

RÉSUMÉ

de la Thèse de Doctorat intitulée:

RECHERCHE SUR LE POTENTIEL DE BIODÉGRADATION DE CERTAINS MICROORGANISMES UTILISÉS DANS LA BIOREMÉDIATION

**Rédigée par la drd. Andreea DOBRE sous la coordination scientifique
de la Professeure Petruța Călina CORNEA**

Mots clés: *Bacillus, la biorestauration, la phytase, les plantes, le zinc*

La pollution de l'environnement atteint des cotes alarmantes dans le siècle passé inquiétant en raison du développement anthropique agressive contre les écosystèmes dans lesquels ils vivent. L'exploitation abusive et irrationnel des ressources naturelles, le développement des pratiques industrielles non durables et la manque de se concentrer sur la recherche et la mise en œuvre des moyens durables pour gérer les ressources de Terraont conduit à un future sous les auspices négatifs. Afin de réduire la pollution de l'environnement, il a été développé des pratiques de bioremédiation par la corrélation des sciences de la vie et la technologie, afin d'aboutir produits et services qui sont optimales pour la biorestauration des sites pollués spécifiques. Les principaux agents utilisés dans la biorestauration sont les micro-organismes qui, à leur tour peuvent être soumis à des pratiques biotechnologiques afin de promouvoir les caractéristiques utilisables dans les décontamination des sites contaminés.

Les informations issues de la littérature scientifique étant le point de départ pour le but des présenter la thèse. C' est l'étude des micro-organismes impliqués dans la bioremédiation des sols pollués avec des composés organiques et inorganiques de phosphore et zinc qui sont également capables de promouvoir le développement des plantes et leur protection.

Les expériences menées au cours des deux années d'études ont été réalisées dans les laboratoires de Biotechnologies Faculté de l'Université des Sciences Agronomiques et Médecine Vétérinaire de Bucarest et à l'Institut National du Développement et de la Recherche des Sciences Biologiques, Bucarest. La thèse de doctorat nommée "RECHERCHE SUR LE POTENTIEL DE BIODÉGRADATION DE CERTAINS MICROORGANISMES UTILISÉS DANS LA BIOREMEDIATION" comprennent 7 chapitres, déployées dans 137 pages, avec 15 tableaux, 51 figures et 156 références bibliographiques.

Le premier chapitre, L'UTILISATION DES BIOTECHNOLOGIES DANS LES PROCESSUS DE BIORÉMEDIATION, cible l'étude de la littérature scientifique concernant la participation des biotechnologies dans la bioremédiation des sols et d'eaux utiliser des microorganismes , en référence à des avantages que rizoremédiation a, comme alternative aux technologies classiques d'assainissement de sites pollués. Le deuxième chapitre, LA BIORESTAURATION DES SOLS POLLUÉS PAR LE PHOSPHORE, décrit l'état de l'art de la recherche en ce qui concerne le sujet de thesys, à savoir l'impact de la pollution par le phosphore et les techniques de biorestauration spécifiques développés jusqu'au présent. En outre, ils ont été résumées les problèmes existants concernant cet aspect. PHYTASES, le troisième chapitre décrit les principales enzymes impliquées dans la biolixiviation de phosphore organique, utilisées comme agents de bioremédiation. C' est réalisée une étude complexe sur leur classification, les sources de phytases, les conditions et leur mode d'actioner. Le quatrième chapitre, LA BIORÉMEDIATION DES SITES POLLUÉS AVEC LES MÉTAUX LOURDS, développe l'impact des métaux lourds sur l'environnement, en mettant l'accent sur la pollution des composés de zinc. Vise également les micro-organismes impliqués dans la biorestauration des sites contaminés avec ce genre de contaminants. Les chapitre cinq, L'IMPACT, BUT, LES OBJECTIFS ET LE CARACTÈRE NOVATEUR DES TRAVAUX DE RECHERCHE, décrit l'importance de ce document de recherche et aussi le but, les objectifs et l'aspect novateur de la thèse.

Le caractère innovant consiste dans la vue globale approché au sujet de l'étude des micro-organismes utilisables dans la biorestauration. La recherche a commencé partir d'une idée que les micro-organismes qui se développent dans des conditions de stress naturels ont déjà mis au point un système de résistance. Ainsi, le prélèvement du sol de différentes régions éventuelle polluées avec du phosphore et d'autres polluants tels que les métaux lourds est une étape logique dans l'isolement de micro-organismes qui sont en mesure de bioremediate des sites pollués. Outre ce fait, il été étudié la possibilité de promouvoir le développement des plantes cultivées. Les sols avec des dépôts de déchets produits par la peste, la rhizosphère de certaines plantes cultivées, des sols pollués avec des hydrocarbures pétroliers ou des terres agricoles, de compost, étaient les sources d'isolement choisis concernant l'identification des micro-organismes indigène. A partir de ces affirmations, le but de cette thèse c'est l'étude de certains micro-organismes isolés provenant de diverses sources qui ont la capacité de bioremedier les sites pollués avec des composés organiques et inorganiques de phosphore et de zinc, et qui ont aussi la capacité de promouvoir / protéger la developement des plantes.

