

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université de Jijel

جامعة محمد الصادق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة والحياة
المسكنية
رقم التمر : 1255



Faculté des Sciences
Département du Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire

De Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures
(D.E.S)

Option : Microbiologie

Thème

La biodégradation des hydrocarbures par les microorganismes

Membre du jury :

- ❖ Encadreur : Dr SIFOUR Mohamed
- ❖ Examinatrice : M^{elle} S. LAGGOUNE

Présenté par :

- ❖ BOUADAM Nabil
- ❖ KARA Housna
- ❖ KHELIFA Nadia



Promotion juin : 2008

REMERCIEMENT

Tous d'abord nous remercions dieu tout puissant d'avoir nous donner la force et la patience et le courage pour accomplir ce travail.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre reconnaissance à tous ceux qui, de manière ou d'autre ont participé à sa réalisation.

Nos vifs remerciements et gratitude à notre promoteur qui a suivie notre travail Dr. Sifour Mohamed et qui nous a beaucoup aider avec ces conseils et sa disponibilité.

Nous remercions s'étendent aussi aux membres du jury.

En fin, notre respects à tous les enseignantes et tous les agents de l'institut de biologie de l'université de Jijel.

Sommaire

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

Chapitre I - La composition du pétrole et les types des hydrocarbures

I-1-Introduction.....	2
I-2-les composés pétroliers.....	2
I-2-1-Les composés polaires.....	2
I-2-2-Les asphaltènes.....	2
I-2-3-Les hydrocarbures.....	4
I-3-Les différents types des hydrocarbures dans l'environnement.....	4
I-3-1-Les hydrocarbures saturés.....	4
I-3-1-1-Les alcanes	4
I-3-2-Les hydrocarbures insaturés.....	5
I-3-2-1- les alcènes	5
I-3-2-2-Les cyclènes ou cyclo-olefines	5
I-3-2-3-Les alcynes ou hydrocarbures acétyléniques	6
I-3-3-Les hydrocarbures aromatiques.....	6

Chapitra II - La toxicité des hydrocarbures dans l'environnement et les méthodes d'élimination

II-1- Introduction.....	9
II-2-La toxicité des hydrocarbures.....	9
II-2-1-Les différents types de pollution par les hydrocarbures.....	9
II-2-1-1- La pollution de l'eau.....	9
II-2-1-2-La pollution du sol.....	9
II-2-1-3-La pollution de l'air.....	10
II-2-2-L'effet toxique de certains hydrocarbures sur les êtres vivants.....	10
II-3-Les méthodes d'élimination	12
II-3-1-les méthodes abiotiques.....	12
II-3-1-1- L'oxydation.....	12
II-3-1-2- La déchloration (déhalogé).....	12
II-3-1-3- Emulsification.....	12
II-3-1-4- Sédimentation.....	13
II-3-1-5- Evaporation.....	13
II-3-1-6- Solubilisation.....;	13
II-3-2-Les méthodes biotiques.....	13

Chapitre III : Les mécanismes de dégradation des différents types des hydrocarbures

III-I – Introduction.....	14
III-2-Les microorganismes impliqués dans la biodégradation.....	14
III-3-Les méthodes de transport des hydrocarbures.....	15
III-4-Les mécanismes de la dégradation des hydrocarbures.....	17
III-4-1-La dégradation aérobie des hydrocarbures.....	17
III-4-1-1-La dégradation des hydrocarbures saturés.....	17
III-4-1-1-1- La dégradation des n-alcanes.....	17
III-4-1-1-1-1-L'oxydation monoterninale.....	18
III-4-1-1-1-2-l'oxydation subterminale.....	19
III-4-1-1-1-3-l'oxydation diterminale.....	20
III-4-1-1-2-La dégradation des alcanes ramifiés.....	20
III-4-1-1-3-La dégradation des cycloalcanes.....	22
III-4-1-2-La dégradation des hydrocarbures insaturés (alcènes).....	22
III-4-1-3-La dégradation des hydrocarbures aromatiques.....	23
III-4-1-3-1- La dégradation des hydrocarbures monocycliques aromatiques.	24
III-4-1-3-2- La dégradation des hydrocarbures polycycliques aromatiques.....	26
III-4-1-4-La dégradation des hydrocarbures xénobiotiques.....	28
III-4-2-La dégradation anaérobie des hydrocarbures	29
III-5-Les facteurs affectant la biodégradation des hydrocarbures	30
III-5-1-le type de microorganisme	30
III-5-2-La température	30

III-5-3-Le pH.....	31
III-5-4-Les éléments nutritifs.....	31
III-5-5-La pression.....	31
III-5-6-L'oxygène.....	32

Chapitre IV- Rôle du génie génétique dans la biodégradation

IV-1-Introduction.....	33
IV-2-Les différents plasmides impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures.....	33
IV-2-1 Définition du plasmide.....	33
IV-2-2-Etude de quelques plasmides de dégradation des hydrocarbures	35
IV-2-2-1-Le plasmide TOL.....	35
IV-2-2-2-Le plasmide NAH7.....	37
IV-2-2-3-Le plasmide Oct.....	37
IV-3-Le rôle de la génie génétique dans la biodégradation des hydrocarbures.....	37
Conclusion.....	39
Références.....	40

ANNEXE

- ADN** : Acide Desoxyribo Nucléique.
- BTEX** : Benzène, Toluène, Ethylbenzene, Xylène.
- C** : Carbone.
- CAM** : Camphre.
- Cl** : Chlore.
- FC** : Chloroflore carbure.
- H** : Hydrogène.
- HAP** : Hydrocarbure poly cyclique aromatique.
- Kb** : Kilo base.
- Mt/j** : Millions de tonnes par jour
- N** : Azote.
- NAH** : Naphthalène
- O** : Oxygene.
- OCT** : Octane.
- PCB** : Biphenyl poly chlorés.
- S** : Soufre.
- TOL** : Toluène.
- Xyl** : Xylène.

Liste de figures

Figure1: Composés hydrocarbonés non hydrocarbonés présents dans le pétrole brut.....	3
Figure 2: Vois métabolique de l'oxydation monoterninale des n-alcane.....	18
Figure3: Vois métabolique par l'oxydation diterminale.....	19
Figure 4: Schéma générale de la vois métabolique de la dégradation des n-alcane par subterminale.....	20
Figure5: Vois de dégradation des 3-méthyl-alcane par décarbométhylation.....	21
Figure6: Vois de dégradation du cyclohexane.....	22
Figure7: Vois métabolique la dégradation des alcane.....	23
Figure 8: L'oxydation du benzène.....	24
Figure9: La dégradation du toluène.....	25
Figure 10: Vois métabolique proposée par davey et Gilson (1974) pour l'oxydation de para-xylene par P-putida.....	25
Figure11: La dégradation des catéchols.....	26
Figure12: L'oxydation des composés aromatique par la vois métabolique.....	27
Figure13: Dioxygénation du cycle aromatique halogéné.....	28
Figure14: La conversion anaérobie de n-alcane en acide gras.....	29
Figure 15: La dégradation anaérobie du toluène.....	30
Figure16: Le plasmide TOL (pWWO).....	35
Figure 17: Le construction d'une bactérie capable de dégrader quatre hydrocarbures ...	38

Liste de tableaux

Tableau 1: Quelque accident de tanker entre 1978 et 2000.....	10
Tableau 2: Effet toxique de certains hydrocarbures.....	11
Tableau 3: Dégradation de certains hydrocarbures par les micro-organismes.....	16
Tableau 4: Les plasmides impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures	34
Tableau 5: Les enzymes codées par le plasmide TOL.....	36

introduction

Introduction

L'exploitation humaine des gisements de pétrole n'a cessé d'augmenter depuis le début du siècle dernier. L'extraction, le transport et l'utilisation de cette source d'énergie entraînent des risques de pollution.

La pollution par les hydrocarbures en milieu marin et terrestre, qu'elle soit chronique ou accidentelle, pose d'importants problèmes d'élimination. Les voies d'élimination chimiques et physiques ont leurs limites du fait de leur coût ou de leur impact secondaire sur l'environnement. La voie biologique est actuellement en plein essor et suscite de très nombreux travaux par le monde.

En 1946, Cloud E. Zobell a passé en revue l'action des microorganismes sur les hydrocarbures. Il a trouvé que beaucoup de microorganismes ont la capacité d'utiliser des hydrocarbures en tant que sources uniques d'énergie et de carbone (Atlas, 1981).

La biodégradation par les microorganismes et en particulier les bactéries est le processus naturel le plus important dans la dépollution des hydrocarbures.

Les principaux objectifs de ce travail de recherche étaient donc de connaître les différents types des hydrocarbures et leurs effets toxiques sur les êtres vivants, les méthodes d'élimination et en particulier l'élimination biologique par la biodégradation, les différents mécanismes de cette dernière, ainsi que les paramètres pouvant influencer la biodégradation, et en fin le rôle du génie génétique dans l'amélioration de l'activité dégradative de certaines souches bactériennes.

Chapitre I



I- la composition du pétrole et les types des hydrocarbures

I-1 Introduction

Le pétrole première source d'énergie, a connu une progression ininterrompue de son extraction pendant plus d'un siècle. Suite au développement du transport et de l'industrie, la production mondiale n'a cessé d'augmenter pour atteindre 11 millions de tonnes par jour (11mt/j) en 2000 et on s'attend à une augmentation de la production de 1,9%/ an dans la décennie actuelle.

Le pétrole est un mélange de nombreux hydrocarbures. Ces derniers sont la source la plus importante dans la pollution des environnements surtout marins qui peut largement influencer les équilibres écologiques et par extension les activités économiques des régions sinistrées (Soltani, 2004).

I-2- Les composés pétroliers

Le pétrole brut est un liquide noir, quelque fois avec des reflets verdâtres, et généralement plus léger que l'eau (Chiteur, 1983). Les pétroles bruts sont constitués de différentes familles de composés (Figure 01), dont la composition chimique varie énormément selon leur origine géographique et géologique. Les hydrocarbures constituent la fraction la plus importante d'un brût pétrolier, ils représentent entre 65 et 95% de la plupart des pétroles brutes. Les composés pétroliers peuvent être classés en trois familles principales qui sont présentes en proportions variables selon l'origine : les hydrocarbures, les composés polaires (5 à 25%) et les asphaltènes (0 à 10%) (Soltani, 2004).

I-2-1- Les composés polaires

Cette fraction correspondant à des molécules hétérocycliques (Soltani, 2004). L'analyse de ces composés révèle la présence des hétéroatomes (l'oxygène, soufre et azote) (Baudin et al., 2007).

