

Université Ferhat Abbas Sétif 1

Faculté des Sciences de
la Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس سطيف 1

كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

N°/SNV/2025

Mémoire

Présenté par :

Messalti Hanine

Messalti Aya

Rahal Imen

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

THÈME

**Chitinases de *Bacillus* isolés de milieux arides :
Applications et perspectives en bioremédiation et
biocontrôle**

Soutenu publiquement le 29/06/2025

DEVANT LE JURY

Mr SILINI Allaoua

Pr. UFA Sétif 1

Président

Mme CHERIF-SILINI Hafsa

Pr. UFA Sétif 1

Promotrice

Mlle SAADAOUI Nora

Dr. UFA Sétif 1

Co-promotrice

Mme SAFFIDINE Karima

Pr. UFA Sétif 1

Examinatrice

Laboratoire de Microbiologie Appliquée

2024/2025

Remerciements

La réalisation de ce mémoire de fin d'études est l'aboutissement d'un long travail, empreint d'efforts, d'apprentissages et de découvertes. Il n'aurait jamais pu voir le jour sans le soutien, la disponibilité et les précieux conseils de nombreuses personnes à qui nous souhaitons exprimer notre plus sincère gratitude.

Nous adressons nos remerciements les plus respectueux et les plus profonds à

Professeur Cherif-Silini Hafsa

Notre directrice de recherche, pour son encadrement rigoureux, ses orientations scientifiques éclairées, sa patience, ainsi que sa confiance indéfectible tout au long de ce travail. Son expertise et sa disponibilité ont été des piliers essentiels à la réalisation de ce projet.

Nos remerciements vont également à Monsieur

Professeur Silini Allaoua

Président du jury, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider cette soutenance.

Nous lui sommes reconnaissantes pour ses remarques constructives, son regard critique et enrichissant, ainsi que l'intérêt qu'il a porté à notre travail.

Nous exprimons aussi notre vive reconnaissance à Mlle

Docteur Saadaoui Nora

Notre Co-promotrice, pour son accompagnement bienveillant, ses conseils pertinents et son soutien constant à chaque étape de notre recherche.

Nos remerciements s'adressent également à Madame

Professeur Saffidine Karima

Membre du jury, pour sa participation à l'évaluation de notre mémoire, pour la pertinence de ses questions, la richesse de ses observations et sa contribution précieuse à l'amélioration de la qualité scientifique de ce travail.

Enfin, nous exprimons toute notre reconnaissance à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Leur soutien moral, leurs encouragements et leur aide ont été d'un apport inestimable dans l'aboutissement de cette étape cruciale de notre parcours académique.

Avec toute notre gratitude.

Dédicaces

Je dédie ce travail à

Mes chers parents

*pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices et leur soutien indéfectible
qui ont toujours été ma principale source de motivation.*

À mes frères Abdo et Idris, et à ma sœur Amani

pour leur présence précieuse et les moments partagés et leur encouragement.

À mes tantes Zahira et Fouzia

pour leur gentillesse et leurs encouragements constants

À mon cousin Ahmed

pour son soutien et sa bienveillance

À ma chère grand-mère

pour sa sagesse et son affection.

À mon oncle Hamza et sa femme Sarah

*pour leur soutien et leurs précieux conseils. Je tiens également à exprimer
ma gratitude*

*À mes amies de laboratoire : Amilia, Hadil, Nada, Amel, Rahil, Zaineb et
Dahbia*

pour les moments partagés et le soutien mutuel

À mes chères amies, Hanine et Aya,

*qui ont activement contribué à la réalisation de ce travail, pour leur
collaboration, leur persévérance et leur inestimable soutien. Leur aide a été
précieuse à chaque étape de ce parcours.*

Rahal Imen

Dédicaces

Je dédie ce travail à

l'âme de mon cher père

que Dieu enveloppe de Sa miséricorde. À toi, mon père, qui m'as appris les premières lettres de la vie, qui as été mon soutien, mon exemple et mon guide. À toi qui as semé en moi l'amour du savoir et qui as veillé de longues nuits pour mon avenir, avant de quitter ce monde sans avoir eu le temps de récolter le fruit de tes efforts. Sois fier de ta fille parmi les habitants du ciel

À ma chère mère

, le battement de mon cœur et mon pilier dans la vie, merci pour tes prières sincères, ta patience noble et ton amour inégalé. Par la grâce de Dieu, puis grâce à ton soutien constant, j'ai atteint ce moment tant rêvé que nous avons toujours espéré ensemble.

