

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
HOUARI BOUMEDIENE**

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de MAGISTER

En : SCIENCES DE LA NATURE

Spécialité : Ecologie Microbienne de la Rhizosphère

Par : M^{me} Insaf TOU-DALLIL

Sujet

**Bioremédiation du Cd, Zn et Cu, par deux bactéries
rhizosphériques**

Soutenu publiquement le 16/06/2013, devant le jury composé de :

M^{me} F.Rahmania

M^r Y.Kaci

M^{me} S.Athmania-Guemouri

M^{me} M.A.Aziza

Professeur.USTHB

Professeur.USTHB

Maitre de conférence A-USTHB

Directrice de recherche-CDER

Présidente

Directeur de mémoire

Examineur

Examineur

Résumé

La résistance de deux bactéries rhizosphériques : *Burkholderia fungorum* et *Pseudomonas putida*, au Cd, Zn et Cu, a été étudiée en utilisant la méthode des puits par diffusion du métal en milieu SLP solide et observation des zones d'inhibition. Les deux souches ont montré des Concentrations Minimales Inhibitrices élevées dont : (100 mg/L, 400 mg/L, 300 mg/L) chez *P.putida* souche Pp01 et (100 mg/L, 1000mg/L, 500 mg/L) chez *B.fungorum* souche Bf01 pour le Cu, Cd et Zn respectivement. Le même ordre de toxicité a été noté pour *B. fungorum* et *P. putida*: Cu>Zn>Cd. Il a été donc admis dans ce travail que *B. fungorum* disposait une meilleure résistance aux métaux et a été choisie de ce fait pour l'étude de l'élimination des métaux. Les cinétiques de la croissance bactérienne et de la réduction des métaux ont été suivies en milieu SLP liquide, additionné de concentrations croissantes en métaux. Les métaux éliminés par *B. fungorum*, sont analysés par Spectrométrie à Absorption Atomique dans le surnageant après centrifugation 15 mn à 15000 rpm. A la lumière des résultats, *B. fungorum* a exposé une haute affinité pour l'élimination du Cd, Zn et Cu. L'élimination a débuté dès les premières heures du contact de la bactérie avec le métal pendant la phase exponentielle de croissance. La majorité s'est faite pendant la phase exponentielle de croissance, et quand elle a abouti le plateau, elle avait atteint presque les 90% pour les trois métaux. Les deux souches étudiées avaient donc montré un fort degré de résistance aux trois métaux, spécialement le cadmium (un métal très toxique), chez *Burkholderia fungorum*, qui présente un excellent outil biologique de bioremédiation des métaux lourds, pour son efficacité, disponibilité et faible cout.

Mots clés : *Burkholderia fungorum*, *Pseudomonas putida*, bioremediation, Cadmium, cuivre, zinc, métaux lourds

Abstract

The rhizospheric bacteria resistance of: *Pseudomonas putida* and *Burkholderia fungorum*, to Cd, Zn and Cu was studied using the wells metal diffusion method on SLP solid medium and inhibition zones was observed. Both strains showed a high minimum inhibitory concentrations (MIC) which (100 mg/L, 400 mg/L, 300 mg/L) with *P. putida* Pp01 strain and (100 mg/L, 1000mg/L, 500 mg/L) with *B.fungorum* BF01 strain for Cu, Cd and Zn respectively. The same order of toxicity was therefore noted for Both strains: Cu> Zn> Cd. As a result, it was assumed in this work that *B. fungorum* had better resistance to these three metals and was consequently chosen for the metal removal study. The monitoring kinetics of growth was followed in SLP liquid medium added with increasing concentrations of metals. Metals removed by *B. fungorum* was analyzed by Atomic Absorption Spectrometry in the supernatant after centrifugation for 15 min at 15000 rpm. The results showed that *B. fungorum* exhibited a high affinity for Cd, Zn and Cu removal. The elimination began dice the early hours of bacteria contact with the metal during the exponential growth phase. The removal majority is made during the exponential growth phase and when she reached the plateau she was almost 90% for the three metals. Both strains had shown a high resistance degree to all three metals studied, especially cadmium (a highly toxic metal) with *Burkholderia fungorum*, which present an excellent biological tool for heavy metals bioremediation because of its efficiency, reliability and low cost.

Keywords: *Burkholderia fungorum*, *Pseudomonas putida*, bioremediation, cadmium, copper, zinc, heavy metals

المخلص

تمت دراسة مقاومة البكتيريا الروزوسفيرية *Burkholderia fungorum* و *Pseudomonas putida* للزئبق، الزنك و النحاس باستخدام طريقة الأبار لنشر المعدن في الوسط SLP الصلب و مراقبة مناطق التثبيط، و من ثم إعطاء ترتيبها من التسمم للمعادن الثلاثة المدروسة، حيث كان للبكتيريا *Burkholderia fungorum* و *Pseudomonas putida* نفس الترتيب: النحاس < الزنك < الكاديوم. بتراكيز متفاوتة (100mg/L, 400mg/L, 300mg/L) ل *P. putida* و (100mg/L, 1000mg/L, 500 mg/L) ل *B.fungorum* على التوالي Zn, Cd و Cu. لذلك إقترض في هذا العمل أن للبكتيريا *B. fungorum* مقاومة أفضل لهذه المعادن، و بتالي تم اختيارها لدراسة إزالة المعادن. تمت متابعة حركية النمو في وسط SLP سائل يحوي المعادن بتراكيز متزايدة وبالتالي تحديد التركيز الأدنى المثبط (MIC) لكل سلالة. تم تحليل المعادن المزالة من طرف *B. fungorum* بواسطة الامتصاص الذري الطيفي في السطح الطائف بعد الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة في 15000 دورة في الدقيقة. حيث أظهرت النتائج قابلية *B. fungorum* العالية لإمتصاص و ازالة الكاديوم، الزنك و النحاس بدأت الإزالة منذ الساعات الأولى من اتصال البكتيريا مع المعدن أثناء مرحلة النمو المتسارع، مع إجراء معظم الإزالة خلال المرحلة الثابتة، و عند بلوغها الهضبة، كانت قد وصلت ما يقرب من 90% من الإزالة للمعادن الثلاثة. أظهرت السلالتين المدروستين ثم درجة عالية من المقاومة للمعادن الثلاثة، خاصة الكاديوم (معدن شديد التسمم) لدى *B. fungorum* التي تمثل أداة بيولوجية ممتازة للمعالجة البيولوجية للمعادن الثقيلة، و ذلك لوفرتها، كفاءتها و انخفاض كلفتها.

الكلمات المفتاحية: المعالجة البيولوجية، الكاديوم، النحاس، الزنك، المعادن الثقيلة *Burkholderia fungorum*, *Pseudomonas putida*