I-2-2- Les asphaltènes

Les asphaltènes constituent la partie la plus lourde du pétrole et contiennent des structures plus ou moins hétéroatomiques. On les considère comme un ensemble de macromolécules constituées d'unités hétérogènes covalentes. Ces macromolécules dérivent comme le reste du pétrole de la transformation sous l'effet de la température de la matière organique biologique enfouie dans les sédiments. Les asphaltènes sont isolés à

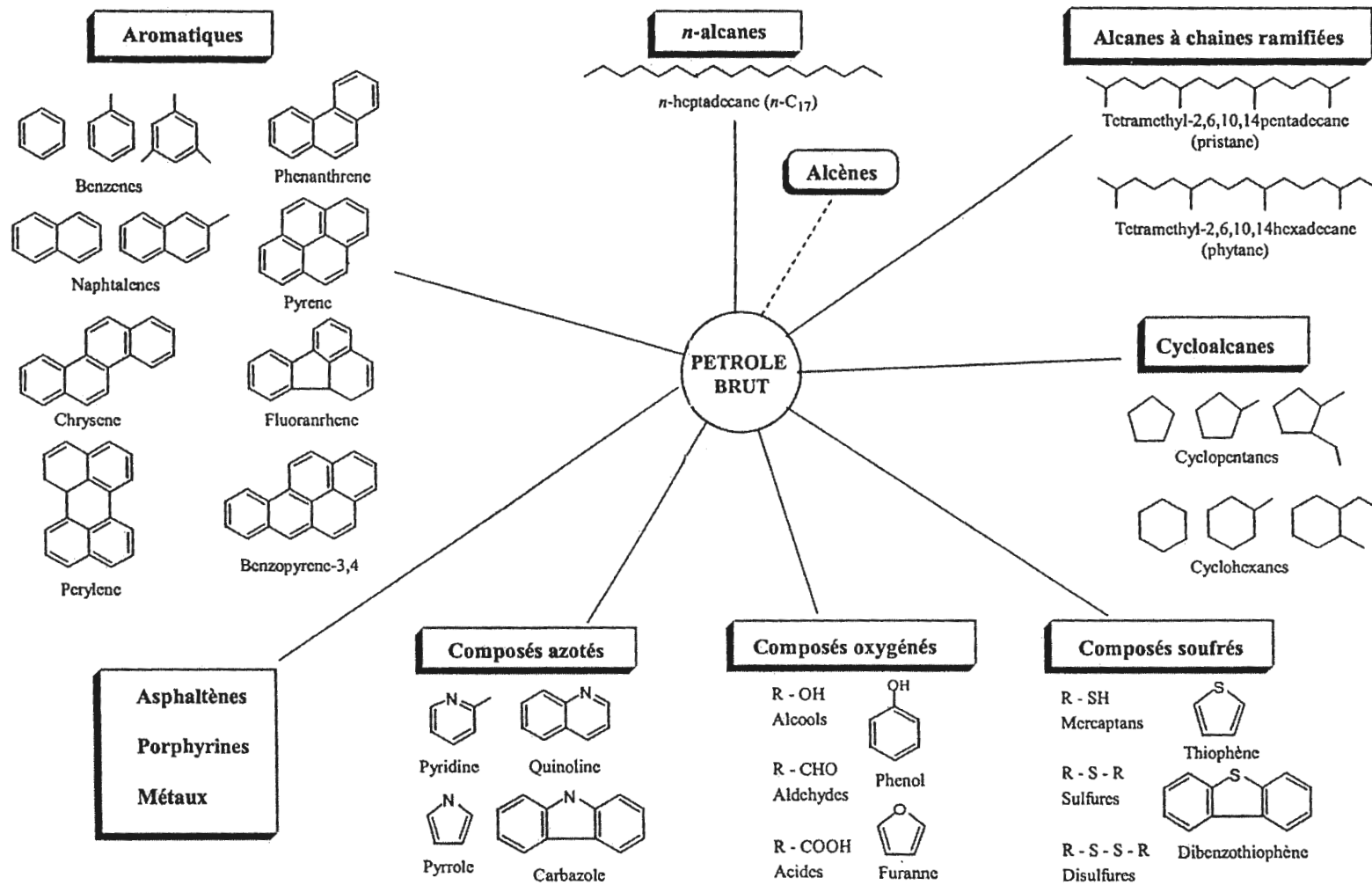


Figure 1. composés hydrocarbonés et non hydrocarbonés présents dans le pétrole brut. (Soltani, 2004).

partir du pétrole par précipitation dans un hydrocarbure saturé (propane ou n-heptane) ou dans l'éther de pétrole (Site web I).

I-2-3- les hydrocarbures

Le pétrole brut et les fractions pétrolières qui en sont issues sont essentiellement composées de molécules résultant de la combinaison d'atomes de carbone tétravalents et d'atomes d'hydrogène monovalents, et appelés hydrocarbures (Chiteur, 1983).

Les hydrocarbures pétroliers se divisent en deux classes principales, les hydrocarbures saturés (30 à 70%) et les hydrocarbures aromatiques et polyaromatiques (20 à 40%) (Site web II).

I-3- Les différents types des hydrocarbures dans l'environnement

Le carbone et l'hydrogène peuvent former des molécules saturées ou insaturées, linéaires ou cycliques, et parmi les molécules cycliques, certains d'entre elles, grâce à un type particulier d'insaturation ont des propriétés particulières qui les font classer à part (Manahan, 2007). On distinguera donc trois types d'hydrocarbures :

- Les hydrocarbures saturés à chaîne ouverte ou cycliques.
- Les hydrocarbures insaturés à doubles ou triples liaisons et qui peuvent aussi être cycliques ou acycliques.
- Les hydrocarbures aromatiques mono ou polycyclique (Lefebvre, 1986).

I-3-1- Les hydrocarbures saturés

I-3-1-1- Les alcanes

Les alcanes sont des hydrocarbures saturés, car ils ne contiennent que des atomes de carbone et d'hydrogène et possèdent uniquement des liaisons simples C-C et C-H. Ils sont désignés par le suffixe « -ane » et portent également le nom de paraffine (du grec parumaffinis signifiant « faible réactivité ») (Amigoni et al., 2004). Les alcanes (ou hydrocarbures méthaniques) sont des corps gazeux, liquides ou solides. Les composés gazeux comportent dans leur chaîne 1 à 4 atomes de carbones (C_1-C_4) et entrent dans la composition des gaz associés et naturels (méthane, éthane, propane, butane et isobutane). Les composés renfermant entre 5 et 15 carbones (C_5-C_{15}) sont des alcanes liquides. En commençant par l'hexa-décane (C_{16}), les alcanes normaux sont des solides qui à température ordinaire peuvent se trouver dans le pétrole et dans les fractions à haut point

d'ébullition à l'état dissous ou cristallin (Drabkiv et Proskouriak., 1983). Les alcanes sont en trois formes linéaires, ramifiées ou cycliques (Soltani, 2004).

I-3-2- Les hydrocarbures insaturés

I-3-2-1- Les alcènes

Les alcènes sont des composés insaturés, présentant une double liaison carbone-carbone. Ils sont également appelés hydrocarbures éthyléniques ou oléfines (du latin *oleum* facere signifiant « fabricant de l'huile » en latin, car les alcènes de faibles masses moléculaires à l'état gazeux produisent des huiles suite à des réactions d'addition sur la double liaison) (Amigoni et al., 2004).

Les alcènes présentent un déficit en hydrogène, ils ne sont pas saturés.

Les alcènes en particulier comportent dans leurs molécules deux atomes d'hydrogène de moins que les hydrocarbures saturés correspondants.

Leur formule générale est donc C_nH_{2n} lorsqu'ils sont à chaîne ouverte et C_nH_{2n-2} lorsqu'ils sont cycliques.

Le déficit en hydrogène des oléfines par rapport aux alcanes est localisé au niveau des doubles liaisons.

La chaîne des alcènes peut être droite ou ramifiée, la chaîne droite possède jusqu'à six doubles liaisons (Lefebvre, 1986).

I-3-2-2- Les cyclènes ou Cyclo-oléfines

Il existe peu de représentants de ce type d'hydrocarbures qui aient une importance pétrochimique, mis à part le cyclopentène et le cyclohexène dont les usages sont encore restreints.



Cyclopentène.



Cyclohexène.

Parmi les cycles doublement insaturés, on citera le cyclopentadiène, le cyclo-octadiène-1,5, le cyclododecatène-1, 5, 9. Le premier existe en quantité notable dans la coupe C_5 le vapocraquage, les deux dernières sont produites industriellement à partir du butadiène (Lefebvre, 1986).



Cyclo-octadiène-1,5.

I-3-2-3- les alcynes ou hydrocarbures acétyléniques

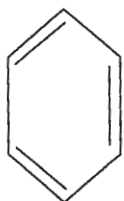
Ces hydrocarbures sont caractérisés par la présence dans leur molécule d'une triple liaison. En plus des isoméries du squelette hydrocarboné, on distingue deux types d'hydrocarbures acétyléniques, selon que la triple liaison est située à l'extrémité de la chaîne, il s'agit alors d'acétyléniques monosubstitués (ou acétyléniques vrais) ou à l'intérieur de la chaîne . Ce sont alors des acétyléniques bisubstitués (Lefebore, 1986).

I-3-3- les hydrocarbures aromatiques

Les hydrocarbures aromatiques et poly-aromatiques, comme le phénol ou pyridine, sont des produits issus de l'industrie chimique utilisés soit comme substrats, soit comme intermédiaires dans les synthèses chimiques. Les hydrocarbures poly-aromatiques sont également formés lors de la combustion d'énergies fossiles et ce sont des constituants naturels de ces produits à l'état brut. Le benzène, le toluène, les xylènes ainsi que d'autres composés aromatiques de bas poids moléculaires sont des solvants industriels utilisés notamment pour la fabrication des peintures. De nombreux autres dérivés aromatiques sont utilisés comme intermédiaires pour la synthèse de colorants, de médicaments, de matières plastiques ou de produits chimiques de la vie moderne. Ils sont, aussi, une source importante de pollution de l'environnement. Des composés aromatiques comme la phénylalanine et la tyrosine, sont des constituants des cellules vivantes (Perry et al., 2004).

En général les hydrocarbures aromatiques sont moins abondants que les alcanes, et ne représentent que 10 à 30 % des hydrocarbures totaux d'un brut pétrolier (Soltani, 2004). Ces hydrocarbures sont caractérisés par un rapport C/H plus élevé que celui que l'on observe dans les autres hydrocarbures. Ils possèdent tous les caractéristiques de contenue dans leur molécule un cycle hexagonal à six atomes de carbone, chacun lié à un seul hydrogène ou un seul autre carbone. La plus simple des hydrocarbures aromatique et le benzène, sa formule brute C_6H_6 (Lefebore, 1986).

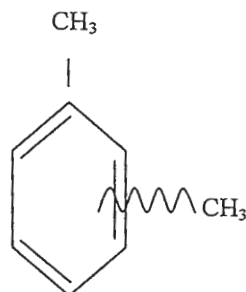
3- Par substitution des hydrogènes du benzène par des chaînes paraffiniques
(Mesplède, 2004).



Benzène

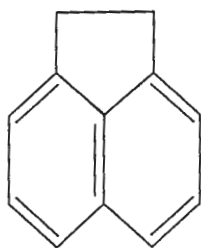


Toluène

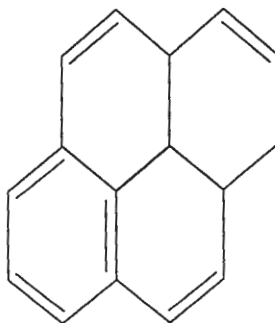


Xylène (ortho, meta ou para)

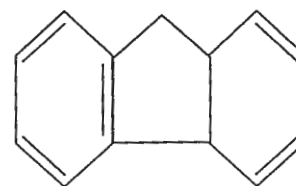
On peut classer les hydrocarbures aromatiques en deux classes: Les hydrocarbures monocycliques aromatiques et les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP). Ces dernières diffèrent essentiellement entre eux par le nombre de noyaux benzeniques ainsi que par leur arrangement spatial (Laurent et al., 2005).



Acénaphthène



Pyrène



Fluorène

Chapitre II

II-La toxicité des hydrocarbures dans l'environnement

II-1-Introduction

La pollution pétrolière a des effets graves et bien visibles dans les écosystèmes de l'environnement (sol, eau, air). Les sources des pollutions anthropiques sont variées leur plus grande partie est introduite en mer de manière relativement discrète (Baudin et al., 2007). En général les effets toxiques des hydrocarbures sont la mortalité ou tout autre effet physiologique, morphologique ou comportemental qui interfère directement avec le fonctionnement de l'organisme (Forbes et Forbes, 1997).

Les différents polluants et leurs toxicités peuvent être éliminé par plusieurs méthodes biotiques ou abiotiques.

II-2- La toxicité des hydrocarbures

II-2-1- Les différents types de pollution par les hydrocarbures

II-2-1-1- La Pollution de l'eau

Les eaux sont polluées par des composés étrangers dans des proportions variables (Reichl, 2004), parmi ces composés, le pétrole et les produits pétroliers font partie des polluants potentiels de l'environnement.

De tels produits ont été introduits dans l'environnement par des voies diverses, 200 000 m³ uniquement pour l'année 1992, par exemple lors des forages de recherche pétrolière, des transports (accidents de tankers dégâts sur les pipelines), du stockage et de transformation du pétrole, nettoyage des huiles usagées résiduaires sur les bateaux. De grandes quantités se sont répandues dans le Golfe persique pendant la guerre du Golf (Bliefert et Perraud, 2004). Le tableau 1 indiqué quelques accidents de tankers importants entre 1978 et 2000.

II-2-1-2- La pollution de sol

La pollution des sols revêt une importance particulière car elle concerne un aspect capital dans la vie sur la terre (Bliefert et Perraud, 2004). Les hydrocarbures sont des polluants organiques majoritaires des sols, liés à l'utilisation massive des produits pétroliers (Girad et al., 2005), ces produits peuvent conduire à une contamination des hommes par absorption oral ; alors que une ingestion de substances étrangères présentes

Chapitre II La toxicité des hydrocarbures dans l'environnement et les méthodes d'élimination
 dans les sols ne peut cependant avoir lieu que par contact direct ou indirect par transfert
 des polluants dans la nourriture (Reichl, 2004).

