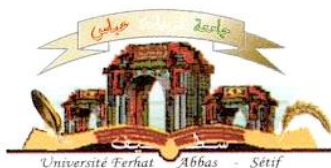


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

N°...../SNV/2025

Mémoire

Présentée par

SALHI AYA

SERRAI ILHEM

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : BIOCHIMIE APPLIQUEE

THÈME

*Identification des enzymes clés impliquée dans la biodégradation de
la matière organique de Bacillus sp1 et Pseudomonas sp1.*

Soutenue publiquement le : 19/06/2025

DEVANT LE JURY

Président

Dr SEKKIOU Salahedine

MCB. UFA Sétif 1

Promoteur

Pr SELLAL Abdelhakim

Pr. UFA Sétif 1

Co-promoteur

Dr BELATTAR Rima

MCA. UFA Sétif 1

Examineur

Dr KEBAILI Hakima

MCB. UFA Sétif 1

الملخص

تم تقييم السلالتين البكتيريتين (*Bacillus sp1* (M 8.1) و (*Pseudomonas sp1* (M 20.3)، المعزولتين من عينات تربة مائية، من حيث قدرتهما على إنتاج أربع إنزيمات ذات أهمية بيئية : الأميلاز، البروتياز، السيليلاز والكتيناز. أظهرت التحاليل الإنزيمية أن *Pseudomonas sp1* تمتاز بنشاط أميلازي واضح، حيث بلغ متوسط قطر منطقة التحلل 4.3 سم، متفوقة على *Bacillus sp1* التي سجلت 2.15 سم. وتم تسجيل نفس النمط بالنسبة لنشاط البروتياز، إذ بلغ متوسط قطر الهالة 1.33 سم لدى *Pseudomonas sp1* مقابل 0.7 سم لدى *Bacillus sp1*، مما يدل على تفوقها الإنزيمي. كذلك بالنسبة للنشاط السيليلازي حيث تفوق *Pseudomonas sp1* على *Bacillus sp1* بمتوسط قطر منطقة التحلل 2.2 سم مقابل 1.95 سم. أما بالنسبة للنشاط الكيتينيني فقد تم تسجيل نفس النمط، إذ بلغ متوسط قطر الهالة 2.85 سم بالنسبة لـ *Pseudomonas sp1* مقابل 2.35 سم لدى *Bacillus sp1* مما يظهر نشاطها الإنزيمي العالي. تبرز هذه النتائج الإمكانيات البيوتكنولوجية الواعدة لسلالة *Pseudomonas sp1*، خاصة في التطبيقات الصناعية المعتمدة على الإنزيمات المحللة، رغم أن جنس *Bacillus* يظل مرجعاً تقليدياً في هذا المجال.

الكلمات المفتاحية: التلوث العضوي، المعالجة الحيوية، *Pseudomonas*، *Bacillus*، النظم البيئية المائية، التطهير البيولوجي.

Résumé

Dans ce travail, deux souches bactériennes, *Bacillus sp1* (M 8.1) et *Pseudomonas sp1* (M 20.3), isolées à partir de sols aquatiques, ont été évaluées pour leur capacité à produire quatre enzymes d'intérêt écologique : amylase, protéase, cellulase et chitinase. Les essais enzymatiques ont révélé que *Pseudomonas sp1* présentait une activité amylasique notable avec une zone moyenne d'hydrolyse de 4,3 cm, dépassant celle de *Bacillus sp1* 2,15 cm. Une tendance similaire a été observée pour la protéase, avec des halos moyens de 1,33 cm pour *Pseudomonas sp1* contre 0,7 cm pour *Bacillus sp1*, suggérant une supériorité enzymatique de la première souche. En ce qui concerne l'activité cellulasique, *Pseudomonas sp1* a également montré de meilleurs résultats, avec un diamètre moyen de 2,2 cm contre 1,95 cm pour *Bacillus sp1*. Pour l'activité chitinasique, la même tendance a été enregistrée 2,85 cm pour *Pseudomonas sp1* contre 2,35 cm pour *Bacillus sp1*, confirmant ainsi sa forte activité enzymatique. Ces résultats mettent en évidence le potentiel biotechnologique prometteur de *Pseudomonas sp1*, notamment pour des applications industrielles nécessitant des enzymes hydrolytiques, bien que *Bacillus* reste une référence classique dans le domaine.

Mots-clés : Pollution organique, Bioremédiation , *Bacillus*, *Pseudomonas*, Écosystèmes aquatiques, Dépollution biologique.

