., 2008. Biodegradation and bioremediation of pesticide in soil: concept, method and recent developments. *Indian Journal of Microbiology*, 48: 35-40.

Singh R., Singh P., Sharma R., 2014. Microorganism as a tool of bioremediation technology for cleaning environment: A review. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 4 : 1-6.

Singh S., V. Kumar, Singh J., 2019. Kinetic study of the biodegradation of glyphosate by indigenous soil bacterial isolates in presence of humic acid, Fe (iii) and Cu (ii) ions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7:103098.

Smith L.M., Sanders J.Z., Kaiser R.J., Hughes P., Dodd C., Connell C.R., Hood L.E., 1986. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature*, 321 : 674-679.

Soil Survey Manuel, 1951. Soil Survey Staff. Bureau of Plant Industry, soils and Agricultural Engineering. U. S. Dept. Agriculture Handbook N°18, 487 p.

Soro G., Wahabi S.A., Adjiri O.A., Soro N., 2019. Risques sanitaires et environnementaux liés à l'usage des produits phytosanitaires dans l'horticulture à Azaguié (Sud Côte d'Ivoire). *Journal of Applied Biosciences*, 138 : 14072 – 14081.

Son D., Zerbo F., Bonzi S., Legreve A., Somda I., Schiffers B., 2018. Assessment of Tomato (*Solanum lycopersicum L.*) Producers' Exposure Level to Pesticides, in Kouka and Toussiana (Burkina Faso). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15 : 1.17.

Sponsler D.B., Grozinger C.M., Hitaj C., Maj R., Botías C., Code A., Lonsdorf E.V., Melathopoulos A.P., Smith D.J., Suryanarayanan S., Thogmartin W.E., Williams N.M., Minghua Z., Douglas M.R., 2019. Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis. *Science of the Total Environment*, 662 : 1012-1027.

Sun P., Li J., Bu D., Nan X., Du H., 2016. Effects of *Bacillus subtilis* natto and Different Components in Culture on Rumen Fermentation and Rumen Functional Bacteria *In Vitro*. *Current Microbiology*, 72 : 589-595.

Suna L., Deyang K., Weidong G., Xinyan G., Wenqi T., Zhengjun S., Ying W., Na W., 2017. Determination of glyphosate in soil/sludge by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 1502 : 8-13.

Tallur P.N., Megadi V.B., Ninnekar H.Z., 2007. Biodegradation of Cypermethrin by *Micrococcus sp.* Strain CPN 1. *Biodegradation*, 19 : 77-82.

Tano B., Abo K., Dembélé A., Fondio L., 2011. Systèmes de production et pratiques à risque en agriculture urbaine : cas du maraîchage dans la ville de Yamoussoukro. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5 : 2317-2329.

Tarnagda B., Tankoano A., Tapsoba F., Sourabié P.B., Abdoullahi H.O., Djbrine A.O., Drabo K.M., Traoré Y., Savadogo A., 2017. Évaluation des pratiques agricoles des légumes feuilles : le cas des utilisations des pesticides et des intrants chimiques sur les sites maraîchers de Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, 117 : 11658-11668.

Tayabali A.F., Coleman G., Nguyen K.C., 2015. Virulence Attributes and Host Response Assays for Determining Pathogenic Potential of *Pseudomonas* Strains Used in Biotechnology. *Plos one*, 10 : 1-17.

Temgoua E., Ntangmo H. Tsafack, Pfeifer H.R, Njine T., 2015. Teneurs en éléments majeurs et oligoéléments dans un sol et quelques cultures maraîchères de la ville de Dschang, Cameroun. *African crop science journal*, 23 : 35-44.

Tejada M., 2009. Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate plus diflufenican herbicides. *Chemosphere*, 76 : 365-373.

Tejada M., Gomez I., Garcia-Martinez A.M., Osta P., Parrado J., 2011. Effects of Prochloraz fungicide on soil enzymatic activities and bacterial communities *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74 : 1708-1714.

Theodorakopoulos N., 2013. Analyse de la biodiversité bactérienne d'un sol contaminé de la zone d'exclusion de Tchernobyl et caractérisation de l'interaction engagée par une souche *Microbacterium* avec l'uranium. Thèse de doctorat de l'Université Aix-Marseille en Microbiologie, 198 p.

Toe A.M., 1994. Dégradation du Pentachlorophénol par les micromyces. Etude particulière des *Deutoromyces*. Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fournier Grenoble. 156 p.

Touré N., Yao K.A., Alui K.A., Guety T.P., 2010. Evaluation en éléments majeurs et traces métalliques d'un environnement de production agricole dans la vallée du Niéki au Sud-Est de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 34 : 2134-2144.

Toure Y., Ongena M., Jacques P., Guiro A., Thonart P., 2004. Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GAI in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. *Journal of Applied Microbiology*, 96 : 1151-1160.

Tournus C., 2016. Validation de l'identification des *Pseudomonas sp* par spectrométrie de masse type MALDI-TOF via la caractérisation d'une collection de souches environnementales et cliniques. Thèse de Doctorat en pharmacie de l'Université de Rouen, 155 p.

Travaglia C., Masciarelli O., Fortuna J., Gisela Marchetti G., Cardozo P., Lucero M., Zorza E., Luna V., Reinoso H., 2015. Towards sustainable maize production: Glyphosate detoxification by *Azospirillum sp.* and *Pseudomonas sp.* *Crop Protection*, 77: 102-109.

Tron I., Piquet O., Cohuet S., 2001. Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. Rapport de l'Observatoire Régional de Santé de Bretagne. 90 p.

Tsirinirindravo H.L., Rakotoarisoa M.T., Randrianierenana L.A., Andrianarisoa B., Raherimandimby M., Andriamady H., Randriamiarisoandraibe H., Andriampenotanjona B.F., Rajaobelinjatovo N.P., Raharijaona T.R., DePercin G., Delandes X., Pierluigi B., Larroque M., Margout D., 2018. Bioremediation of soils polluted by petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas putida*. *International Journal of Innovation Engineering and Science Research*, 2 : 9-18.