Tableau 01: Quelques accidents de tanker entre 1978 et 2000 (Bliefert et Perraud, 2004).

Date	Lieu	Nom de tanker	Quantité de pétrole déversée en (t)
06-08-1983	Le cap, Afrique de sud	Castillo de belver	258000
16-03-1978	Bretagne, France	Amoco codiz	223 000
23-02-1980	Pilos, Grèce	Irenes serenade	120 000
05-01-1993	Iies shetlaud	Braer	82 000
24-03-1989	Prinz-william, Alaska	Exxon Valdez	42 000

II-2-1-3- La pollution de l'air

Les polluants peuvent exercer une influence néfaste sur l'atmosphère de différentes manières (Bliefert et Perraud , 2004) , telle que la combustion de carbone et des hydrocarbures à l'origine d'émission dans l'atmosphère terrestre de composé ayant des conséquences connus sur l'environnement comme l'effet de serre pour le dioxyde de carbone, la formation photochimique d'ozone , et aussi l'acidité de précipitation les pluies acides (Baudin et al ., 2007) pour le dioxyde de soufre, ces gaz sont considéré comme des polluants majeurs de l'air .

II-2-3- l'effet toxique de certains hydrocarbures sur les êtres vivants

Les hydrocarbures rejétés dans l'environnement ont des repercussions sur les plantes, animaux et les êtres humains (Soltani, 2004) parce que ces produits sont considérés comme des polluants qui peuvent êtres introduits par inhalation, ingestion ou absorption cutanée (Reichl, 2004) et causent une contamination pour les êtres vivants. Les conséquences de la contamination dépendent des organismes eux même et la structure chimique de l'hydrocarbure (Soltani, 2004) donc on peut dire que l'effet toxique varie considérablement par la nature de l'hydrocarbure, l'organe cible et le mécanisme d'action (Frank ,1992). L'effet toxique de certains hydrocarbures est représenté dans le Tableau suivant.

Tableau 02: Effet toxique de certains hydrocarbures

Hydrocarbure	Effet toxique		Références
Le biphényl polychlorés (PCB)	Effet aigue -altération de la peau et de la muqueuse. -trouble de rythme cardiaque. -trouble de fonction immunitaire et hépatique. -abaisse la fertilité chez les souris donc l'effet sur la reproduction. - neutropénie des tissus lymphoïdes chez les poulets et les lapins	Effet chronique Effet cancérrogène	(Frank, 1992)
Benzène	-le benzène est irritant pour la peau et la muqueuse. -dépresseur du système nerveux central. -il peut provoquer une pneumopathie. -trouble de rythme cardiaque.	-lésion nodulaire -effet cancérrogène (leucémogène)	(Reichl, 2004) (Descotes et al., 1992)
Le fluoréne	-trouble hépatiques chez les animaux	Cancer des animaux	(Gabet, 2004)
Chloroflore-carbure FC	-trouble de rythme cardiaque	-Une activité cancérrogène et mutagène	(Reichl, 2004)

II-3- Les méthodes d'élimination des hydrocarbures

La pollution par hydrocarbures en milieu marin et terrestre, quelle soit chronique ou accidentelle, pose d'importants problèmes d'élimination (Site web II). L'élimination des hydrocarbures se fait par plusieurs méthodes (biotiques et abiotiques), parmi ces méthodes on cite:

II-3-1- Les méthodes abiotiques

II-3-1-1- L'oxydation

C'est un traitement de décontamination par l'addition d'un oxydant puissant dans le milieu à traiter, les deux oxydants les plus couramment utilisés sont l'ozone et l'eau oxygénée (Locomte, 1998). Comme il existe la photo-oxydation qui est observée au niveau de la surface de l'eau où de l'air (oxygène) et la lumière (radiations solaires) (Soltani, 2004), elle touche plus particulièrement les composés aromatiques (non volatiles et photosensibles) et conduit à la formation de composés chimiques nombreux (Site web II).

II-3-1-2- La déchloration (déhalogénéation)

La déchloration est un traitement qui a pour objet de transformer des molécules chlorées en molécules moins chlorées ; en principe, plus la molécule est chlorée, plus elle est toxique. La déchloration se fait par deux réactions chimiques, pour la première, le milieu contaminé est mélangé à du bicarbonate de sodium et dans la seconde, l'agent de déhalogénéation est un glycolate polyéthylène alcalin (le plus souvent de potassium) (Locomte, 1998).

II-3-1-3- Emulsification

Deux types d'emulsification peuvent se former : eau dans huile appelée « mousse chocolat » et huile dans eau sont constituées par les hydrocarbures de haut poids moléculaire (Soltani, 2004). Ces émulsions sont facilitées par la présence d'agent tensioactif à la surface de l'eau (Site web II).

II-3-1-4- Sédimentation

La sédimentation est le passage du pétrole de la surface vers le fond (Soltani, 2004). Elle est le fait des fractions les plus lourdes et constitue un phénomène fréquemment observé sur les franges côtières. La sédimentation conduit à la constitution d'agrégats de hautes densités difficilement biodégradables par voie naturelle (Site web II).

II-3-1-5- Evaporation

Ce phénomène touche les fractions de faible poids moléculaire (inférieur à 11 carbones). Elle dépend des conditions atmosphériques (vent, vagues, température) (Site web II).

II-3-1-6- Solubilisation

La solubilisation des hydrocarbures dans l'eau augmente avec la polarité des composés, c'est à dire quand leur poids moléculaire diminue (Site web II), il est important de noter que ces hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement. Il sont difficiles à éliminer et sont adsorbés par la faune et la flore (Soltani, 2004).

II-3-2- Les méthodes biotiques

Ces méthodes consistent à utiliser des processus biologiques qui réduisent la mobilité ou transforment les hydrocarbures en composés non toxiques en utilisant des microorganismes, des plantes et des enzymes qui stimulent ces processus (Girard et al., 2005).

La biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement.

Chapitre III

III- Les mécanismes de dégradation des différents types des hydrocarbures

III-1-Introduction

Les hydrocarbures déversés dans l'environnement subissent une série de transformations aboutissant à plus ou moins long terme à leur disparition totale ou partielle. Les transformations microbiologiques ou biodégradation des hydrocarbures par les microorganismes sont à elles seules à l'origine de la disparition de la majeure partie des hydrocarbures (Belhaj et al., 2000), car ces microorganismes, principalement les bactéries utilisent hydrocarbures comme substrats de croissance (Scriban, 1999; Nasir, 2000). On ne connaît pas de microorganismes utilisateurs de n'importe quel hydrocarbure dans n'importe quel milieu. Chaque espèce a des exigences spécifiques : longueur de chaîne, ramification, insaturation (Pelmont, 2005). L'objectif de ce chapitre est de mieux comprendre les mécanismes utilisés par les différents microorganismes pour dégrader les hydrocarbures.

III-2- Les microorganismes impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures

Les microorganismes impliqués dans la biodégradation sont appelés hydrocarbonoclastes, ces derniers sont capables d'utiliser les hydrocarbures comme source de carbone et d'énergie. Elles sont ubiquistes, on peut les retrouver dans l'eau, sol et même dans les écosystèmes extrêmes comme les régions olivaires, les déserts et les sources chaudes (Soltani, 2004 ; Perry et al., 2004). Beaucoup de bactéries sont capables de dégrader des hydrocarbures, parmi lesquelles les pseudomonades, les mycobactéries, les actinomycètes et les cyanobactéries. Les levures et les champignons filamenteux sont aussi capables de se développer à partir de ces produits, les espèces efficaces appartiennent aux groupes suivants : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Trichoderma*, *Mortierella*. Quelques espèces d'origine marine sont privilégiées dans le cas de pollution marine : *Corollospora*, *Deudryphiella*, *Luborhithia*, *Varicosporina* (Perry, 2004 ; Boiron, 1996).

Chapitre III Les mécanismes de dégradation des différents types des hydrocarbures
Le Tableau 3 représente les différents hydrocarbures dégradés par les différents microorganismes.

III-3- Les méthodes de transport des hydrocarbures

Plusieurs méthodes sont utilisées par les micro-organismes pour transférer les hydrocarbures vers leurs cytoplasmes. Ces méthodes dépendent de plusieurs facteurs comme les caractères des microorganismes consommateurs, les types aussi que l'état physique des hydrocarbures.

Trois modes de transport des hydrocarbures sont généralement considérés :

- 1- L'interaction des cellules avec les hydrocarbures dissous dans la phase aqueuse par les facteurs de solubilisation extracellulaires.
- 2- L'interaction des cellules avec les hydrocarbures émulsifiés par les agents actifs de surface appelés biosurfactants.
- 3- Le contact direct des cellules avec les hydrocarbures dans ce cas la matière organique ne produit pas de biosurfactants mais adhère du fait de sa forte hydrophobicité d'interface : phase hydrophobe phase aqueuse (Soltani, 2004 ; Nasir, 2000 ; Scriban 1999).

Tableau 3: la dégradation de certains hydrocarbures par les microorganismes

hydrocarbures	Les microorganismes	remarques	Référence
Ethane	- <i>Mycobactérium</i> - <i>Nocardia</i> - <i>Graphium</i>	Tous les alcanes linéaires ont le même principe de dégradation qui aboutit à la formation d'un acide gras puis un Acétyl coA	(Scriban, 1999)
L'octane	- <i>P. fluorescens</i> - <i>P. aerogenosa</i> - <i>P. putida</i>		(Scriban, 1999) (Nasir, 2000)
Hexadécane	- <i>Corynebactérium</i> - <i>Mycobactérium</i> - <i>Nocardia</i> - <i>Rhodococcus</i> - <i>Pseudomonas</i> - <i>Alcaligenes</i> - <i>Candida maltosa</i>		(Pelmont, 2005)
Cyclohexane	- <i>Acinetobacter</i> - <i>Pseudomonas</i>	La dégradation des cyclohexanes conduit à la formation des succinyl coA et l'Acétyl coA.	(Scriban, 1999)
1,2-Dichlorobenzène	- <i>Pseudomonas</i>	-	(Pelmont, 2005)
Naphtalène	- <i>P. putida</i>	Le produit final est : Pyruvate + Salicylate - Le Salicylate est hydroxylé en Catéchol qui est minéralisé par la voie meta.	(Pelmont, 2005)
Benzène Toluène Xylène	- <i>P. putida</i>	- Les trois composés aboutissent à la formation des composés du cycle de l'acide citrique à partir de la formation de deux groupements hydroxyle sur le cycle aromatique. Leur disposition doit être en ortho (Catechol) où en para (l'acide gentisique)	(Scriban, 1999)
2,4-Dichlorophenol	- Différents espèces de <i>Bacillus</i>	-	(Herrera et al., 2008)

III-4- Les mécanismes de dégradation des hydrocarbures

III-4- 1 - La dégradation aérobie des hydrocarbures

L'emphase dans les études sur la biodégradation des composés découlant de l'activité humaine a été largement mise sur les processus aérobie et d'oxydation, parce qu'ils sont les mieux connus et parce que les techniques aérobie sont relativement simples comparées aux méthodes de culture anaérobie. Une autre raison de leur utilisation étendue est que les procédés aérobie ont été considérés les plus efficaces et faciles d'application (Labrecque, 2003).

III-4-1-1- La dégradation des hydrocarbures saturés

III-4-1-1-1- La dégradation des n-alcane

La dégradation des n-alcane a été étudiée en détail puisque se sont les hydrocarbures les plus facilement dégradables par un grand nombre de micro-organismes. La longueur de la chaîne des alcane est une première caractéristique importante dans cette dégradation. Plusieurs modes d'attaque des n-alcane ont été décrits (Scriban, 1999 ; Nasir, 2000).

III-4-1-1-1-1- Oxydation monoterninale

L'oxydation des n-alcane se fait par un groupe d'enzymes appelés mono-oxygénases qui introduisent un atome d'oxygène et engendrent un alcool primaire. La réaction qui donne l'alcool est catalysée par un mécanisme complexe d'hydroxylase qui peut être relié à un système de transport d'électrons permettant l'incorporation de l'atome d'oxygène. Les deux meilleurs systèmes décrit sont : le cytochrome P₄₅₀ et le Rubredoxine (Pelmont, 2005). L'alcool précédant est ensuite oxydé en aldéhyde puis en acide gras par les déshydrogénases (alcool déshydrogénases et aldéhyde déshydrogénase) (Nasir, 2000).