Abstract

In this work, two bacterial strains, *Bacillus sp1* (M 8.1) and *Pseudomonas sp1* (M 20.3), isolated from aquatic soil samples, were evaluated for their ability to produce four ecological relevant enzymes: amylase, protease, cellulase, and chitinase. Enzymatic assays revealed that *Pseudomonas sp1* exhibited notable amylolytic activity, with an average hydrolysis zone of 4.3 cm, surpassing that of *Bacillus sp1* 2.15 cm . A similar trend was observed for protease activity, with average halo diameters of 1.33 cm for *Pseudomonas sp1* compared to 0.7 cm for *Bacillus sp1*, indicating a higher enzymatic potential in the former. As for cellulase activity, *Pseudomonas sp1* also showed better results, with an average degradation zone of 2.2 cm, compared to 1.95 cm for *Bacillus sp1*. Regarding chitinase activity, the same trend was recorded 2.85 cm for *Pseudomonas sp1* versus 2.35 cm for *Bacillus sp1*, further confirming its high enzymatic activity. These findings highlight the promising biotechnological potential of *Pseudomonas sp1*, particularly for industrial applications requiring hydrolytic enzymes, although *Bacillus* remains a classical reference in the field.

Keywords: Organic pollution, Bioremediation, *Bacillus*, *Pseudomonas*, Aquatic ecosystems, Biological decontamination.

Remerciements

*Nous commençons cette modeste reconnaissance en adressant nos louanges à **Allah**, source de toute force et de toute sagesse, pour nous avoir permis d'accomplir ce travail avec patience, persévérance et détermination.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude la plus sincère à nos **chers parents**, pour leur amour inébranlable, leurs encouragements constants et les sacrifices silencieux qu'ils n'ont cessé de faire tout au long de notre parcours académique.*

*Nos remerciements vont avec un profond respect au **Professeur SELLAAL Abdelhakim**, directeur de ce mémoire, pour son accompagnement rigoureux, la richesse de ses orientations, sa disponibilité exemplaire et l'intérêt qu'il a porté à chaque étape de ce travail, tant sur le plan théorique que pratique.*

*Nous exprimons également nos remerciements les plus chaleureux au **Dr BENCHIKH Omar** ainsi qu'à **Dr BELATTAR Rima** pour leur accompagnement bienveillant, leurs conseils et leur soutien tout au long de cette recherche.*

*Nos sincères remerciements s'adressent également au **Dr SEKKIOU Salah Eddine**, président du jury, ainsi qu'à **Dr KEBAILI Hakima**, membre du jury, pour le temps consacré à l'évaluation de notre travail et pour leurs remarques pertinentes et constructives.*

Enfin, nous remercions de tout cœur toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire, par un mot d'encouragement, un conseil ou une aide, aussi discrète soit-elle.

Dédicaces

À Mon Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eus pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail est le fruit des sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

À Ma Mère

Affable, honorable, aimable, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence. Tu n'as jamais cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour ses enfants, en me guidant sur le bon chemin dans ma vie et mes études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

À Mes soeurs

*À mes sœurs **Randa** et **Loudjaine** qui m'ont toujours soutenu et cru en moi.*

*A ma chère sœur **Chaïma**, et si elle n'est pas la fille de ma mère, elle est la fille de mon cœur. Et à tous mes amis avec qui j'ai partagé une partie de mon parcours et vécu des moments inoubliables tout au long de ces années universitaires, en particulier **Sabira**, **Lina**, **Takoua**, **Afaf**, **Wassila**, **Basma**, et ma collègue de recherche **Aya**, merci du fond du cœur.*

*À tous les membres de ma famille, en particulier **Youcef**, **Basma**, **Lyazid**, **Taher**, **Mehdi** et **Sabrina**.*

Je porte dans mon cœur une tendresse pour ceux qui nous ont quittés physiquement mais qui restent avec nous en esprit, ma grand-mère et mes grands-parents.

ILHEM.

Dédicaces

Du plus profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail :

À celle qui m'a donné la vie, qui a veillé sur mes pas avec amour et patience,

À celle dont le regard et les prières m'ont accompagné dans chaque épreuve :

Ma chère Mère.

À celui qui a toujours cru en moi, qui m'a encouragé sans relâche,

À celui dont le silence cache un amour immense :

Mon Père bien-aimé.

*À ma sœur " **Oumaïma** ", douce complice de tous les jours,*

*À mon frères " **Ishak** ", piliers de ma force et de ma confiance,*

*À mes proches parentes " **Manar** " et " **Douaa** ", dont la générosité m'a profondément touché,*

Et à toute ma famille, pour leur soutien indéfectible et leur présence rassurante.