UIPP : Union des Industries de la Protection des Plantes, 2013. Rapport d'expertise collectif. 41 p.

Van den Berg F., Kubiak R., Benjey W.G., Majewski M.S., Yates S.R., Reeves G.L., Smelt J.H., Van der L.A., 1999. Emission of pesticides into the air. *Water, Air, & Soil Pollution*. 115 : 195-218.

Veiga F., Zapata J.M., Fernandez Marcos M.L., Alvarez E., 2001. Dynamics of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in a forest soil in Galicia, north-west Spain. *The Science of the Total Environment*, 271 : 135-144.

Verardo E., 2016. Procédés de traitement biologique *in situ*: la modélisation numérique comme outil d'aide à la décision. Thèse de doctorat de l'Université Bordeaux Montaigne en Science de la terre, 257 p.

Viesser J.A., Maura H.S.G., Lucca C.M., Pincerati M.R., Karp S.G., Maranhão L.T., 2020. Petroleum-Tolerant Rhizospheric Bacteria: Isolation, Characterization and Bioremediation Potential. *Scientific Reports*, 10 : 1-11.

Vig K., Singh D.K., Agarwal H.C., Dhawan A.K., Dureja P., 2001. Effect of repeated pesticide applications on soil properties in cotton fields: II. Insecticide residues and impact on dehydrogenase and arginine deaminase activities. In : "Impact of long term pesticides usage on soil properties using radiotracer techniques". Proceeding of final research coordination meeting. Organized by the Joint FAO/IAEA, *Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Hangzhou, Zhejiang, China, 24-28 May 1999*, 11 p.

Villarreal-Chiu JF, Quinn JP, McGrath J. W., 2012. The genes and enzymes of phosphonate metabolism by bacteria, and their distribution in the marine environment. *Frontiers in Microbiology*, 3 : 1-14.

Voko D.R.R.B., Ahonzo-Niamke S.L., Zézé A., 2013. Impact des propriétés physicochimiques des sols de culture du manioc sur l'abondance et la diversité des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules dans la zone agroécologique d'Azaguié, sud-est de la côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine*, 25 : 251-264.

Vreeken R.J., Speksnijder P., Bobeldijk-Pastorova P., Noij Th.H.M., 1998. Selective analysis of the herbicides glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water by on-line solid-phase extraction–high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 794 : 187-199.

Waiman C.V., Marcelo A.J., Mariano G., Band B.F., Zanini. G.P., 2012. A simple and rapid spectrophotometric method to quantify the herbicide glyphosate in aqueous media. Application to adsorption isotherms on soils and goethite. *Geoderma*, 170 : 154-158.

Walkley A., Black I.A., 1934. An examination of the Degtjaref method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chronic acid titration method. *Soil Science*, 37 : 29-38.

Wasi S., Tabrez S., Ahmad M., 2013. Use of *Pseudomonas spp.* for the bioremediation of environmental pollutants: a review. *Environmental monitoring assessment*, 126 : 146-151.

Weston D.P., Holmes R.W., Lydy M.J., 2009. Residential runoff as a source of pyrethroid pesticides to urban creeks. *Environmental Pollution*, 157 : 287-294.

White P.M., Potter T.L., Albert K., Culbreath A.K., 2010. Fungicide dissipation and impact on metolachlor aerobic soil degradation and soil microbial dynamics. *Science of the Total Environment*, 408 : 1393-1402.

Wibberg D., Luque-Almagro V.M, Igeño M.I., 2014. Complete genome sequence of the cyanide-degrading bacterium *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344, *Journal of Biotechnology*, 175 : 67-68.

Willemin ME., 2014. Modélisation de la toxicocinétique des isomères cis et trans de la perméthrine et de ses métabolites chez le rat et de leur métabolisme sur hépatocytes humains. Thèse de doctorat de l'université de technologie Compiègne en Biomécanique, Bio-ingénierie, 240 p.

Williams G.M., Kroes R., Munro I.C., 2000. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 31 : 117-165.

Winsor G.L., Lam D.W., Fleming L., Raymond L.R., Whiteside M.D., Yu N.Y., Hancock R.E.W., Brinkman F.S.L., 2010. *Pseudomonas* Genome Database: improved comparative analysis and population genomics capability for *Pseudomonas* genomes. *Nucleic Acids Research*, 39 : 596-600.

Wognin A.S., Ouffoue K.S., Assemmand E.F., Tano K., Koffi-Nevry R., 2013. Perception des risques sanitaires dans le maraîchage à Abidjan, Côte d'Ivoire *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7 : 1829-1837.

Yao A.A.S., Brou K., Koffi-Nevry R., Djè K.M., 2013. Microbiology of Ivorian Fermented Products: A Review. *Asian Journal of Agriculture and Food Science*, 1 : 37-47.

Yehia A.G.M., 2016. Advancement in bioremediation process: a mini review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 3 : 83-94.

Yin L. B., Zhao L. Z., Liu Y., Zhang D. Y., Zhang S. B., Xiao K., 2013. Isolation and Characterization of Cypermethrin Degrading Bacteria Screened from Contaminated Soil. Biodegradation of Hazardous and Special Products. Département du Biologique et Chimique, Université de Shaoyang, 16 p.

Yumoto I., Yamazaki K., Hishinuma M., Nodasaka Y., Suemori A., Nakajima K., Inoue N., Kawasaki K., 2001. *Pseudomonas alcaliphila* sp. nov., a novel facultatively psychrophilic

alkaliphile isolated from seawater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51 : 349-355.

Yu X. M., Yu T., Yin G.H., Dong Q.L., An M., Wang H.R., Ai C.X., 2015. Glyphosate biodegradation and potential soil bioremediation by *Bacillus subtilis* strain Bs-15. *Genetics and Molecular Research* 14 : 14717-14730.