Les objectifs proposés dans la thèse se réfère à:

- Isolement à partir de diverses sources naturelles de certains micro-organismes aptes à la lixiviation des composés insolubles du phosphore et / ou de zinc;

- Caractérisation de nouveaux isolats microbiens concernant les particularités de biolixiviation et les mécanismes impliqués dans ces processus (biosynthèse des phytase, production des acides organiques);

- L'évaluation de l'activité antifongique des isolats bactériens avec des propriétés de lixiviation du phosphore, utilisables comme agents de lutte biologique contre diverses phytopatogènes fongiques (*Pythium debaryanum*, *Phytophthora infestans* etc);

- Quantification de l'activité phytasique des isolats microbiens sélectionnés et l'optimisation des paramètres cinétiques.

Afin d'atteindre ces objectifs, dans le chapitre six, MATÉRIELS ET MÉTHODES, ils ont été détaillées les matériaux et les méthodes utilisées dans l'actuelle approche de recherche. Dans le chapitre sept ont été révélés LES RÉSULTATS ET LES DISCUSSIONS relatives à l'objet et les objectifs de thésys de recherche en cours, ciblant la corrélation entre les sources d'isolement, les espèces identifiées et leurs propriétés qui sont utiles dans la biorestauration des sols contaminés avec des composés organique et inorganique du phosphore ainsi que avec des composés anorganiques de zinc. Pour atteindre le premier objectif les microorganismes ont été sélectionnés en fonction de la source d'isolation. Ainsi, dans ce document, nous avons utilisé des micro-organismes précédemment identifiées qui font partie de la Collection de Micro-organismes du Département de Génétique, Faculté de Biotechnologie, UASVMB. Pour cette série de micro-organismes, il a été ajouté un certain nombre de bactéries isolées à l'élaboration de la thèse, du sol contaminé par décharge porcine mentionné précédemment. L'étape suivante était de déterminer la capacité de micro-organismes à la fois lixiviation acide phytique et les formes inorganiques du phosphore. Ainsi, ils ont été sélectionné un certain nombre de bactéries qui ont deux propriétés ou l'un d'eux. Plusieurs médias spécifiques, parmi lesquels sont mentionnés PSM, NBRIY, NBRIP, PVK, etc ont été utilisés à cet stade. Par la suite, il a été porté sur la capacité des bactéries à sécréter des acides organiques impliqués dans la solubilisation de phosphore inorganique ou en abaissant le pH du milieu de façon à permettre l'activation des enzymes synthétisées par des microorganismes. Il convient de noter que la plupart des microorganismes étudiés dans cette thèse appartiennent au genre *Bacillus* qui est reconnu pour sa capacité à synthétiser des phytases ainsi que la capacité de potentialiser la croissance des plantes. Après cette étape, les bactéries ont été identifiées capables d'inhiber le développement de micro-organismes qui sont connus comme phytopathogènes extrêmement agressifs. Ils sont *Pythium debaryanum* et *Phytophthora infestans*. On a également identifié la capacité de certains micro-organismes pour synthétiser des protéases et de lessivage oxyde de

zinc. Pour l'oxyde de zinc a été utilisé un certain nombre de médias spécifiques qui comprenaient colorants ciblés spécifiquement pour mettre en évidence biolessivage halo. Dans l'étude de l'identification des micro-organismes qui sont capables de synthétiser des phytases ont été inclus également des bactéries lactiques en raison de la controverse bien connue sur cette capacité. Après les études menées ont été identifiés souches de bactéries qui ont montré une forte activité enzymatique, permettant la théorie de consolidation sur le fait que LAB peut dégrader l'acide phytique et ses sels. Pour déterminer l'activité enzymatique de bactéries ont été isolées à partir de micro-organismes du sol avec des décharges de porcs qui ont également obtenu de bons résultats initialement sélectionnées. Enfin, pour entrer en vigueur une étude comparative entre 5 sources d'isolement, deux espèces de *Bacillus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis* et des bactéries isolées à partir de compost appartenant au genre *Bacillus*. Pour déterminer l'activité catalytique de la méthode standard a été utilisé, à savoir la méthode molybdate-bleu, mais après une étude approfondie de la littérature, ont été compilées huit variantes pour identifier les paramètres de réaction optimales. Les conditions de réaction dans l'étude étaient pH neutre, 37 ° C, 30 min, 50°C, pH neutre, 20 min, le pH acide (5,5), 37°C, 30 min, le pH acide (5,5), 50° C, 20 min. Ces quatre variantes a été réalisée en présence ou en l'absence de l'inducteur.