Je tiens aussi à exprimer ma reconnaissance à mes précieuses amies :

*" **Ines** ", " **Ilhem** ", " **Dounia** ", " **Afef** " et " **wassila** " , Pour leur écoute, leur bienveillance et leur présence, Qui ont illuminé ce parcours parfois semé d'obstacles.*

À toutes ces âmes chères,

Ce travail n'est qu'un reflet de l'amour, du courage et des valeurs que vous m'avez transmis.

Merci, du fond du cœur.

Aya.

Liste d'abréviation

BAF	Facteur de Bioaccumulation (Bioaccumulation Factor)
BCF	Facteur de Bioconcentration (Bioconcentration Factor)
BPC	Biphénylespolychlorés
BTEX	Benzène, Toluène, Ethylbenzène
CMC	Carboxyméthylcellulose
COV	Composés Organiques Volatils
COS	Chito-oligosaccharides
DBO	Demande Biologique en Oxygène
DBPs	La formation de sous-produits de désinfection
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DOM	Matière Organique Dissoute
ETM	Eléments Traces Métalliques
HAA	Les Acides Haloacétiques
HAP	Hydrocarbures Aromatiques Polycyclique
NA	Nutrient Agar(Gélose Nutritive)
NHS	Substances Non Humiques
NOM	Matières Organiques Naturelles
OCPs	Pesticides Organochlorés
POPs	Polluants Organiques Persistants
PPCP	Produits Pharmaceutiques et Soins Personnels

THMs	Trihalométhanes
YMA	Gélose au Mannitol et Extrait de Levure (Yeast Mannitol Agar)

Liste des tableaux

Tableau 1: Représente les enzymes utiliser dans la bioremediation (30)

Tableau 2: Représente les composants du milieu YMA(33)

Tableau 3: Représente les composants du milieu CMC (35)

Tableau 4: Diamètres (en cm) des zones de lyse indiquant la production d'amylase par les souches bactériennes (38)

Tableau 5: Diamètres (en cm) des zones de lyse indiquant la production de protéase par les souches bactériennes (40)

Tableau 6: Diamètres (en cm) des zones de lyse indiquant la production de cellulase par les souches bactériennes (42)

Tableau 7: Diamètres (en cm) des zones de lyse indiquant la production de chitinase par les souches bactériennes(44)

Liste des figures

Figure 1: Mise en évidence de l'activité amylolytique chez *Bacillus* sp1 (M 8.1) et *Pseudomonas* sp1 (M 20.3) sur milieu gélosé à base d'amidon après coloration au lugol (37)

Figure 2: Mise en évidence de l'activité protéolytique chez *Bacillus* sp1 (M 8.1) et *Pseudomonas* sp1 (M 20.3) après incubation de cinq jours à 30 °C sur un milieu spécifique(39)

Figure 3: Mise en évidence de l'activité cellulolytique des souches *Bacillus* sp1 (M 8.1) et *Pseudomonas* sp1 (M 20.3) après cinq jours d'incubation à 30 °C sur un milieu spécifique(42)

Figure 4: Mise en évidence de l'activité chitinolytique des souches *Bacillus* sp1 (M 8.1) et *Pseudomonas* sp1 (M 20.3) après cinq jours d'incubation à 30 °C sur un milieu contenant de la chitine(44)

SOMMAIRE

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre 01: La pollution des eaux et des sédiments.

1. Pollution	2
1.1 Les sources de pollution des eaux et des sédiments	2
1.1.1 Pollution d'origine anthropique	3
1.1.1.1 Les combustions fossiles et de biomasse	3
1.1.1.2 Les sources industrielles.....	3
1.1.1.3 Agriculture	4
1.1.1.4 Les rejets domestiques.....	4
1.1.2 Pollution d'origine naturelle.....	4
1.1.2.1 Agents physiques.....	4
1.1.2.2 Agents chimiques organiques	5
1.1.2.3 Agents chimiques inorganiques	5
1.1.2.4 Agents biologiques	5

Chapitre 02: La pollution Organique.

2. Pollution Organique.....	5
2.1 Origines de la pollution organique	6
2.1.1 Sources anthropiques.....	6
2.1.1.1 Activités agricoles.....	7
a. Engrais organique	7
b. Déjections animales.....	7
2.1.1.2 Rejets domestiques	8
a. Eaux usées	8
b. Déchets alimentaires.....	8
2.1.1.3 Effluents industriels.....	9
a. Industries agroalimentaires.....	9
b. Papeteries.....	9
2.1.2 Sources naturelles	9
2.1.2.1 Décomposition de la matière végétale et animale	10
2.1.2.2 Apports naturels par ruissellement.....	10
2.2 Types de polluants organiques.....	10
2.2.1 Matières organiques biodégradables (protéines, glucides, lipides).....	10
a. Protienenes.....	11