Zazou H., 2015. Dégradation de pesticides dans l'eau par les procédés d'oxydation avancée (POA). Thèse de doctorat de l'université Paris-Est, 175 p.

Zhan H., Feng Y., Fan X., Chen S., 2018. Recent advances in glyphosate biodegradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 12 p.

Zhao H., Tao K., Zhu J., Liu S., Gao H., Zhou X., 2015. Bioremediation potential of glyphosate-degrading *Pseudomonas* spp. Strains isolated from contaminated soil. *Journal of General and Applied Microbiology*, 61 : 165-170.

Zhou C.F., Wang Y.J., Li C.C., Sun R.J., Yu Y.C., Zhou D.M., 2013. Subacute toxicity of copper and glyphosate and their interaction to earthworm (*Eisenia fetida*). *Environmental Pollution*, 180 : 71-77.

ANNEXES

Annexe 1

Milieu cétrimide

Composition	g/L
Cétrimide	20
Peptone de gélatine	16
Peptone de caséine	10
Acide nalidixique	15
Agar	10

Milieu KingA

Composition	g/L
Peptone A	20
Sulfate de potassium	10
Chlorure de magnésium	1,4
Agar purifié	12
Glycérol	10

Bouillon cœur cervelle

Composition	g/L
Extrait de cœur	5
Extrait de cervelle	12,5
Peptone	10
Glucose	2
Chlorure de sodium	5
Phosphate di sodique	2,5
Glycérol	30%

Milieu KingB

Composition	g/L
Peptone B	20
Hydrogénophosphate de potassium	1,5
Agar purifié	12
Glycérol	10

Gélose mossel

Composition	g/L
Peptone	10
Extrait de viande	1
Mannitol	10
Sulfate de polymyxine B	0,001
Rouge de phénol	0,025g
Chlorure de sodium	10
Jaune d'œuf	20%
Agar	14

Milieu minimum(MM)

Composition	g/L
NH ₄ NO ₃	10
Nacl	1
K ₂ HPO ₄	10
KH ₂ PO ₄	0,001
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,025g

Milieu Luria Bertani

Composition	g/L
Peptone	10
Extrait de levure	5
Nacl	10
Agar	15

Annexe 2

MATERIELS ET REACTIFS	
Une glacière contenant des carboglaces	un autoclave (Selecta, France)
Un GPS de type Garmin etrex 30	un réfrigérateur (LG, France)
Des sachets stériles	une balance électronique (ADAM AQT-600, Afrique du sud)
Des bottes	des étuves (Memmert, Allemagne)
Une tarrière	une plaque chauffante (IKA C-mag, France)
Des cuillères jettables	un bain marie (Selecta ,France)
Un stylo à bille	un microscope optique
Un marqueur à encre indélébile	un bec bunsen
Un ruban adhésif	Cétrimide agar
Du papier aluminium	King agar A et King agar B (Sigma-Aldrich, Espagne),
Un cahier	la gélose Mossel (Merck, Allemagne)
Un mètre-ruban	la gélose et le bouillon nutritif (HiMedia, Inde)
Alcool 70°C	le bouillon cœur-cervelle (BCC)
une éprouvette graduée	L'eau oxygénée
un pH-mètre (Mettler toledo, France),	les disques à oxydase
des capsules de verre	le glycérol
du bichromate de potassium	les boîtes de pétri de diamètre 60 mm
des erlenmeyers de 250 et 500 ml	des micropipettes de 1000 µl, 100 µl et 20 µl (Eppendorf, Allemagne)
un dispositif de dosage	des tubes falcon de 50 ml
l'acétone, l'hexane	des erlen-meyer
le dichlorométhane	des pipettes compte-gouttes
l'acétonitrile (Carlo Erba et Sigma-Aldrich, (France))	des tubes à hémolyse
Les papiers filtres whatman	des tubes à essai
les mortiers en porcelaine	des lames et lamelles
un appareillage HPLC-UV	Des formulations agrochimiques à base de glyphosate et cyperméthrine de type liquide (L)
rotavapor (BUCHI, Allemagne)	Le milieu minimum synthétique (MM)
Le kit d'extraction d'ADN	le séquenceur Genetic Analyser (Applied biosystem de marque Hitachi, Japon)
les amorces	Le kit de purification
l'eau ppi	
MgCl ₂	
Tampon 5x	
la taq polymérase les tubes PCR de 0,2 µl	
et les tubes Eppendorf de 1,5 ml	
un thermocycleur (Applied biosystème 9700, Etats Unis)	
Un poste de sécurité microbiologique (PSM) (Captair bio, France)	
des embouts ou cônes de 10, 20, 100, 200 et 1000 µl	

Fiche d'enquête

FICHE D'ENQUETE N°

Date:

Site :

I-IDENTIFICATION DU MARAICHER

Nom :

Prénom :

Sexe : Masculin Féminin

Age :

Situation matrimoniale :

Marié Célibataire Concubinage

Divorcé Veuf (ve):

Avez-vous des enfants ? Oui non

Si oui, Combien ?

Avez-vous été scolarisé ? Oui non

Si oui, quel est le niveau d'instruction ?

.....

Avez-vous reçu une formation dans le domaine du maraîchage ?

OUI : Non :

Seriez-vous prêt à suivre une formation ?

Oui : Non :

Si oui, dans quel domaine ?

Maraîchage : Sécurité sanitaire :

Bonnes pratiques agricoles: Autres:

II-DONNEES SUR L'EXPLOITATION

Quelle est la superficie de votre exploitation ?

.....

Quelles cultures maraîchères pratiquez-vous ?

.....

Depuis combien d'années pratiquez-vous la culture maraîchère sur votre parcelle ?

.....

Utilisez-vous des pesticides chimiques sur votre exploitation ?

.....

Quels sont les pesticides que vous utilisez pour la culture maraîchère ?