L'acide gras formé peut être oxydé par α , β , ω oxydation : les composés formés pourront par la suite être incorporés aux lipides cellulaires (Atlas, 1981). Les voies métaboliques d'oxydation mono-terminale des n-alcane sont indiquées sur la Figure 2.

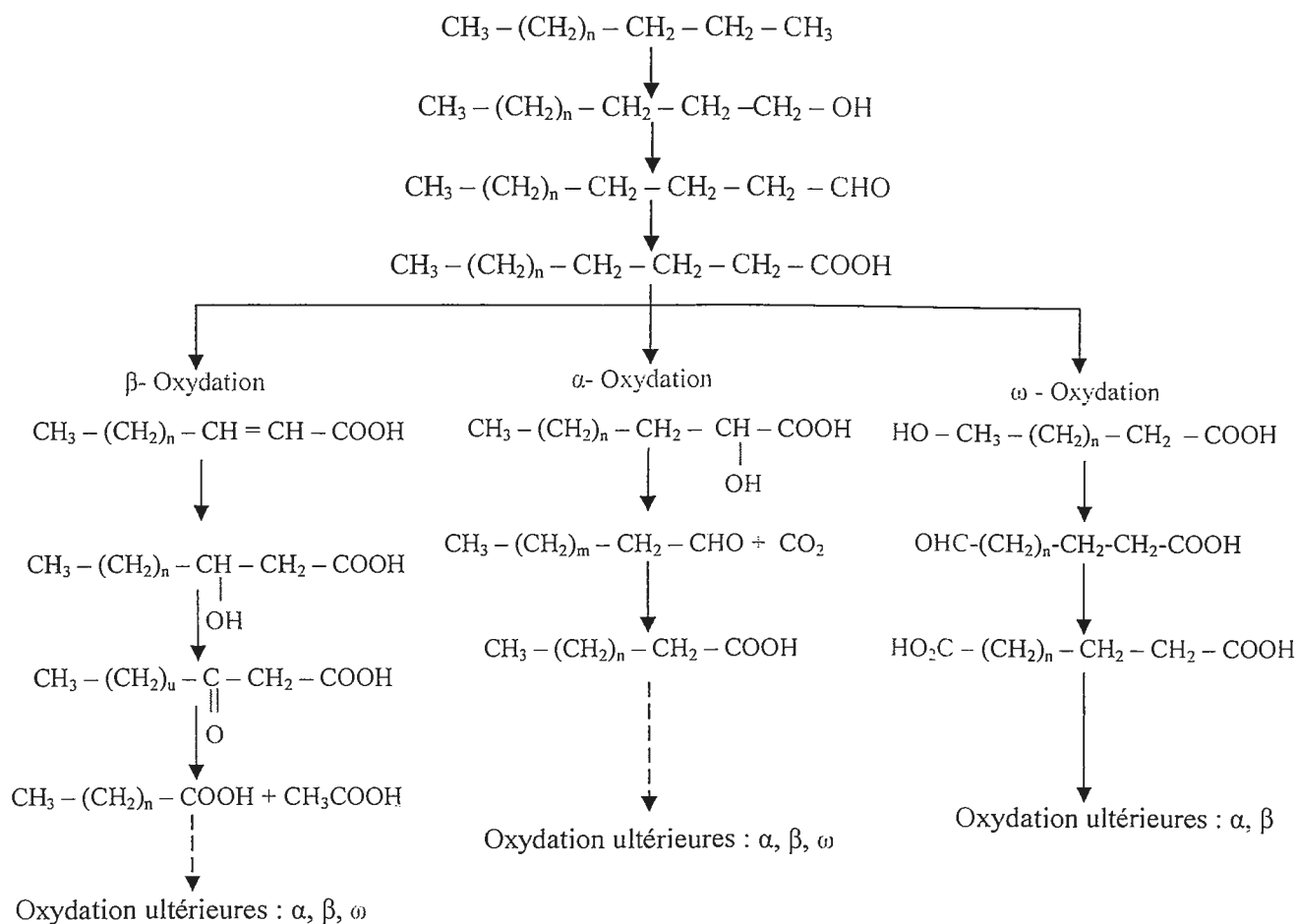


Figure 2: Voie métabolique de l'oxydation mono terminale des n-alcanes (Soltani, 2004)

III-4-1-1-1-2- L'oxydation diterminale

Après formation de l'acide gras à partir des procédés précédents, une deuxième oxydation peut se produire au niveau du groupement méthyle - ω pour donner un diacide (Soltani, 2004).

La voie métabolique via l'oxydation diterminale est représentée dans la Figure 3.

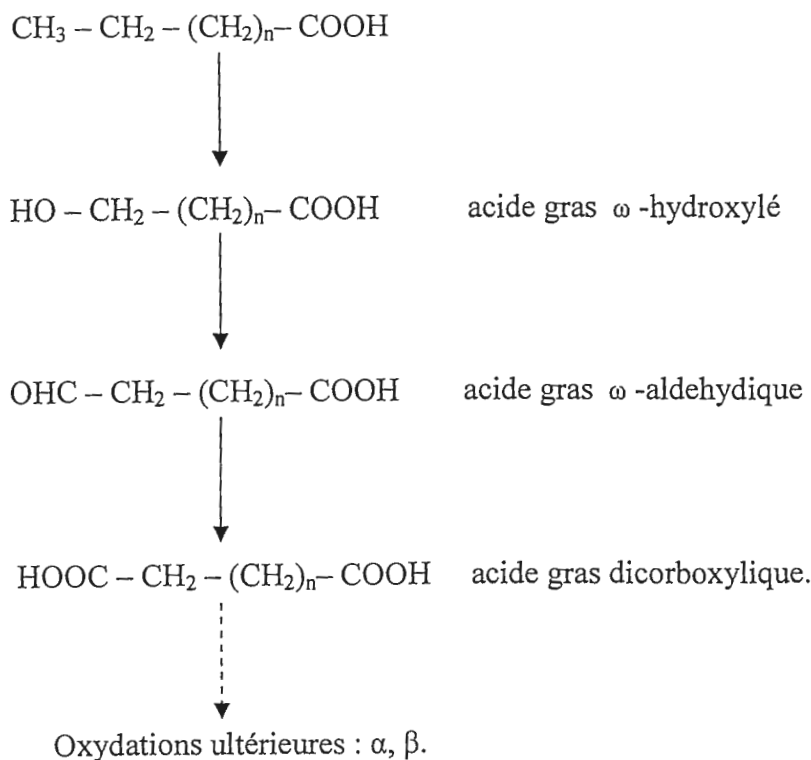


Figure 3: voie métabolique par l'oxydation diterminale (Soltani, 2004).

III-4-1-1-1-3- L'oxydation subterminale

L'oxydation initiale se fait alors sur l'avant dernier carbone ou même plus loin dans la chaîne (Scriban, 1999). Elle conduit à la formation d'un alcool secondaire puis à une cétone. Après la déshydrogénation, et ensuit la formation d'un ester qui est hydrolysé en alcool et en acide, comme le montre la Figure 04 (Nasir, 2000 ; Soltani, 2004 ; Scriban, 1999).

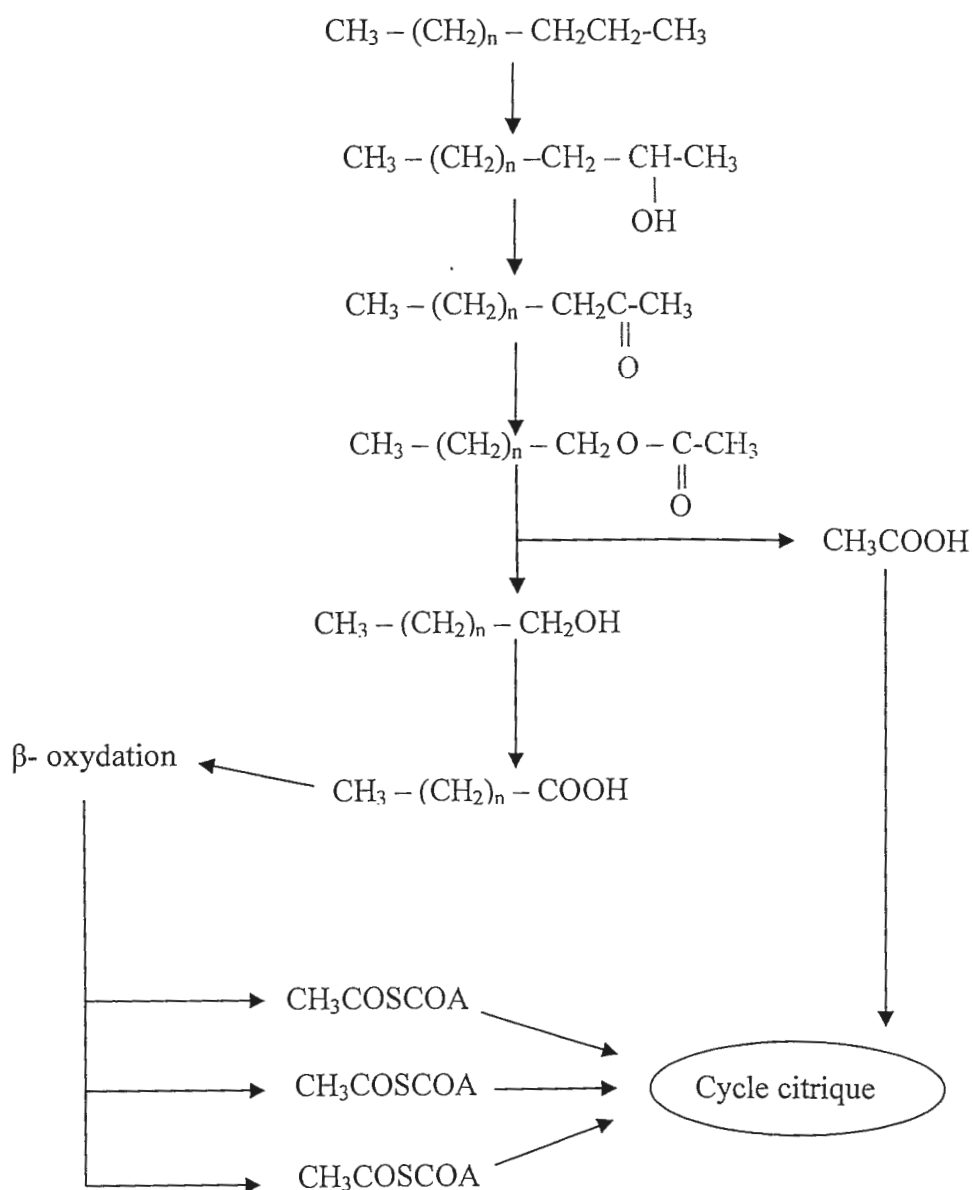


Figure 04 : Schéma général de la voie métabolique de la dégradation des n-alcanes par subterminale (Scriban, 1999).

III-4-1-1-2- La dégradation des alcanes ramifiés

Les alcanes ramifiés incomplètement dégradés renseignent sur les structures moléculaires présentant une résistance à la biodégradation : celles qui comportent des atomes de carbone quaternaires ou encore des atomes de carbone consécutifs portant un groupement méthyle (Solano-serana et al., 2001).

La présence d'un groupement méthyle en position β , va empêcher la β -oxydation, ce qui nécessite l'intervention d'un autre mécanisme comme l' α -oxydation ou une oxydation à l'autre extrémité (Pelmont, 2005 ; Soltani, 2004; Scriban, 1999). Un mécanisme considéré comme probable serait la carboxylation des groupes méthyle conduisant à un acétyle, qui serait ensuite éliminé avec ablation de la ramification latérale (Pelmont, 2005). Le mécanisme est représenté dans le schéma suivant (Figure 5).