Enfin, le document décrit les CONCLUSIONS GÉNÉRALES révélées par l'approche de la recherche connexe. Mettre l'accent initial sur la source d'isolement comme un facteur déterminant de la capacité des bactéries à hydrolyser le phosphore, il a été démontré que les isolats bactériens qui avaient les sols pollués de lisier de porc comme source d'isolement avaient cette propriété. Toutefois, l'évaluation des souches isolées à partir d'autres sources d'isolement (rhizosphère des plantes cultivées, lourdement sols pollués par des hydrocarbures pétroliers) ont démontré leur capacité à solubiliser les composés phosphorés organiques et inorganiques. Les résultats les plus notables ont été obtenus par les souches 7.1, BW, le BIR, BPA, OS15, OS17, B3, B4, B5, B6, tous appartenant au genre *Bacillus* et par la souche An (*Aspergillus niger*). En ce qui concerne la caractérisation de ces souches, leur capacité à solubiliser inorganique de phosphore B3, B4, OS15, BPA, le BIR, BW, OS17, ATCC 6633, 35, 10 ont donné les meilleurs résultats dans les expériences sur PVK et NBRIP. La théorie selon laquelle les acides organiques sont impliqués dans la solubilisation de phosphore inorganique a été validé par l'utilisation d'un indicateur de pH colorants. Cependant, après l'analyse sur support PSM il a été souligné pour les souches (BIR, BPA, le CIPC, OS15, OS17, BW, 10, 35) la capacité enzymatique pour hydrolyser le phosphore organique. Naturellement, cette observation ne fait pas obstacle à l'hydrolyse du phosphore par les phosphatases potentiels synthétisées par les bactéries, l'implication des acides organiques dans ce processus étant réduite. Mais la production d'acides organiques peuvent être impliqués dans une autre caractéristique de souches savoir solubilisation

du zinc inorganique, l'utilisation d'indicateurs de pH résultant en des halos clairs soulignant dans le cas de certaines souches comme BPA, B4, ATCC 6633, 32 et 35. En outre, la plupart des souches impliquées dans l'étude ont démontré la capacité de synthétiser des protéases. Les souches caractérisées dans cette démarche scientifique ont été testées quant à leur utilité comme agents de lutte biologique contre les agents phytopathogènes. Les souches B3, B4, 9, 10, 12, 30, 32 et 35 ont montré un effet inhibiteur contre *Phytophthora infestans* claires par la méthode de double culture dans des conditions *in vitro*. Ces bactéries ont également eu l'effet et dans des conditions contrôlées dans la chambre climatique comme traitement préventif appliqué aux tomates. Par rapport à *P. debaryanum*, le filtrat de culture de souches 9, 10 et B3 a montré une légère réduction du diamètre de la culture des champignons avec 24%, 12% et 10%. Effet inhibiteur clair contre phytopathogènes étaient évidents dans ce cas de souches bactériennes B5, B6 constatées, BPA et BW (de confrontation directe). En ce qui concerne la quantification de l'activité enzymatique et l'optimisation des paramètres de la réaction a été testé un certain nombre de souches bactériennes étudiées dans cette thèse, à laquelle ont été ajoutés des souches bactériennes lactiques. Parmi les quatre souches de bactéries lactiques, *Lactobacillus plantarum* Lpl enregistrée la plus élevée activité de l'enzyme. Cela permettra de déterminer leur applicabilité en termes de réduction de l'acide phytique ou de ses sels dans les aliments d'origine végétale, qui est connu comme agent anti-nutritive. Parmi les isolats provenant de sols avec des dépôts de lisier de porc, les souches 10, 9, 35 et 12 ont les valeurs les plus élevées de l'activité enzymatique. Ultérieurement par les études d'optimisation des paramètres cinétiques de phytase ont été déterminées en étudiant le pH, température, temps de réaction et la présence d'inducteurs, ce qui démontre à la fois la variation en fonction de l'espèce et aussi intraspécifique. L'activité enzymatique la plus élevée a été mise en évidence par la souche *B. subtilis* ATCC 6633, suivie par *Bacillus* sp. B3, puis de *B. subtilis* 10 et de *B. amyloliquefaciens* BW. Les dernières positions en termes d'activité de phytase étaient occupées par souche de *Bacillus* sp. B4 et de *B. amyloliquefaciens* OS15.

Les résultats peuvent contribuer au développement des connaissances dans le domaine et peuvent contribuer à la réalisation des technologies de biorestauration efficaces basées sur l'utilisation de micro-organismes naturels avec diverses propriétés bénéfiques. Ainsi, après l'étude des bactéries indigènes au sein de cette thèse il a été conclu qu'elles ont un impact bénéfique potentiel sur l'environnement, les finances et santé des êtres humains, des animaux et des plantes. Les résultats obtenus à partir de la démarche scientifique de cette thèse ont été capitalisés par une seule publication ISI sur le sujet de la thèse et deux sur le terrain, 3 articles ISI et trois dans le domaine, ainsi que la participation à de nombreuses conférences.