.....

Depuis combien d'années utilisez-vous les pesticides sur votre parcelle ?

.....

Quels types de pesticides utilisez-vous ?

Herbicides insecticides fongicides autres

.....

Quelle est la fréquence d'application des pesticides sur les parcelles ?

.....

Comment appliquez-vous les pesticides sur l'exploitation ?

Epandage : autres :

Quelles sont les contraintes liées à la production des cultures maraîchères ?

Commercialisation ? Conservation ? Ravageurs ?

Employés vous des salariés ? Oui non

Si oui, combien?

En cas de maladie sur votre parcelle, que faites-vous

.....

Avez-vous accès à l'irrigation ? Oui : Non :

Comment se fait la fertilisation du sol ?

Engrais chimique ? Engrais biologique ? Fientes de poulets ?

Sur quels critères ou sur quelles bases faites-vous le traitement chimique de l'exploitation ?

.....

Faites-vous appel à une structure ou quelqu'un pour vous orienter dans le traitement chimique

? Oui Non

Si oui, de quelle structure s'agit-il ?.....

Les traitements appliqués sont-ils?

Préventifs ? Curatifs ?

Où et comment stockez-vous les pesticides avant utilisation ?

.....

Utilisez-vous des équipements de protection avant l'épandage ?

.....

A combien revient le coût des pesticides utilisés pour le traitement ?

.....
Pensez-vous à la réduction de l'utilisation des pesticides chimiques ?

.....
Seriez-vous prêts à utiliser des méthodes alternatives de traitement ?

Oui Non

Si oui, laquelle ?

.....
Utilisez-vous des biopesticides sur votre parcelle ?

Que faites-vous du reste des pesticides non utilisé?

Oui.....Non.....

Si oui, le(s) quel(s).....

Que faites-vous des emballages et du reste des pesticides après utilisation ?

.....
Avez-vous connaissances de ce que les pesticides impactent le sol, les produits l'eau et la santé humaine?

.....
Avez-vous déjà effectués des analyses de résidus de pesticides sur vos sols ou de vos récoltes?

.....
Si oui, avez-vous eu connaissance des résultats?

.....

Annexe 3

LIMITES DE DÉTECTION ET DE QUANTIFICATION DE L'HPLC

Pesticide	Limite de détection (mg/kg)	Limite de quantification (mg/kg)
Glyphosate	0,0019	0,0059
Cyperméthrine	0,0086	0,0260
Carbendazime	0,0010	0,0050
Profénofos	0,0018	0,0054



Photo de l'HPLC utilisé pour les analyses chromatographiques

Annexe 4

Test de catalase

Le principe de ce test est que l'enzyme, la catalase a la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène avec dégagement de gaz. La réaction qui se produit lors de cette décomposition est la suivante:



Une colonie bien isolée est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur stérile et déposée sur une lame. Quelques gouttes d'eau oxygénée sont ajoutées. La présence d'une catalase se manifeste par un dégagement de gaz (apparition de bulle de gaz).

Test d'oxydase

L'oxydase est une enzyme qui a la propriété de catalyser la fixation de l'hydrogène et les électrons sur une molécule d'oxygène. Sur du papier buvard, mettre une goutte du réactif de l'oxydase. Prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile, une colonie bactérienne bien distincte et la déposer sur le disque à oxydase imprégné du réactif et observer la coloration. Si coloration violet alors la souche bactérienne est oxydase positive, si absence de coloration alors la souche bactérienne est oxydase négative.

Coloration de Gram

Faire un frottis (étalement sur une lame une colonie bactérienne délicatement prélevée dans une goutte d'eau physiologique) et laisser sécher autour de la flamme. Avec de l'alcool, fixer le frottis et l'enflammer. Ajouter du violet de gentiane sur la lame et laisser pénétrer pendant 1 min. Rincer avec de l'eau distillée stérile puis ajouter de la solution de lugol et laisser agir pendant 30 secondes. Rincer et décolorer avec de l'alcool pendant 5 secondes. Appliquer une solution de fushine et laisser agir pendant 30 secondes. Rincer délicatement et laisser sécher la lame avant observation au microscope.

Test de l'urée et indole

Dans un tube à hémolyse contenant 1,5 ml de l'urée, prélever une colonie bactérienne bien distincte et la barbotter dans le tube, incuber à 37°C pendant 24h. Le lendemain, le virement du bouillon au rose traduit une réponse positive au test de l'urée. Sur ces mêmes tubes ajouter 2 gouttes du réactif de Kovacks, si apparition d'un anneau rouge alors la souche testée est indole positive.

Annexe 5

Mélange réactionnel *Bacillus Subtilis*

Constituants	Volume pour 1 réaction	Volume pour n réactions
H ₂ O ppi	28,8 µL	28,8 x n
Tampon 5X coloré	5 µL	5 x n
Tampon 5X non coloré	5 µL	5 µl
Mgcl ₂ 25 mM	3 µL	3 x n
Dntps 10 mM	1 µL	1 x n
Amorce F ytcp	1 µL	1 x n
Amorce R ytcp	1 µL	1 x n
Taq polymérase	0,2 µL	0,2 x n

Distribuer 45 µl du mélange réactionnel dans chaque tube et ajouter 5 µL d'ADN extrait pour un volume final de 50 µL.