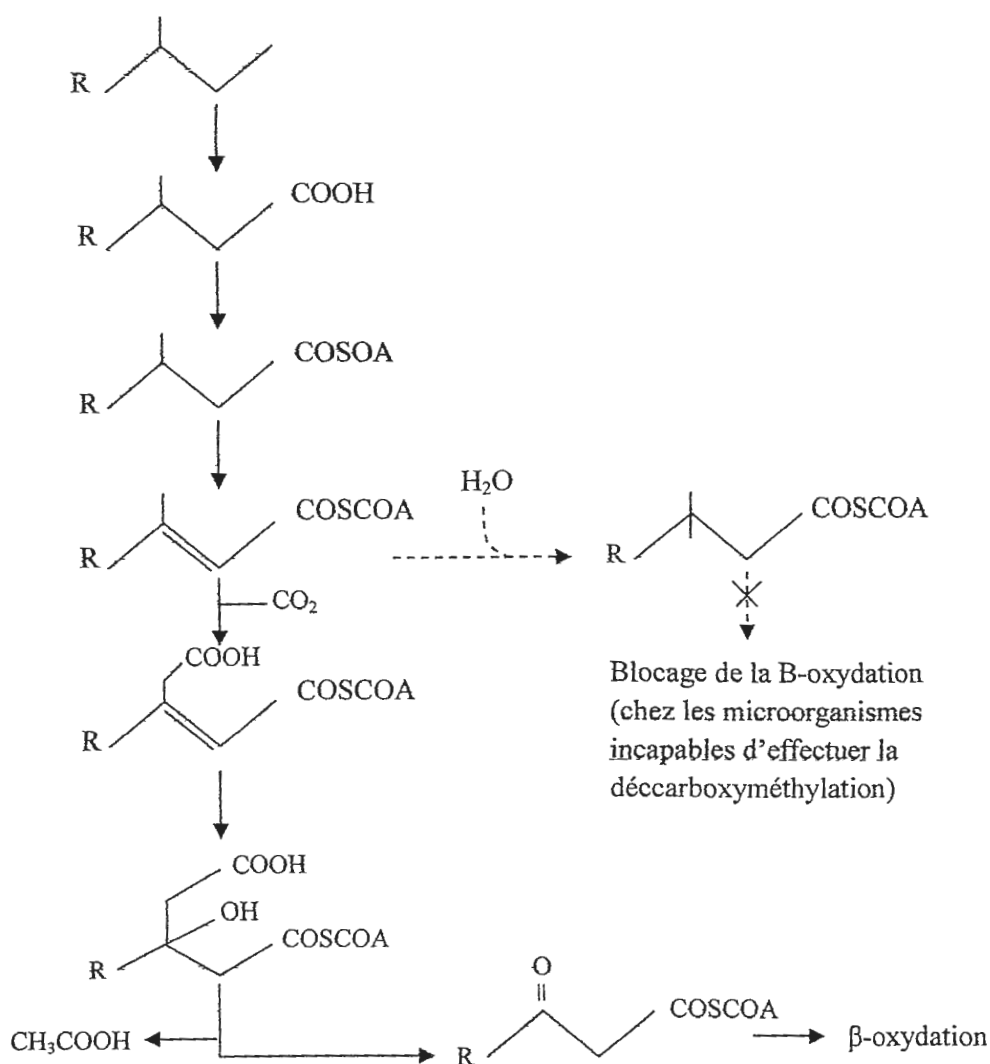


Figure 5: voie de dégradation des 3- méthylalcanes par décarboxyméthylation (Solano-serana et al., 2001).

III-4-1-1-3- La dégradation des cycloalcanes

Les cycloalcanes constituent un autre type d'alcane mais ils ont une structure cyclique, le plus simple de ces composés est le cyclohexane. La dégradation de ce dernier nécessite une mono-oxygénation qui transforme le cyclohexane en cyclohexanol dont les transformations ultérieures sont assez bien connues. Le cyclohexanol est transformé en cétone (Solano-serana et al., 2001), qui subit une série de transformations successives pour aboutir à formation du CO₂ et H₂O (minéralisation) à partir de succinyle-COA et acétyle-COA. La Figure 6 représente la voie de dégradation du cyclohexane.

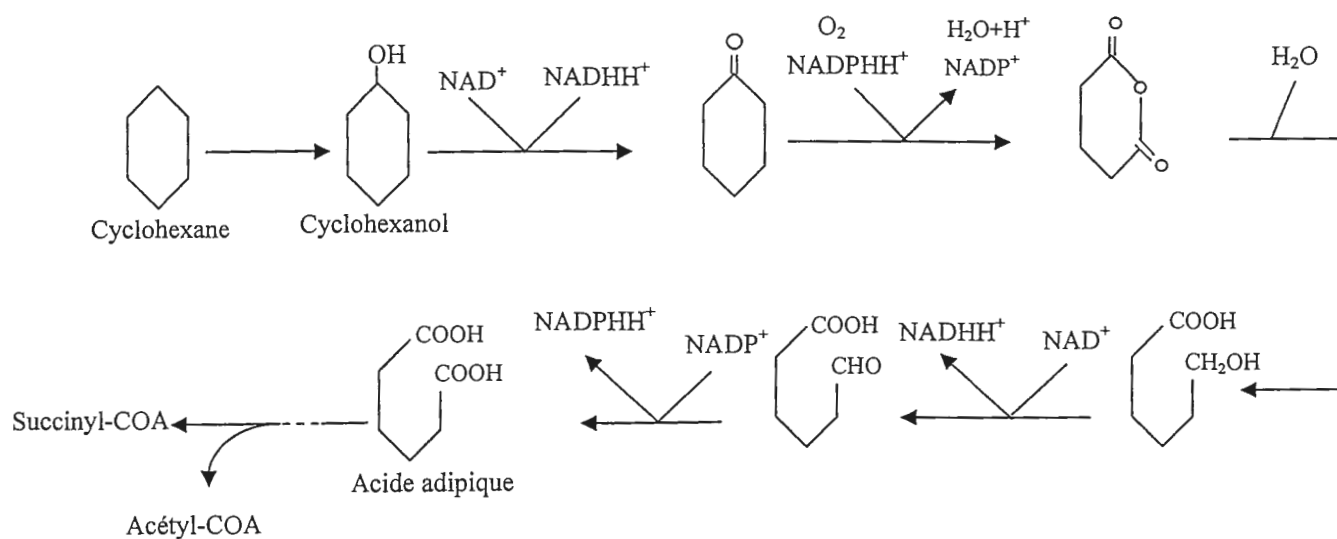


Figure 6: Voie de dégradation du cyclohexane (Scriban, 1999)

III-4-1-2- La dégradation des hydrocarbures insaturés

Les alcènes sont biodégradables et leurs métabolismes rejoint celui des alcanes. Plusieurs modes d'attaques ont été mis en évidence mais l'oxydation du groupement méthyle terminal est considérée comme le mécanisme majeur (Scriban, 1999). L'oxydation donne un alcool primaire insaturé qui, à son tour, sera oxydé en acide. Une autre voie métabolique a été montrée par les études de Van Der Linden (1963) et de Hubregtse et Van Der Linden (1964) sur l'oxydation des alcènes, qui est la formation d'un époxyde d'un diol-1,2, d'un α -hydroxy acide et en fin d'un acide saturé (l'aldéhyde qui est un métabolite intermédiaire n'a pas été détecté) (Soltani, 2004).

III-4-1-3-1- La dégradation des hydrocarbures monocycliques aromatiques

La dégradation est initiée par des monooxygénases (hydroxylases) agissant sur les substituants alkylés du cycle aromatique ou sur le cycle lui-même ou par des dioxygénases sur le cycle aromatique. Le mode d'attaque dépend des groupements alkyles substituants mais pour un même composé dépend également de la souche bactérienne (Scriban, 1999 ; Pelmont 2005).

La dégradation des hydrocarbures monocycliques aromatiques, notamment du benzène, du toluène, de l'ethylbenzène, des ortho-meta-para-xylènes (BTEX) à été étudiée de façon très détaillée (Scriban, 1999). L'oxygénation des ces composés se fait sur le même principe que celle du benzène et engendre un cis-dihydrodiol. Le cis-dihydrodiol produit est déshydrogéné en catéchol ou un de ces dérivés (Pelmont, 2005) selon les cas suivants :

- Cas du benzène

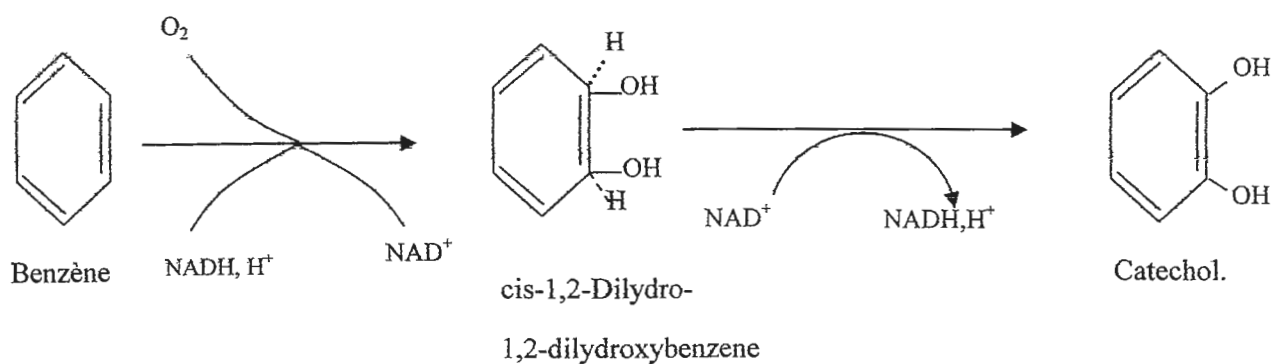


Figure 08 : l'oxydation du benzène (Glazer et Nikaido, 1998).

- Cas du toluène

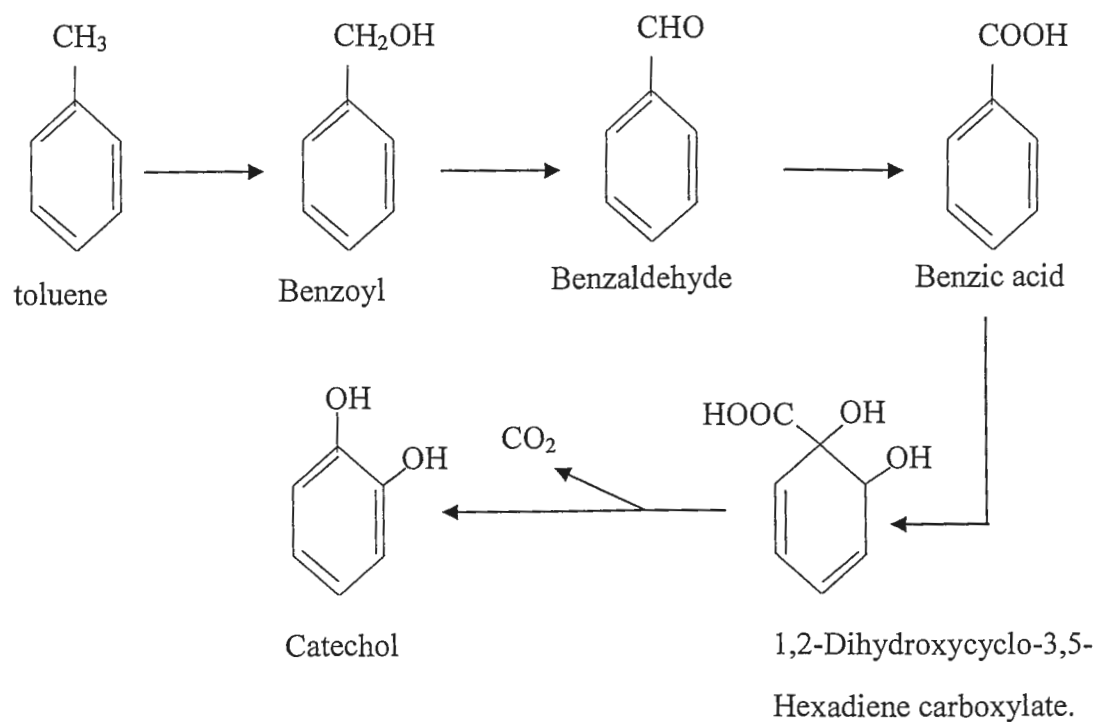


Figure 09 : la dégradation du toluène (Glazer et Nikaido, 1998 ; Scragg, 2005).