À mes tantes Nora, Rzika et Khalissa

, qui ont été mon soutien et mon appui à chaque étape de mon parcours, à celles qui ont partagé avec moi les moments de fatigue comme ceux de joie, à celles qui ont été ma force dans les instants de faiblesse, Vous êtes une famille précieuse, une compagnie inestimable ; grâce à vous, tout a pris sens, et la fierté s'en est trouvée amplifiée.

À mes frères Hani, Sajda et Aya

merci d'avoir été mon soutien constant, mes compagnons dans la joie comme dans les épreuves. Grâce à votre amour et votre appui, le chemin a été plus doux et la réussite plus belle. Je vous aime fort.

À ma jumelle Aya et ma chère amie Imen

avec qui j'ai commencé ce parcours et l'ai terminé main dans la main, tu as toujours été mon autre moitié et le plus beau soutien à chaque étape.

À mes collègues du laboratoire

Amel, Zineb, Dhahbiya, Rahil, Amillia, Hadil, Nada pour les moments partagés, pour leur collaboration et leur soutien qui ont fait de ce travail une expérience inoubliable

Messalti Hanine

Dédicaces

Je dédie ce mémoire avec une profonde affection et une sincère gratitude

À ma chère mère khalissa

Source de force, d'amour et de prières, qui a toujours été à mes côtés. Grâce à ton dévouement, j'ai appris la valeur du travail et la foi en soi. Ce mémoire est un humble hommage à ton amour et à tes sacrifices.

À ma chère tante Nora

Repère précieux et soutien constant tout au long de mon parcours. Ta sagesse, ta bienveillance et ta foi en moi ont profondément marqué ma formation.

À mes chères tantes Rezika et Khalissa

Dont l'amour, les encouragements et la présence bienveillante m'ont soutenue à chaque étape. Vos prières, votre tendresse et votre foi en moi m'ont donné la force d'avancer.

À mes chers frère et sœur Sajda, Haní

Votre présence discrète mais essentielle m'a soutenue tout au long de ce parcours, Votre bienveillance et vos encouragements m'ont apporté force.

À mes chères amies de Laboratoire

Avec qui j'ai partagé efforts, doutes, rires et réussites, Votre présence m'a offert motivation. Merci pour votre amitié fidèle, votre soutien et tous ces souvenirs inoubliables.

À ma chère amie Imène et à ma sœur de cœur Hanine

Vous avez été bien plus que des compagnes de route, vous avez été une force, un appui et une lumière dans les moments d'effort comme dans les instants de doute. Votre présence, vos encouragements constants et votre implication sincère ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.

Et tout particulièrement à l'âme de mon père bien-aimé

À celui dont l'absence physique n'a jamais effacé la présence dans mes pensées et dans chacun de mes pas. « Je l'ai accompli pour toi. » Chaque réussite témoigne de tes enseignements et des valeurs que tu m'as transmises. Que Dieu t'accorde Sa miséricorde et t'accueille dans les vastes jardins de Son Paradis

Messalti Aya

Table de matières

المُلخَص

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
1-Revue bibliographique.....	3
1.1-La chitine	3
1.1.1- Historique.....	3
1.1.2 - Définition et structure de la chitine.....	3
1.1.3 - Sources de chitine	4
1.1.4 -Dégradation de la chitine	5
1.2-Les chitinases	6
1.2.1-Definition	6
1.2.2-Types de chitinases	7
1.2.2.1-Les endochitinases	7
1.2.2.2-Les exochitinases	7
1.2.3- Mécanismes d'action des chitinases	8
1.2.4- Classe de chitinases.....	8
- La famille GH18 (Glycoside Hydrolase 18)	9
- La famille GH19 (Glycoside Hydrolase 19)	9
- La famille GH20.....	10
1.2.5-Fonctions de la chitinase.....	14