Mélange réactionnel *Pseudomonas sp*

Constituants	Volume pour 1 réaction	Volume pour n réactions
H ₂ O ppi	26,8 µL	26,8 x n
Tampon 5X coloré	10 µL	10 x n
Mgcl ₂	3 µL	3 x n
Dntps	1 µL	1 x n
Amorce F Pse	1 µL	1 x n
Amorce R Pse	1 µL	1 x n
Taq polymérase	0,2 µL	0,2 x n

Distribuer 43 µl du mélange et ajouter 7 µL d'ADN extrait pour un volume final de 50 µL

Mélange réactionnel PCR Big dye

Réactif	Volume pour 1 réaction
H2O ppi	10 μ L
Tampon	3 μ L
Amorce	1 μ L
Mix Big Dye	2 μ L
Volume total	20 μ L

Conditions de la PCR Big dye

Étapes d'amplification	Conditions d'amplification
Dénaturation	96°C / 10 sec
Hybridation	50°C / 5 sec
Élongation	60°C / 4 min
Nombre de cycles	25

Annexe 6

Séquence ytcp de *Bacillus subtilis*

Souche BT

GCTCATGTTTCTCGTCGTATTTACGATGCTGTTTAGCGGGCGGCATGATTCCGACTT
TCCTTGTGGTCAAATCGCTTGGATTGCTCGATTCTTACTGGGCGCTTATTTTGCCG
ACAGCCATTAATGCCTTTAACCTGATCATTCTGAAAACTTCTTTCAAATATCCC
GTCAAGCCTGGAAGAGTCCGCGAAAATTGACGGGTGCAATGATCTGGGCATATTC
TTAAAATTGTGCTGCCGCTGTCTCTTCTGCGATCGCAACGATTTCACTATTTTA
TGCGGTCACGTATTGGAACACGTATATGACAGCGATCTTGTACTTAAATGATTCA
GCAAATGGCCGATTCAGGTGCTTCTGCGCAAATCGTCATTGTATCAA

Souches Ba1

GACTTCCCTTTGTGGGCCAAATCGCTTGGATTGCTCGATTCTTACTGGGCGCTTA
TTTTGCCGACAGCCATTAATGCCTTTAACCTGATCATTCTGAAAACTTCTTTCAA
AATATCCCGGTCAAGCCTGGAAGAGTCCGCGAAAATTGACGGGTGCAATGATCT
GGGCATATTCTTTAAAATTGTGCTGCCGCTGTCTCTTCTGCGATCGCAACGATTT
CACTATTTTATGCGGTCACGTATTGGAACACGTATATGACAGCGATCTTGTACTTA
AATGATTCAGCAAATGGGCCGATTCAGGTGCTTCTGCGCAAATCGTCATTGT

Souche Ba2

ATCGGCCGGCAGCCGCTCATGTTTCTCGTCGTATTTACGATGCTGTTTAGCGGGCGG
CATGATTCCGACTTTCCTTGTGGTCAAATCGCTTGGATTGCTCGATTCTTACTGGG
CGCTTATTTTGCCGACAGCCATTAATGCCTTTAACCTGATCATTCTGAAAACTTC
TTCAAATATCCCGTCAAGCCTGGAAGAGTCCGCGAAAATTGACGGGTGCAATG
ATCTGGGCATATTCTTTAAAATTGTGCTGCCGCTGTCTCTTCTGCGATCGCAACG
ATTTCACTATTTTATGCGGTCACGTATTGGAACACGTATATGACAGCGATCTTGTA
CTTAAATGATTCAGCAAATGGGCCGATTCAGGTGCTTCTGCGCAAATCGTCATT
GT

Souche Ba 3

CTCATGTTTCTCGTCGTATTTACGATGCTGTTTAGCGGGCGGCATGATTCCGACTTT
CCTTGTGGTCAAATCGCTTGGATTGCTCGATTCTTACTGGGCGCTTATTTTGCCGA
CAGCCATTAATGCCTTTAACCTGATCATTCTGAAAACTTCTTTCAAATATCCCG
TCAAGCCTGGAAGAGTCCGCGAAAATTGACGGGTGCAATGATCTGGGCATATTTCT
TTAAAATTGTGCTGCCGCTGTCTCTTCTGCGATCGCAACGATTTCACTATTTTAT

GCGGTCACGTATTGGAACACGTATATGACAGCGATCTTGTACTTAAATGATTCAG
CAAAATGGCCGATTCAGGTGCTTCTGCGCCAAAATTCGTCATTGTATCAAGCGG
TATGCAGGGGGATATGTCTGAAA

Annexe 7

Séquences 16S *Pseudomonas sp*

Souche Psp5

ATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAA
GCGCGCGTAGGTGGTTTTGGTAAGATGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAA

Souche Psp6

ACCTTCCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGC
GCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACC

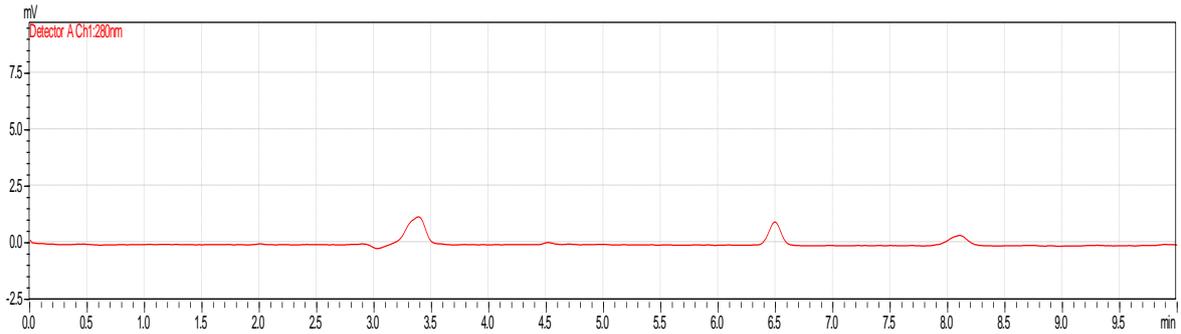
Souche Psp9

CCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGG
GTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTTTGGTAA
GATGGATGTGAAATCCCCGGGC