- Cas de xylène

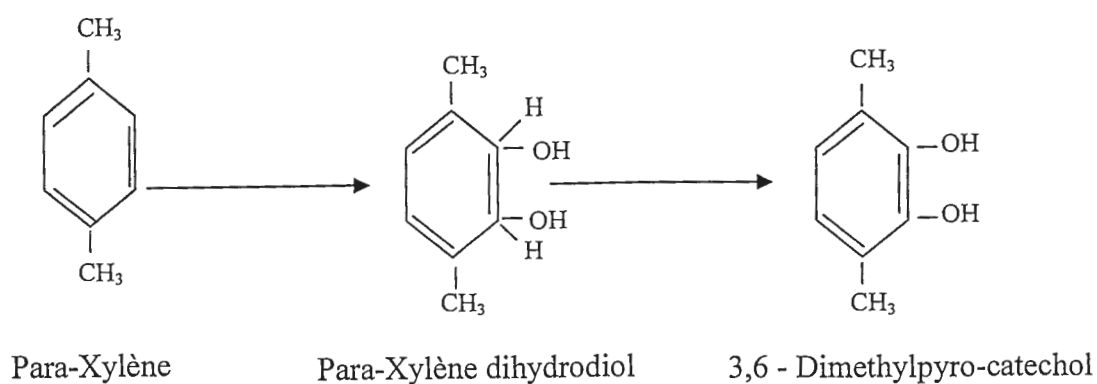


Figure 10 : Voie métabolique proposée par Davy et Gibson (1974) pour l'oxydation de para-xylène par *P. putida* (Labrecque, 2003).

C'est au niveau du catéchol ou de ces dérivés que s'effectue l'ouverture du cycle aromatique par des dioxygénases. Deux modes d'attaques sont possibles selon les composés et les bactéries concernées, dits clivage ortho et clivage méta (Figure 11) (Pelmont, 2005 ; Scriban, 1999 ; Scragg, 2005).

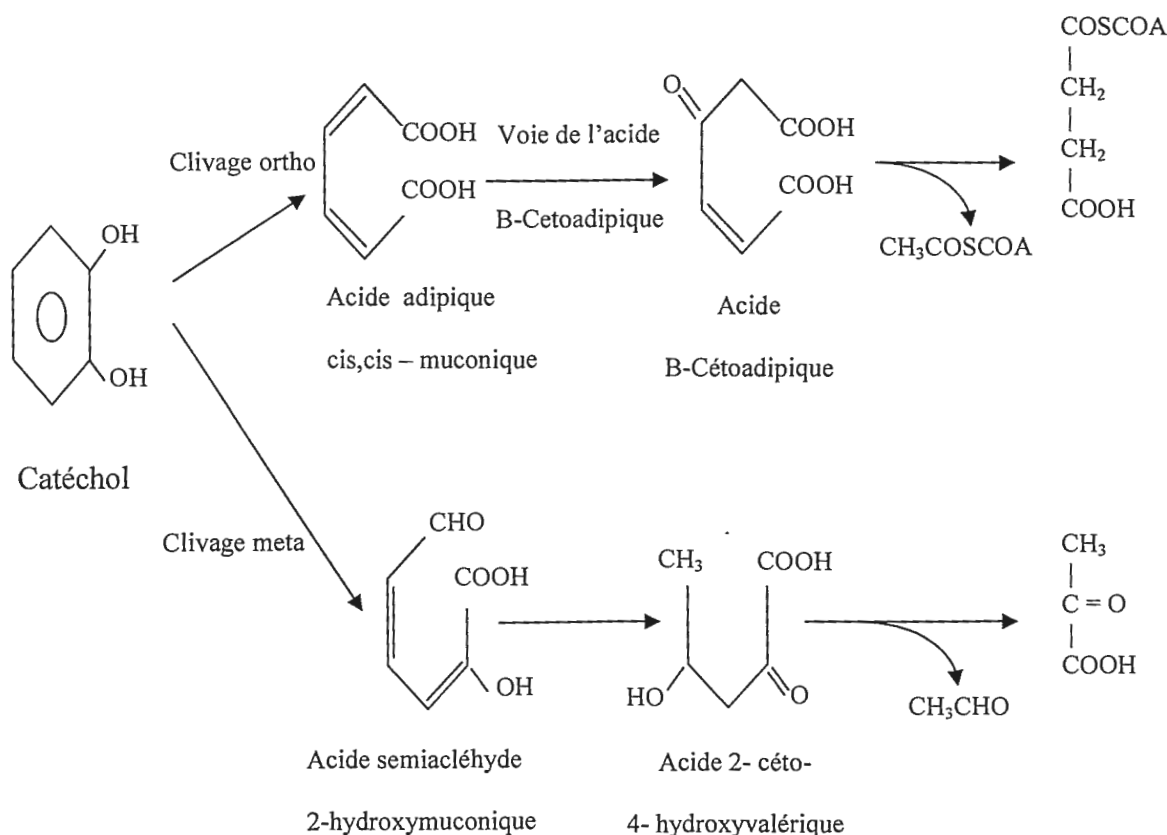


Figure 11: La dégradation des catéchols (Perry et al., 2004; Scragg, 2005)

III-4-1-3-2- La dégradation des hydrocarbures polycycliques aromatiques

L'oxydation des composés polycycliques aromatiques se fait le plus souvent en conditions aérobies. L'attaque se fait au niveau d'un anneau, en général terminal, grâce à une enzyme, la dioxygénase, donnant une structure de type catéchol. Ensuite, par action d'une seconde dioxygénase il y a rupture de la structure formée (en ortho ou méta des groupes hydroxyle) suivie par d'autres ruptures. Les sous produits formés sont généralement plus solubles, plus mobiles et peuvent présenter une toxicité (Gabet, 2004). On peut détailler ces mécanismes selon les composés et leurs structures dans les exemples suivants :

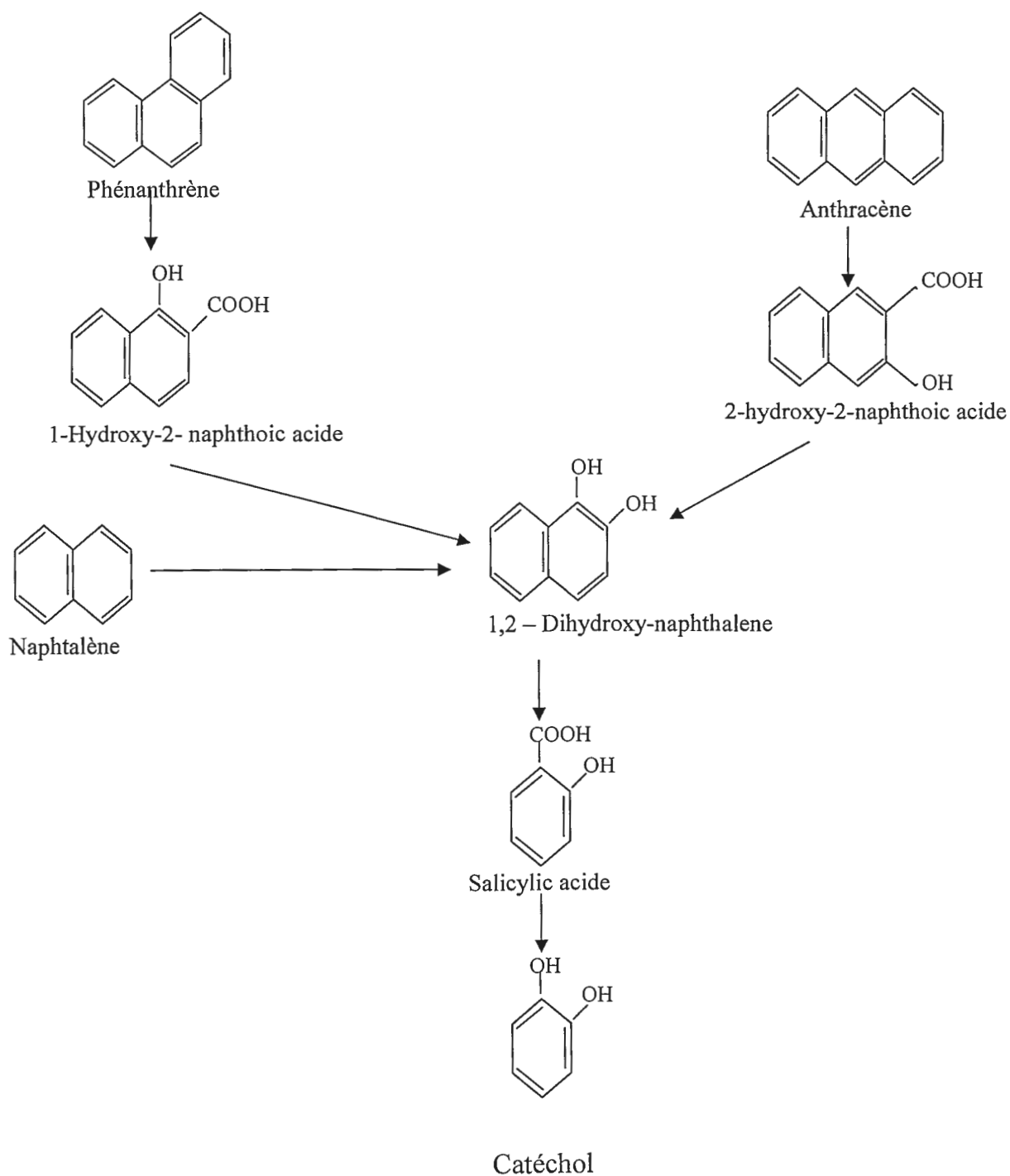


Figure 12: L'oxydation des composés aromatiques par la voie méta (Nasir, 2000).

III-1-1-4- La dégradation des hydrocarbures xénobiotiques

Les xénobiotiques sont des composés organiques artificiels, parmi ces composés les hydrocarbures hologéniques (aromatiques ou aliphatiques) et les nitroaromatiques. Ces composés diffusent dans l'environnement par plusieurs méthodes, certains sont des fertilisants, pesticides et herbicides qui se distribuent par l'utilisation directe ou par combustion dans le cas des hydrocarbures polycycliques aromatiques (Glazer et Nikaido, 1998). Nous choisirons ici la dégradation d'un composé aromatique chloré:

La dégradation des composés aromatiques chlorés: la biodégradation aérobie d'un composé aromatique chloré est en principe d'autant plus difficile qu'il y a davantage d'atomes de chlores sur le noyau. Les composés très chargés en chlore peuvent donc être récalcitrants et persister longtemps dans l'environnement. On choisit comme exemple la dégradation de 1, 2, 4, 5- tetrachlorobenzène. L'attaque est basée sur une dioxygénase qui déchlore partiellement le 1, 2, 4, 5- tetrachlorobenzène. Le mécanisme est représenté dans la figure 13

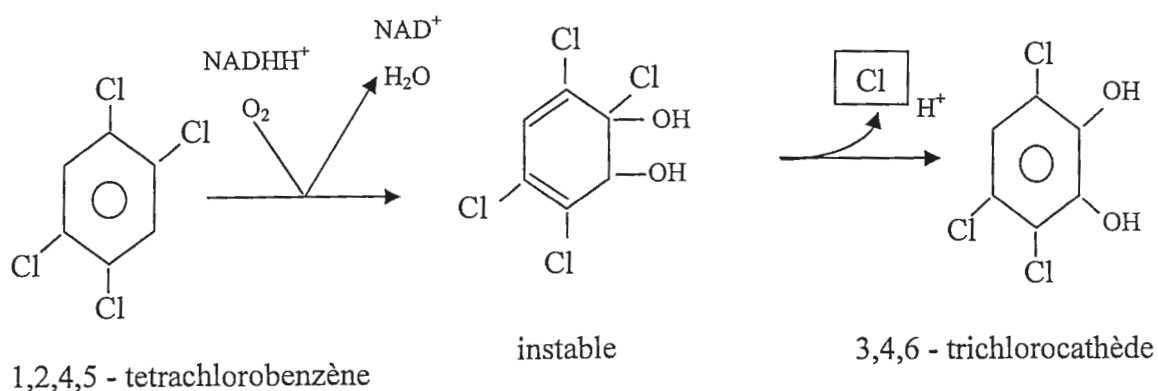
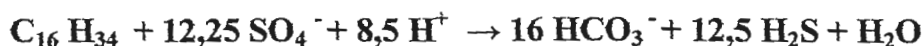


Figure 13 : Dioxygénation du cycle aromatique halogéné (Pelmont, 2005).