1.2.6-Sources de production.....	15
1.2.6.1-Les insectes	15
1.2.6.2-Les plantes	16
1.2.6.3- Chitinases de mammifères	17
1.2.6.4-Chitinase des micro-organismes	17
- Les champignons	18
- Les bactéries.....	19
- Les Archaea	20
- Les actinomycètes	21
1.2.7- Méthodes de production et de purification de chitinase bactérienne	22
1.2.7.1- Sélection de la souche bactérienne	22
1.2.7.2- Milieux de culture et substrats inducteurs	22
1.2.7.3- Techniques de fermentation	23
1.2.7.4- Récupération de l'enzyme brute	23
1.2.7.5- Précipitation par le sulfate d'ammonium	23
1.2.7.6- Purification chromatographique.....	24
1.2.7.7- Vérification de la pureté et de l'activité enzymatique	24
1.2.8-Facteurs influençant la production de la chitinase	25
1.2.8.1-Effet du pH.....	25
1.2.8.2-Température de culture.....	26
1.2.8.3- Source de carbone	26
1.2.8.4-Sources d'azote	26
1.2.8.5-Présence de sels minéraux	27
1.2.8.6-Durée d'incubation.....	27
1.2.8.7-Approches d'optimisation par modèles statistiques.....	27

1.2.8.8-Régulation génétique	27
1.2.8.9-Conditions physiques	27
1.2.8.10-Inhibiteurs de la chitinase	28
1.3-Le genre <i>Bacillus</i>	29
1.3.1-Presentation du genre <i>Bacillus</i>	29
1.3.2-Morphologie du genre <i>Bacillus</i>	29
1.3.3-Classification du genre <i>Bacillus</i>	30
1.3.4-Habitat du genre <i>Bacillus</i>	31
1.3.4.1-Sol (principal habitat naturel)	31
1.3.4.2- Environnements aquatiques	31
1.3.4.3-Habitat animal et humain (commensal et pathogène)	32
1.3.4.4-Habitat végétal (endophytes et rhizosphère)	32
1.3.5- Le genre <i>Bacillus</i> une plateforme microbienne stratégique pour la production enzymatique et la valorisation de la chitine	33
1.4-Applications des chitinases	34
1.4.1- Agents de lutte biologique	35
1.4.2- Chitinases et lutte contre les champignons	35
1.4.3-Lutte biologique post-récolte	36
1.4.4- Biopesticides et lutte contre les insectes et moustiques	36
1.4.5- Gestion des déchets	37
1.4.5.1-Production de protéines unicellulaires (SCP) à partir de déchets chitineux	37
1.4.5.2-Valorisation des déchets chitineux	37
1.4.6- Applications médicales et pharmaceutiques	38
1.4.7-Applications alimentaires et bio thérapeutiques	38
1.4.8-Application de la chitinase dans l'industrie agroalimentaire	39
1.4.8.1- Dégradation de biopolymères pour la valorisation des co-produits	39

1.4.8.2- Applications potentielles dans l'emballage actif	39
1.4.8.3-Récupération de la tannase.....	40
2- Matériel et méthodes.....	41
2.1- Matériel biologique.....	41
- Sols de la rhizosphère du blé ou de l'orge	41
2.2- Criblage enzymatique des bactéries.....	43
2.3- Préparation de la chitine colloïdale.....	44
2.4- Production de chitinase sur milieu liquide.....	44
2.5- Évaluation de l'activité de la chitinase	44
2.6- Effet des facteurs abiotiques sur la croissance bactérienne et sur la capacité de production de la chitinase	45
2.6.1- pH.....	45
2.6.2- Température	45
2.6.3- Salinité	45
2.7- Effet des paramètres physico-chimiques sur l'activité de la chitinase	45
2.7.1- pH.....	46
2.7.2- Température	46
2.7.3- La salinité.....	46
2.7.4- Activité de l'eau (aw)	46
2.7.5- Temps d'incubation	46
2.7.6- Métaux lourds	46
2.8- Applications	47
2.8.1- Activité antifongique <i>in vitro</i> des chitinases bactériennes.....	47
2.8.2- Test de biocontrôle <i>in vivo</i> des chitinases bactériennes.....	47
- Sur les graines de blé.....	47
- Sur les fraises	48