Annexe 8

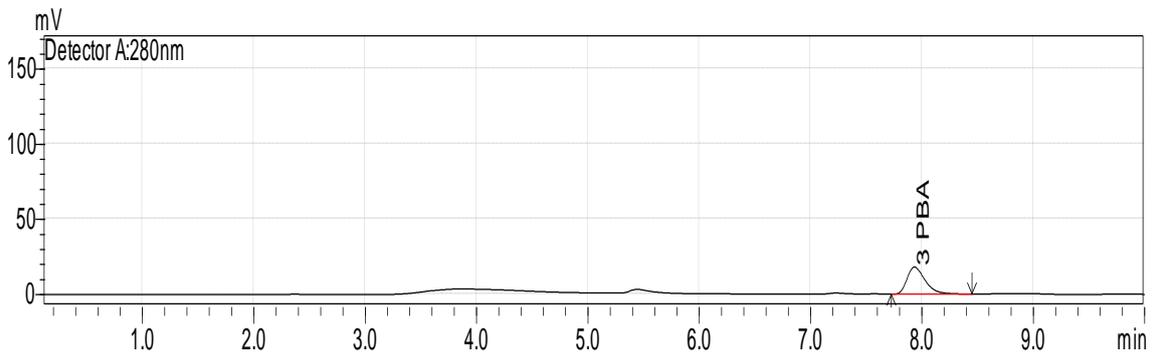
Chromatogrammes des métabolites des témoins et des souches bactériennes obtenus avant et après dégradation (H₀ et H₁₆₈).

Chromatogramme du 3-PBA obtenu en début d'expérimentation à H₀ en milieu liquide en présence de la cyperméthrine à 10 mg/L de la souche de *Pseudomonas sp* Psp5 à 25°C



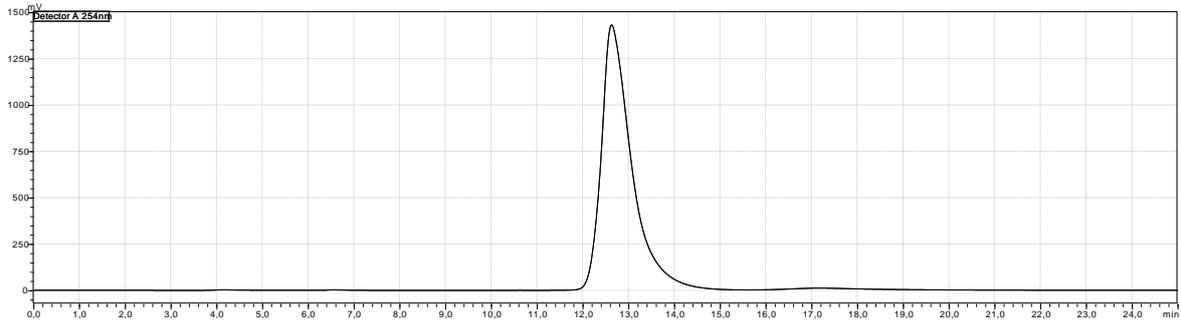
	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Souche Psp5 à H ₁₆₈	7,96	ND

Chromatogramme du 3-PBA obtenu en fin d'expérimentation à H₁₆₈ en milieu liquide en présence de la cyperméthrine à 10 mg/L de la souche *Pseudomonas sp* Psp5 à 25°C



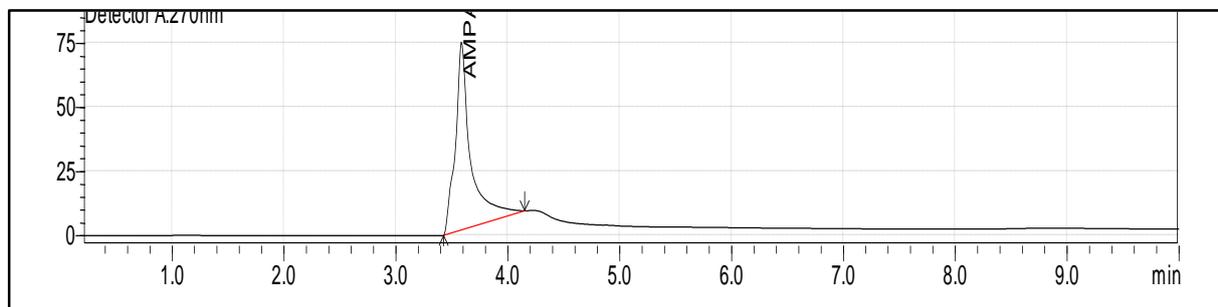
	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Souche Psp5 à H ₁₆₈	7,96	1,003

Chromatogramme de l'AMPA obtenu en début d'expérimentation à H₀ en milieu liquide en présence du glyphosate à 50 mg/L de la souche de *Pseudomonas sp* Psp5 à 25°C



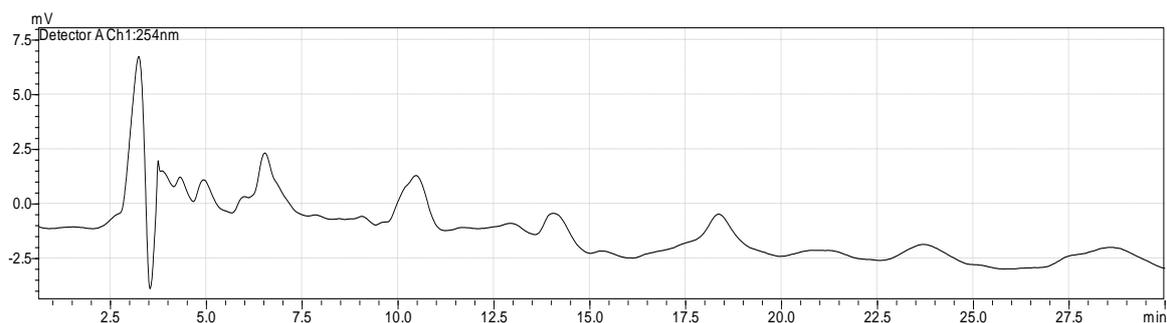
	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Souche Psp5 à H ₀	3,54	ND