III-4-2- La dégradation anaérobie des hydrocarbures

Certains hydrocarbures peuvent être dégradés dans des conditions anaérobies lorsque l'oxygène est absent ou ne se trouve qu'en faible quantité, le nitrate, le fer (III), le sulfate et le carbone peuvent, dans l'ordre, servir d'électro accepteurs terminaux (Harayama et al., 1999 ; Schulze et Tiehm, 2003). Plusieurs hydrocarbures tels que les alcanes, les alcènes et les hydrocarbures cycliques aromatiques (benzène, toluène, éthyle et propylbenzènes) sont dégradés dans ces conditions (Harayama et al., 1999)

La dégradation anaérobie des alcanes a été longtemps discutée et contestée y compris sur des bases théoriques. Une description crédible de la dégradation et de la minéralisation de l'Hexadécane et du dodécane par une bactérie sulfito-réductrice a cependant été donnée. Le bilan global correspond à l'équation :



(Scriban, 1999).

Le schéma suivant représente le mécanisme de la dégradation des alcanes par la voie anaérobie.

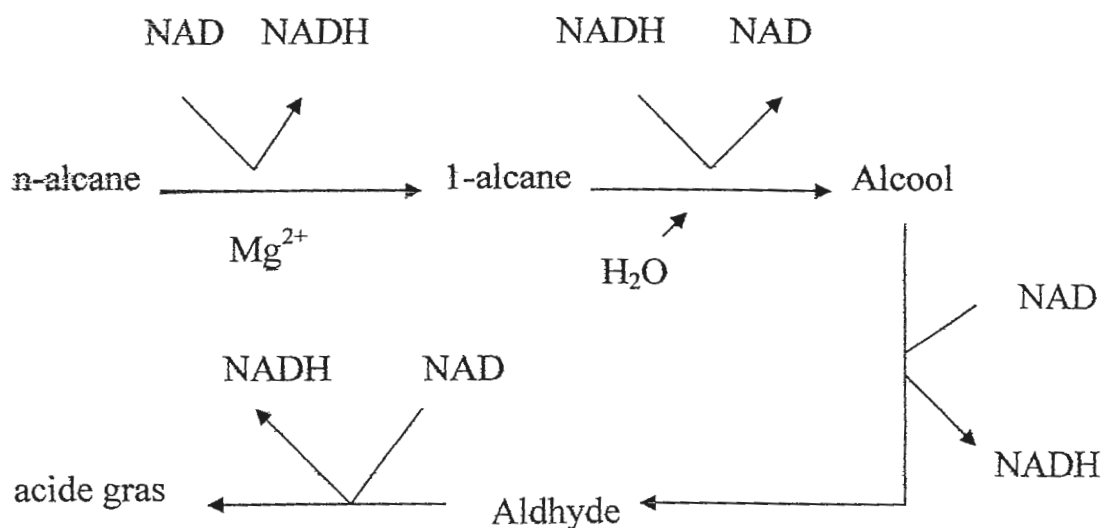


Figure 14 : la conversion anaérobie de n-alcane en acide gras (Parekh et al., 1977)

La dégradation des hydrocarbures aromatiques et en particulier le toluène a été la plus étudiée du fait qu'elle assure une croissance rapide des bactéries, plusieurs méthodes anaérobiques sont utilisés pour la dégradation du toluène. L'une de ces méthodes transforme le substrat initial en benzoyl-coenzyme A (COA), ce dernier est transformé en cyclohex-1,5-diene 1-carboxy-COA qui donne après des réactions successives l'acetyl-COA Figure 15 (Harayama et al., 1999).

opérations de biodécontamination, le processus sera pénalisé en hiver, et même complètement stoppé si la température touche sous 0 °C. On considère que l'intervalle de rendement biologique maximal se situe entre 15 et 45 °C (Lecomte, 1998), pour les hydrocarbures polycycliques aromatiques la température optimale est 20-30 °C (Gabet, 2004)

III-5-3-Le pH

Le pH optimale de la dégradation se situe ente [5,5 – 8,5] (Gabet, 2004). On prend comme exemple l'effet du pH sur la croissance de *Mycobacterium Vanbalenu* PYR- 1 et sa dégradation du phénanthrène et du pyrène. Le taux de dégradation du phénanthrène et du pyrène a augmenté par une unité (7,5 jusqu'à 6,5) quand le pH baissé (Kim et al ., 2005) .

III-5-4- Les éléments nutritifs

Les microorganismes ont besoin d'environ dix éléments en grande quantité, ces éléments étant utilisés entre autres pour synthétiser des glucides , des lipides , des protéines et des acides nucléiques . Plusieurs éléments sont nécessaires entre en très faible quantité et font partie des enzymes et des cofacteurs (Prescott et al ., 2003) , plusieurs études ont exploité la présence en mer de microorganisme susceptible de dégrader des produits pétrolières un engrains minéral , contenant de l'azote et du phosphore immédiatement assimilables , a été utilisé pour provoquer l'augmentation du nombre de ces microorganismes et de ce fait du potentiel de dégradation des eaux polluées traitées (Lepetit et al ., 1984) .

III-5-5 La pression :

Une augmentions de la pression hydrostatique ne semble pas influencer la croissance et l'activité hydrocarbonoclastate chez *Marinobacter aqueoli* HPss-5 ,mais modifie les voies et les flux métaboliques des hydrocarbure aliphatiques chez cette souche (Site web III).

III-5-6- L'oxygène

L'étape initiale du catabolisme des hydrocarbures aliphatiques , cycliques et aromatiques par les bactéries et les champignons inclut l'oxydation de ces substrats par l'intermediar d'hydroxylases et oxygénases , pour les quelles l'oxygène moléculaire est indispensable Les conditions anaérobies sont , par suite, nécessaires pour cette voie d'oxydation microbienne des hydrocarbures dans l'environnement Théoriquement , 3,5g d'oxygène sont nécessaires pour l'oxydation complète de 1g de pétrole; Zobelle, a calculé que la quantité d'oxygène dissoute dans 320 ml d'eau de mer est nécessaire pour l'oxydation de 11g de pétrole brut (Soltani, 2004).

Chapitre IV

IV-Le rôle du génie génétique dans la biodégradation

IV -1- Introduction

Les bactéries sont capables de s'adapter à leur environnement, notamment aux sources de carbone et d'énergie présente dans leur milieu. Elles ont ainsi développé des systèmes leur permettant de régler l'expression des gènes codant pour les voies du catabolisme des hydrocarbures (Kuony, 2005). Les gènes responsables de la dégradation sont chromosomiques plasmidiques ou bien chromosomiques qui subissent une régulation plasmidiques. Les gènes chromosomiques où plasmidiques ont souvent la même voie dégradative. Un grand nombre des gènes bactériens dégradatif sont des portés par des plasmides (Nasir, 2000).

IV-2-Les différents plasmides impliqués dans la biodégradation

IV-2-1-Définition des plasmides

Les plasmides sont des fragments extra chromosomiques d'ADN circulaire ils jouent de nombreux rôles dans la vie des bactéries. Se sont des molécules d'ADN double brin habituellement circulaire qui peuvent exister indépendamment des chromosomes. Les plasmides sont d'une grand valeur pour les microbiologistes et les généticiens moléculaires dans la construction et le transfert de nouvelles combinaisons génétiques et dans le clonage des gènes (Prescott et al., 2003).

Quelques plasmides impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures sont représentés dans le Tableau :

(Glazer et Nikaido, 1998).

Tableau 4 : Les plasmides impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures

Le composé dégradé	Le plasmide	Taille approximative (Kb)	Le microorganisme (hôte)
Alkyl benzène sulfonate	ASL	91,5	<i>Pseudomonas_testosteroni</i>
Benzoate	pCB ₁	17,4	<i>Alcaligenes xylooxidans subsp denitrificans</i> PN-1
Biphenyl	pBS241	195	<i>P. putida</i> BS 893
Camphre	PpG ₁ (CAM)	~500	<i>Pseudomonas sp.</i>
4-chlorobiphenyl	pSS50	53,2	<i>Alcaligenes sp.</i>
2-4-Dichlorophenoxyacetate	pJP ₁	87	<i>A. Paradoxus</i> Imp166
Dibenzothiophene	-	82,6	<i>Pseudomonas sp.</i> DBT ₂
S.Ethyl-N.N-dipro Pylthiocarbanate	-	75,7	<i>Arthrobacter sp.</i> TE 1
Naphtalène	Nah 7	83	<i>P. putida</i> PpG 7
Octane	OCT	~500	<i>P. oleovorans</i>
Parathion	pPDL ₂	43	<i>Flavobacterium</i> ATCC 27551
Styrène	pEG	37	<i>P. fluorensens</i> PAW 340
Toluène	pWWO (TOL)	117	<i>P. putida</i> mt 2

IV-2-2-Etude de quelques plasmides de dégradation des hydrocarbures

IV-2-2-1-Le plasmide TOL

L'archétype de plasmide Tol est le décrit pour la première fois chez *Pseudomonas putida* mt-2 par Williams et Murray (Pelmont, 2005). Le plasmide TOL de *Pseudomonas putida* code une voie pour le catabolisme de toluène, xylène et les dérivés de benzène. Les gènes qui codent le catabolisme sont appelés les gènes xyl (Glazer et Nikaido, 1998).

Les gènes xyl sont groupés dans deux opérons, l'opéron supérieur xyl CAB spécifie l'oxydation du toluène en benzoate et xylène en alhylbenzoate (Kaldalu et al., 2000). L'opéron de la voie méta (voie basse) xyl XYZLEGFKIH. Code les enzymes de dégradation du benzoate et toluate en acétaldéhyde et le pyruvate (Glazer et Nikaido, 1998), et voici une carte simplifiée de (pWW0) montrent la disposition des deux transposons emboîtés et les gènes xyl (Figure), et un Tableau représente les enzymes codées par le plasmide TOL.

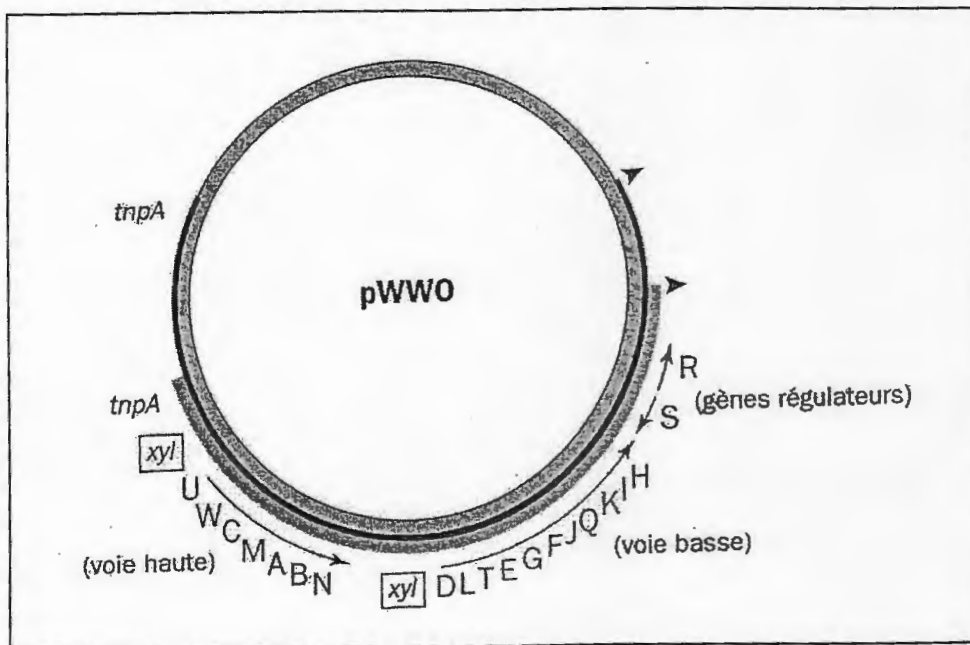


Figure 16: Le plasmide TOL (pWW0) (Pelmont, 2005).