2.8.3- Dégradation des déchets de crevettes	48
2.8.4- Utilisation de la chitinase comme biopesticide.....	48
2.9- Analyse statistique	49
3. Résultats et Discussion	50
3.1- Résultats.....	50
3.1.1- Criblage enzymatique des bactéries.....	50
3.1.2-Activité de la chitinase sur milieu liquide.....	52
3.1.3- Effet des facteurs abiotiques sur la croissance bactérienne et sur la capacité de production de la chitinase.....	53
3.1.3.1-Effet du pH.....	53
3.1.3.2-Température	54
3.1.3.3-Salinité	55
3.1.4- Effet des paramètres physico-chimiques sur l'activité de la chitinase	56
3.1.4.1-pH.....	56
3.1.4.2-Température	57
3.1.4.3- Salinité	58
3.1.4.4-Activité de l'eau (aw).....	59
3.1.4.5-Temps d'incubation.....	60
3.1.4.6- Les métaux lourds	61
3.1.5-Application.....	62
3.1.5.1- Activité antifongique in vitro des chitinases bactériennes	62
3.1.5.2- Test de biocontrôle in vivo des chitinases bactériennes.....	64
- Sur les fraises	64
- Sur les graines de blé.....	65
3.1.5.2- Utilisation de la chitinase comme biopesticide.....	66
3.1.5.3- Dégradation des déchets de crevettes	67

- Diminution du poids (%)	67
- Mesure de la concentration de N-acétyl glucosamine libérée	69
3.2- Discussion.....	71
4-Conclusion et Perspectives	78
Références Bibliographiques	80
Annexes	

المخلص

يهدف هذا البحث إلى استكشاف القدرة التحليلية للكيتين لسلاسل بكتيرية من جنس *Bacillus* بهدف استخدامها في التحلل الحيوي للكيتين وتطبيقات التكنولوجيا الحيوية الأخرى. تم فحص 39 عزلة بكتيرية من تربة منطقة الجذور في المناطق القاحلة بالجزائر باستخدام أجار الكيتين بدرجة حموضة 6. من بينها، أظهرت ست سلالات مؤشراً إنزيمياً مرتفعاً، يتراوح بين 2 و5. سمح التقييم في وسط سائل باختيار عزلتين *Bacillus thuringiensis* D1 و *Bacillus subtilis* D11، باعتبارهما الأكثر كفاءة، حيث بلغ أقصى نشاط إنزيمي لهما 139.45 وحدة/مل و150.92 وحدة/مل على التوالي. أظهر تأثير الضغوط اللاحيوية المختلفة (الرقم الهيدروجيني، ودرجة الحرارة، والملوحة) على نمو البكتيريا وإنتاج الكيتيناز، سلط الضوء على الطبيعة المتعادلة والمحبة للحرارة المتوسطة للسلاسل المدروسة (الدرجة المثلى عند 37 درجة مئوية)، وفي وسط غير ملحي (أقل من 400 مليمولار كلوريد الصوديوم). ويؤكد استقرار النشاط الأنزيمي على نطاق واسع من الرقم الهيدروجيني (3 إلى 9)، بالإضافة إلى الاستجابة الإيجابية لبعض الأيونات المعدنية Fe^{2+} , Mn^{2+} ، الإمكانيات الصناعية لهذه الكيتينازات. علاوة على ذلك، أظهر المستخلص الأنزيمي الخام من السلالتين D1 و D11 تطبيقات تكنولوجية حيوية واعدة. ولوحظ في الجسم الحي انخفاض ملحوظ في العدوى الفطرية التي يسببها فطر *Botrytis* و *Fusarium graminearum* على بذور القمح وثمار الفراولة. كما ثبتت فعالية مبيد الحشرات ضد فطر *Anobiinae Vrillette* على الكزبرة، مع معدل وفيات أعلى من 80%. وأخيراً، سجّلت قدرة كبيرة على التحلل البيولوجي لنفايات الروبيان، حيث وصل انخفاض الوزن إلى 50%، مصحوباً بزيادة في إطلاق إن-أسيتيل الجلوكوزامين. تُسلط هذه النتائج الضوء على إمكانيات سلالات *Bacillus* D1 و D11 كمرشحين رئيسيين للتطبيقات البيئية والصناعية، لا سيما في مجالات مكافحة الحيووية، وإدارة النفايات الحيووية، وإنتاج الإنزيمات لأغراض بيئية.