Chromatogramme de l'AMPA obtenu en fin d'expérimentation à H₁₆₈ en milieu liquide en présence du glyphosate à 50 mg/L de la souche de *Pseudomonas sp* Psp5 à 25°C



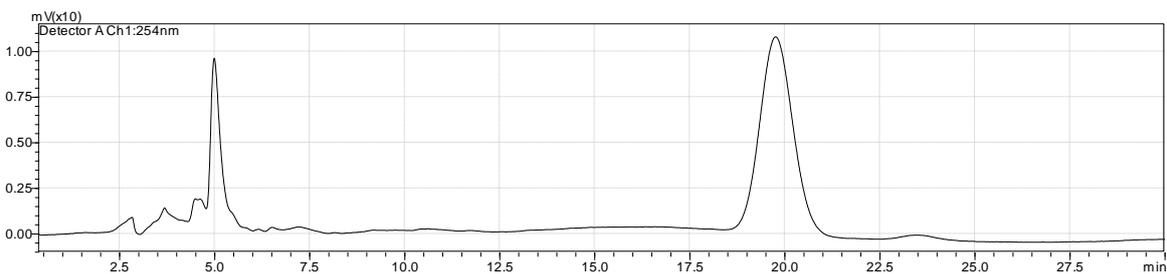
	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Souche Psp5 à H ₁₆₈	3,54	1,12

Chromatogramme de l'AMPA obtenu en début d'expérimentation à H₀ en milieu liquide en présence du glyphosate à 50 mg/L du témoin à 25°C



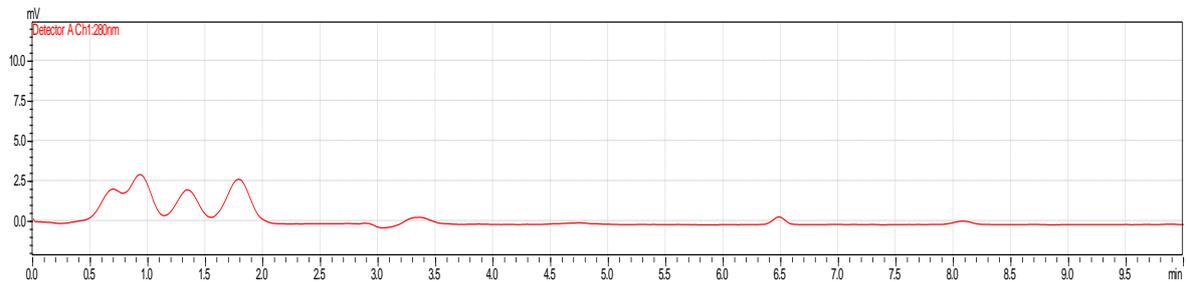
	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Témoin à H ₀	3,54	ND

Chromatogramme de l'AMPA obtenu en fin d'expérimentation à H₁₆₈ en milieu liquide en présence du glyphosate à 50 mg/L du témoin à 25°C



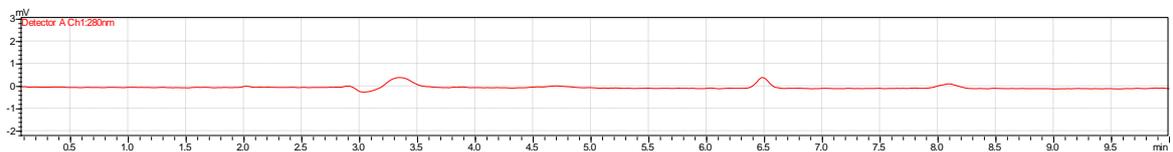
	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Témoin à H ₁₆₈	3,54	ND

Chromatogramme du 3-PBA obtenu en début d'expérimentation à H₀ en milieu liquide en présence de la cyperméthrine à 10 mg/L du témoin à 25°C



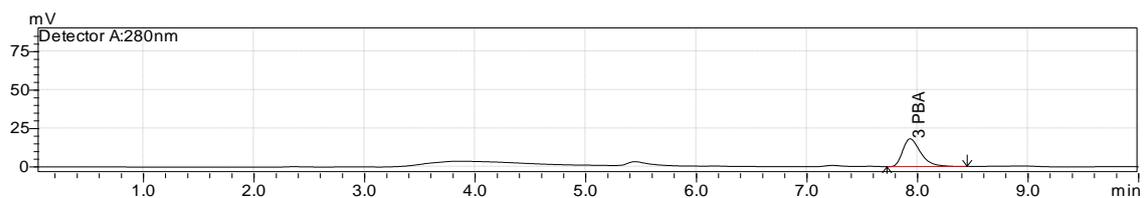
	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Témoin à H ₀	7,96	ND

Chromatogramme du 3-PBA obtenu en fin d'expérimentation à H₁₆₈ en milieu liquide en présence de la cyperméthrine à 10 mg/L de la souche *Pseudomonas sp* Psp5 à 25°C



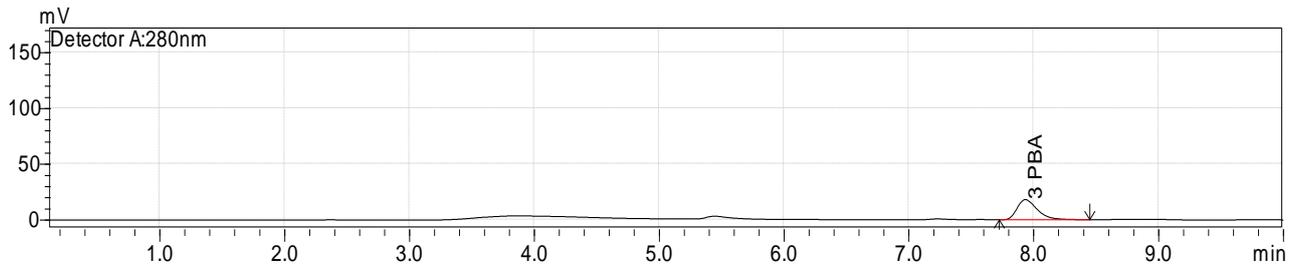
	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Témoin à H ₁₆₈	7,96	ND