Tableau 5 : Les enzymes codées par le plasmide TOL (Glazer et Nikaido, 1998)

Les gènes	Les enzymes
1-L'opéron supérieur	
xyl A	Xylène oxygénase
xyl B	Benzyle alcool dehydrogenase
xyl C	Benzaldéhyde dehydrogenase
L'opéron (meta-voie)	
xyl XYZ	Toluate dioxygénase
xyl E	Catechol 2.3-dioxygénase
xyl F	2-Hydroxymuconic semi aldéhyde hydrolase
xyl G	2-Hydroxymuconic semi aldéhyde déshydrogénase
xyl H	4-oxalocrotonate tautomerase
xyl I	4-oxalocrotonate décarboxylase
xyl J	2-oxypent-4-enoate hydratase
xyl K	2-oxy-4-hydroxypentenoate aldolase
xyl L	Dihydroxy cyclohexadiene carboxylate dehydrogenase
xyl R	Sont des protéines de régulation
xyl S	

IV-2-2-2-Le plasmide NAH7

Le plasmide NAH7 possède des gènes nah qui codent la voie de dégradation du Naphtalène et salicylate chez *Pseudomonas Putida*. Les gènes nah sont organisés en deux opérons, l'opéron nah est responsable de la dégradation du naphtalène en salicylate lors que l'opéron sal à l'origine de la dégradation du salicylate en pyruvate et acétaldéhyde (Kuony, 2005).

IV-2-2-3-Le plasmide Oct

Les gènes responsables de la dégradation des n-alcane et de la résistance au mercure sont codés dans le plasmide Oct de *Pseudomonas putida*. Les enzymes de dégradation codées par le plasmide Oct sont : Alcane hydrolase qui transforme le n-alcane en alcool, cette dernière qui à l'effet d'alcool dehydrogénase le transforme en aldéhyde puis en acide gras (Harayama et al., 1999).

IV-3-Le rôle du génie génétique dans la biodégradation des hydrocarbures

L'amélioration génétique des souches microbiennes a des nombreuses applications et offre de belles perspectives dans les industries diverses. Le génie génétique discipline d'avenir alors que se confirme l'essor des biotechnologies fait largement appel aux données de la génétique microbienne. (Guiraud, 1993)

Il existe plusieurs méthodes de la transformation de l'information génétique chez les microorganismes, parmi ces méthodes la transformation, la conjugaison et la transduction (Prescott et al, 2003). Les plasmides de dégradation des hydrocarbures sont transférés généralement par transformation et conjugaison comme le cas d'*E. coli* qui est à l'origine incapable de dégrader le toluène, mais après une transformation par le plasmide TOL devient dégradative pour le toluène (Nasir, 2000). Un Autre exemple de la transformation des gènes dans la même genre bactérienne, le *Pseudomonas putida* RKJ1 est capable de dégrader la naphtalène et le salicylate, *Pseudomonas putida* RKJ5 avait perdu son pouvoir de dégradation et son activité, après une conjugaison entre les deux souches bactériennes, on obtient une souche RKJ5 dégradative pour le naphtalène. (Samanta et Jain, 2000). Et la Figure suivante représente la destruction d'une bactérie capable de dégradé quatre hydrocarbures au même temps (Scragg, 2005).

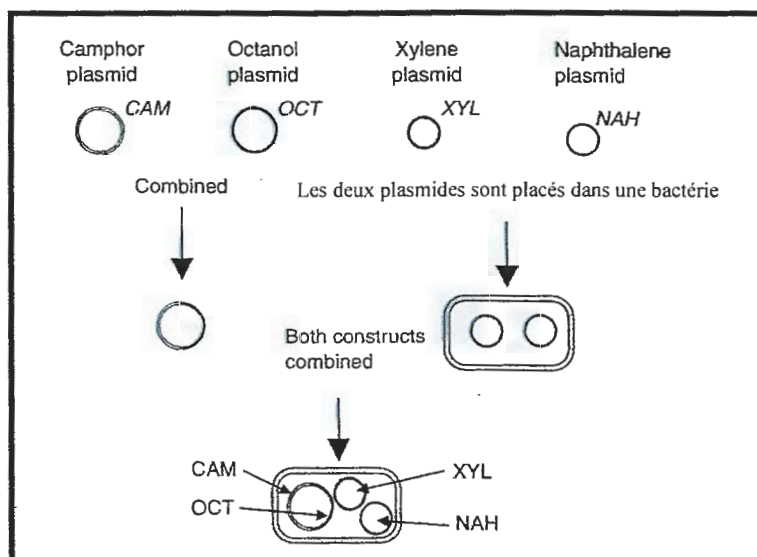


Figure17: La construction d'une bactérie capable de dégrader quatre hydrocarbures

conclusion

Conclusion

La biodégradation par les microorganismes est un processus très efficace pour l'élimination des polluants d'origine pétrolière.

Les microorganismes qui sont impliqués dans cette biodégradation utilisent plusieurs mécanismes qui nécessitent l'intervention de groupes enzymatiques très spécifiques.

La biodégradation dépend de plusieurs facteurs soit intrinsèque ou extrinsèque.

Pour l'évolution de la biodégradation il y a beaucoup de recherches génétiques qui font l'étude de plusieurs espèces microbiennes pour améliorer l'effet dégradatif de ces derniers.

Références

- Amigoni S., Fensterbank H. et Gauchera H. (2004). Chimie organique cours, Ed. BELIN, Paris.
- Atlas R. M. (1981). Microbiol Dégradation of petroleum Hydrocarbons: an Environmental Perspective. Microbiol. Rev. 45: 180-209.
- Baudin F., Tribovillard N. et Trichet J. (2007). Géologie de la matière organique, Ed. CPI, Paris.
- Belhej A., Elmerich C., Ismaili M., Zouhdi M., Hajjam Z., Assafi M. et Alaoui M. A. (2000). Bacilles à Gram positif: identification et potentiel de la biodégradation des hydrocarbures. Biologie infectiologie 2000-TOME VI (1).
- Bliefert C., Perraud R. (2004). Chimie de l'environnement air, eau, sols, déchets, Ed. Université de boeck, Bruxelles.
- Boiron P. (1996). Organisation et biologie des champignons, Ed. NATHAN Université, Paris.
- Chiteur S. (1983). Raffinage du pétrole, Ed. Office des publications universitaires, Algérie.
- Drabkive A. et Proskouriak V. (1983). La chimie du pétrole et du gaz, Ed. MIR, Moscou.
- Descotes J., Testud F. et Frantz P. (1992). Les urgences en toxicologie, Ed. Maloine, Paris.
- Forbes V. E. et Forbes T.L. (1997). Ecotoxicologie théorie et application, Ed. INRA, Paris.
- Frank C. L. (1992). Toxicologie, Ed. Masson, Paris.
- Gabet S. (2004). Remobilisation d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse de Doctorat, Université de Limoges.

- Girad M.C., Water C., Rémy C., Bertheln J. et Morel J. L. (2005). Sols et Environnement, Ed. DUNOD, Paris.
- Glazer A. N. and Nikaido H. (1998). Microbiol Biotechnology, Ed. W.H. FREEMAN and Camany, New york.
- Guiraud J.P. (1993). Génétique Microbienne, Ed. TEC & DOC, Paris.
- Harayama S., Kishira H., Kasai Y. and Shutsubo K. (1999). Petroleum biodégradation in marine Environnements J. Molec. Microbiol. Biotechnol. 1: 63-70.
- Herrera Y., Okoh A.I., Alvarez L., Robledo N. and Trejo-Herna'ndez M.R. (2008). Biodegradation of 2,4-dichlorophenol by a Bacillus consortium. World J. Microbiol. Biotechnol. 24: 55-60
- Kaldalu N., Toots V. Victor de Lorenzo and Vstao M. (2000). Functional domains of the TOL plasmid transcription factor XylS. J. Bacteriol. 182: 1118-1126.
- Kim Y. H., Freeman J. P., Moody J. D., Engsser K. H. and Cerniglia C. E. (2005). Effects of pH on the degradation of phenanthrene and pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR. 1. Appl. Microbiol. Biotechnol. 67: 275-285.
- Kuony S. (2005). Caractérisation d'Arène dioxygénases impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures Aromatiques polycycliques chez *Mycobacterium sp.* 6PY1. Thèse de Doctorat, Université Josèphe Fourier – Grenoble I (France).
- Laurent C., Feid T. et Laurent F. (2005). Contamination des sols (transfert des sols vers les animaux), Ed. EDP Sciences /ADEM.
- Labrecque M. H. (2003). Etude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le Xylène. Maitrise en microbiologie agricole, Université Laval.
- Lecomte P. (1998). Les sites pollués, Ed. Tec & Doc, Paris.
- Lefebore G. (1986). Notion de chimie du pétrole, Ed. TECHNIP, Paris.
- Lepetit J., Guiot J., Martin Y., Tagger S. (1984). Biodégradation du pétrole en mer influence de l'apport d'azote et de phosphore sous forme minérale, IFREMER, Actes de Colloque International de Bactériologie marine.

- Manhan S.E. (2007). Environnemental science and technology, Ed. Taylor and Francis, New York.
- Martel M. (1996). Aide mémoire de chimie industrielle, Ed. Dunod, Paris.
- Mesplede J. (2004). Chimie organique Pc, Ed. Breal, France.
- Nasir R. B. (2000). Bacteriological and genetic study on *Pseudomonas Spp* utilizing hydrocarbon compound. M.Sc. Thesis. University of Baghdad.
- Parekh V.P., Traxcer R.W. and Sobek J.M. (1977). N-Alkanets oxidation Enzymes of a *Pseudomonad*, Appl. Environ. Microbiol. 33: 881-884.
- Pelmont J. (2005). Biodégradation et métabolismes, Ed. EDP, France.
- Perry J.J., Staley J. T. et Lory S. (2004). Microbiologie, Ed. Dunod, Paris.
- Prescott L.M., Harby J.P. et Klein D.A (2003). Microbiologie, Ed. Boeck, Paris.
- Reichl (2004). Guide pratique de Toxicologie, Ed. Boeck, Paris.
- Samanta S.K. and Jain R.K. (2000). Evidence for plasmid-mediated chemotaxis of *Pseudomonas putida* to words naphthalene and salicylate Can .J. Microbiol. 46: 1-6.
- Schulze S. and Tiehm A. (2003). Intrinsic Aromatic Hydrocarbon Biodegradation for ground water Remediation. Oil & Gas Sci. Technol. Rev. 58: 449-462.
- Scragg A. (2005). Environnemental Biotechnology Ed. Oxford, New york.
- Scriban R. (1999). Biotechnologie, Ed. TEC & DOC, Paris.
- Solano-Serana F., Marchal R. and Vandecasteele J.P. (2001). Biodégradabilité de l'essence dans l'environnement: de l'évaluation globale au cas des hydrocarbures récalcitrants, Oil & Gas Science and Technology-Rev. IFP, 56 :479-498.
- Soltani M. (2004), Distribution lipidiques et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone, Thèse de doctorat, Université de Paris 6.

- Site I:

www.gFcombustion.Asso.FR/Glossaire.Ph?Langue:Frgtlettre:Astchoix:54#définition.

- Site II: http://www.gazettelabo.fr/2002_archives/pratic/1995/2_hydroc.htm.

- Site III:

<http://www.com.univ-mrs.fr/LMGEM/Postes/Prespub/poster.aFem-grossi.etal.pdf>.

Présentés par:
Bouadam Nabil
Kara Housna
Khelifa Nadia

date de soutenance

23.06.2008

Titre : Biodégradation des hydrocarbures par les microorganismes

Résumé

Les hydrocarbures sont des polluants majeurs dans l'environnement. Pour cette raison, plusieurs méthodes sont proposées pour éliminer ces polluants. Parmi ces méthodes la biodégradation par les microorganismes (bactérie, champignon, levure). Ces derniers utilisent plusieurs mécanismes pour minéraliser les hydrocarbures où diminuer leur toxicité.

Mots clés : hydrocarbures, toxicité, polluants, biodégradation, mécanismes, microorganismes.

Abstract:

Hydrocarbons are the major pollutants of the environment. For this reason many methods were proposed for their elimination, including biodegradation using microorganisms (bacteria, fungi, yeast). These microorganisms use different mechanisms to eliminate (mineralize) hydrocarbons or to decrease their toxicity.

Key words: Hydrocarbons, toxicity, pollutants, biodegradation, mechanisms, microorganisms.

المخلص

تعتبر الهيدروكربونات من الملوثات الأساسية للبيئة. لهذا السبب اقترحت عدة طرق من أجل إزالتها. من بين هذه الطرق المقترحة، التحول الحيوي بواسطة الكائنات الدقيقة، مثل البكتيريا، الفطريات و الخمائر التي تستخدم عدة ميكانيزمات من أجل تحويل الهيدروكربونات و التقليل من سميتها.

الكلمات المفتاحية: الهيدروكربونات ، السمية ، الملوثات ، التحول الحيوي ، الميكانيزمات ، الكائنات الدقيقة.

Responsable de recherche :