الكلمات المفتاحية

Bacillus، كيتيناز، الإجهادات البيئية، النشاط الإنزيمي، مكافحة الحيووية، مبيد حشري، تحليل الكيتين.

Résumé

Ce travail vise à explorer le potentiel chitinolytique de souches bactériennes du genre *Bacillus* en vue de leur valorisation dans la biodégradation de la chitine et d'autres applications biotechnologiques. Un total de 39 isolats bactériens, issus de sols de rhizosphère de régions arides d'Algérie, ont été criblés sur gélose à la chitine à pH 6. Parmi eux, six souches ont présenté un indice enzymatique élevé, compris entre 2 et 5. L'évaluation en milieu liquide a permis de sélectionner deux isolats, *Bacillus thuringiensis* D1 et *Bacillus subtilis* D11, comme les plus performants, avec des activités enzymatiques maximales respectives de 139,45 U/ml et 150,92 U/ml. L'effet de différents stress abiotiques (pH, température et salinité) sur la croissance bactérienne et la production de chitinase a mis en évidence le caractère neutrophile, mésophile (optimum à 37 °C) et en milieu non salin (inférieur à 400 mM de NaCl) des souches étudiées. La stabilité de l'activité enzymatique sur une large plage de pH (3 à 9) ainsi que la réponse positive à certains ions métalliques (Mn^{2+} , Fe^{2+}) confirment le potentiel industriel de ces chitinases. Par ailleurs, le filtrat enzymatique brut issu des souches D1 et D11 a montré des applications biotechnologiques prometteuses. *In vivo*, une réduction notable de l'infection fongique causée par *Fusarium graminearum* et *Botrytis cinerea* a été observée sur graines de blé et fruits de fraise. Une activité insecticide efficace a également été démontrée contre *Anobiinae* Vrillette sur coriandre, avec un taux de mortalité supérieur à 80 %. Enfin, une capacité significative de biodégradation des déchets de crevettes a été enregistrée, atteignant une réduction de poids allant jusqu'à 50 %, accompagnée d'une libération accrue de N-acétylglucosamine. Ces résultats soulignent le potentiel des souches *Bacillus* D1 et D11 comme candidates de choix pour des applications écologiques et industrielles, en particulier dans les domaines du biocontrôle, de la gestion des biodéchets et de la production enzymatique à visée environnementale.

Mots clés : *Bacillus*, chitinase, stress abiotiques, activité enzymatique, biocontrôle, insecticide, dégradation de la chitine .

Abstract

This study investigates the chitinolytic potential of *Bacillus* species strains for the biodegradation of chitin and their broader biotechnological applications. A total of 39 bacterial isolates, collected from the rhizosphere of wheat and barley grown in arid regions of Algeria, were screened on chitin agar medium at pH 6. Six strains exhibited high enzymatic indices (ranging from 2 to 5), with *Bacillus thuringiensis* D1 and *Bacillus subtilis* D11 showing the highest chitinolytic activities in liquid culture (139.45 U/mL and 150.92 U/mL, respectively). Abiotic stress factors (pH, temperature, and salinity) revealed that both strains are neutrophilic, mesophilic (optimal at 37 °C), and in non-saline medium (less than 400 mM NaCl). Their enzymatic activity remained stable over a broad pH range (3–9), and was enhanced in the presence of Mn²⁺ and Fe²⁺ ions, highlighting their industrial potential. Furthermore, crude enzymatic extracts from D1 and D11 showed promising biotechnological applications. In vivo tests demonstrated partial inhibition of *Fusarium graminearum* and *Botrytis cinerea* infections in wheat seeds and strawberries. The enzymatic extracts also exhibited strong insecticidal activity against *Anobiinae* *Vrillette* on coriander (over 80% mortality). Additionally, significant degradation of shrimp waste was achieved, with weight loss reaching 50% and a notable release of N-acetylglucosamine. These findings highlight the potential of *Bacillus* D1 and D11 as strong candidates for industrial and ecological applications, particularly in biocontrol, organic waste valorization, and environmentally friendly enzyme production.

Keywords: *Bacillus*, chitinase, abiotic stress, enzymatic activity, biocontrol, insecticidal, chitin degradation.