Chromatogramme DU 3-PBA de la souches Ba1 à H₁₆₈:



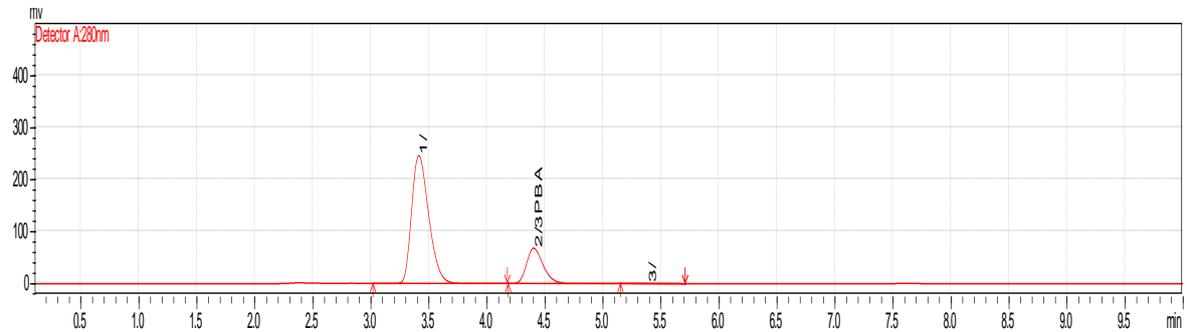
	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Souche Ba1 à H ₁₆₈	7,96	0,301

Chromatogramme DU 3-PBA de la souches Ba3 à H₁₆₈:



	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Souche Ba3 à H ₁₆₈	7,96	0,955

Chromatogramme DU 3-PBA de la souches Psp6 à H₁₆₈



	Temps de Rétention (mn)	Concentration (µg/L)
Psp6 à H ₁₆₈	7,96	0,1

Annexe 9

MINISTRE DE L'AGRICULTURE
ET DU DEVELOPPEMENT RURAL



LANADA
05203
N° : 72018/DL/bn

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE



Union- Discipline- Travail

12 8 NOV 2018

A Monsieur le Directeur
de l'Ecole Doctorale Polytechnique
de Yamoussoukro

Monsieur le Directeur,

J'accuse réception de votre correspondance numéro A66/2018/INP-HB/EDP/YKB/SD du 03 septembre 2018, dans laquelle vous sollicitez un stage de trois mois pour madame ANI Befiassou Perpétue dans le cadre de ses travaux de thèse.

En réponse à votre requête, j'ai le plaisir de vous informer que je donne mon avis favorable à cette demande de stage.

L'intéressée devra prendre attache avec la Direction du LANADA pour les formalités pratiques avant le démarrage effectif du stage.

Veillez agréer, Monsieur de Directeur, l'assurance de ma considération distinguée.



Le Directeur

Prof. Ardjouma DEMBELE

Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole

Siège Social : Plateau Imm. Les Harmonies - 04 BP 612 Abidjan 04 / Tél : (225) 20 22 58 38 / 20 22 58 43 Fax : (225) 20 22 71 17
Etablissement Public à caractère Administratif, créé par Décret n° 91-760 du 14 Novembre 1991, modifié par Décret n° 99-439 du 07 Juillet 1999 et modifié par Décret n° 213 -329 du 22/05/13 Compte contribuable n° 92 19 895 - G / E-mail : lanada@aviso.ci

COMMUNICATIONS
ET
PUBLICATIONS

12 au 13 Avril 2018: Communication orale aux journées scientifiques du Département de Formation et de Recherche en Génie Chimique et Agroalimentaire de L'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny. **Thème:** Dégradation microbologique des produits phytosanitaires utilisés dans la culture des produits maraîchers à Abidjan.

04-08 Juin 2018: Communication orale aux Doctoriales conjointes de l'Ecole Doctorale Sciences Exactes et Appliquées de l'Université d'Abomey-Calavi (Benin). **Thème:** Dégradation microbologique des produits phytosanitaires utilisés dans la culture des produits maraîchers à Abidjan.

26-27 Juin 2018: Communication orale à la deuxième édition des doctoriales de l'Ecole Doctorale Développement Durable et Dociété de l'Université de Thiès (Sénégal). **Thème:** Isolement, identification et caractérisation moléculaire des souches de *Pseudomonas sp* en vue de leur utilisation dans un processus de biodégradation des pesticides utilisés en maraîchage urbain et péri-urbain à Abidjan.

3-6 Juillet 2018: Communication affiche aux 4ièmes Journées des doctoriales de L'Ecole Doctorale Polytechnique (EDP) de l'Institut National Polytechnique-Houphouët Boigny. **Thème :** Etat des lieux de l'utilisation des produits phytosanitaires en culture maraîchère à Abidjan, Songon et Bingerville

14-17 Août 2018: Communication orale aux 19^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la SOACHIM à Lomé (Togo). **Thème:** Utilisation des produits phytosanitaires en agriculture urbaine et péri-urbaine à Abidjan : état des lieux.

06-09 Août 2019: Communication orale aux 20^{èmes} Journées Scientifiques Annuelles de la Soachim à Bamako (Mali). **Thème:** Isolement, identification et caractérisation moléculaire des souches de *Bacillus subtilis* en vue de leur utilisation dans un processus de biodégradation des pesticides utilisés en maraîchage urbain et péri-urbain à Abidjan.

30 Juillet 2020: Communication affiche aux 6^{ième} journées des doctoriales de L'Ecole Doctorale Polytechnique (EDP) de l'Institut National Polytechnique-Houphouët Boigny. **Thème :** Détermination des résidus de pesticides dans les sols de culture maraîchère de trois grandes zones de production à Abidjan et banlieues