Nom et Prénom : RKHAILA AMINE
Date de soutenance : 05/11/2020
Directeur de Thèse : K. OUNINE

Sujet de Thèse :

Valorisation de la chitine et du chitosane, biopolymères obtenus à partir des carapaces de la crevette rouge : effet synergique, de la bactérisation par Bacillus sp. et du traitement par ces biopolymères sur la stimulation des Solanacées

Résumé :

La chitine a été préparée par hydrolyse acide la chitine des déchets de carapaces de crevette de Parapenaeus longirostris. Tandis que, le chitosane a été obtenue par la désacétylation de la chitine dans des conditions alcalines.

Les résultats obtenus pour les deux sources de la chitine et du chitosane (extraits et commercial (Sigma-Aldrich)) pour la diffraction des rayons X indiquent une cristallinité élevé de la chitine par rapport au chitosane et que l'analyse par la spectroscopie infrarouge (FTIR) indique une forme alpha de la chitine par la présence de trois pics autours de la région 1650-1550 cm-1. Tandis que, l'analyse par microscopie électronique à balayage couplé avec un spectromètre de rayons X à sélection d'énergie (MEB-EDS), révèle la présence des atomes de carbone (36.66%), d'azote (10.74%), d'oxygène (51.57%) et des traces de chlorure (1.03%) dans les échantillons de la chitine. Alors que l'échantillon du chitosane extrait avait 1.076% d'acétyle et des pourcentages d'atome variant de 31.17% (C), 11.34% (N), 54.72% (O) à 2.77% (Ca).

L'application in Vitro de la forme soluble de la chitine, du chitosane ou de leurs mélanges à 25 mg/l, 50 mg/l ou 100 mg/l sur des graines de Lycopersicon esculentum L., Capsicum annuum L. et de Solanum melongena L., révèle une stimulation de l'habilité germination par rapport au témoin des graines de trois espèces par 14%, 34% et 22% respectivement. Tandis qu'un accroissement a été remarqué sur la longueur de la pousse ou de la racine de ces dernières par plus de 1.27 cm ou 3.48 cm respectivement. Quant à l'indice de vigueur, nous avons noté une augmentation significative de ce paramètre par des valeurs dépassants 449.2, 221.5 et 330.5 respectivement.

Lors de l'amendement hebdomadaire du sol pendant 12 semaine par la poudre des coproduits de la chitine à 25 mg/l, 50 mg/l ou 100 mg/l, nous avons observé une stimulation hautement significative des paramètres mesurés à l'ajout de la chitine pour Lycopersicon esculentum L. et à l'addition du chitosane pour Capsicum annuum L. et Solanum melongena L. Ainsi, une production appréciable qui a dépassé la moyenne de 5 et 2.2 fruit par plante a été enregistrée. En outre, les poids des fruits ont battus 156.4 g en additionnant 100 mg/l du mélange «chitine-chitosane» au lieu de 32.9 g pour le témoin.

Dans le souci de minimiser la taille des polymères de la chitine et du chitosane, nous avons pensé a utilisé quatre souches bactériennes du genre Bacillus (M12, M21, B6 et B29) isolées et identifiées au niveau du laboratoire de l'équipe de microbiologie. Le test de mesure de l'activité chitinolytique consiste à mettre le point sur la quantité d'enzyme produite, ce qui nous a permis de différencier les souches en souche productrice de 55 U.ml-1 et de 42 U.ml-1 (M12 et B29) et autres moins productrice, comme la souche M21 et B6 (22 U.ml-1 et 31 U.ml-1).

En ce qui concerne la synergie in vivo entre les coproduits de la chitine et les souches bactériennes, nous signalons une corrélation positive entre ces deux facteurs. Par exemple, sur la longueur de la tige, la souche M21 était susceptible d'engendrée un accroissement de ce paramètre par plus de 13.1 cm et 53.5 cm en présence respective du mélange «chitine-chitosane» à 100 ou le chitosane à 50 mg/l par rapport au témoin bactérisé de Capsicum annuum L. et Solanum melongena L. De même, le nombre et le poids des fruits produits par les trois plantes inoculées par la souche M12 ; dont le sol est amendé par le mélange chitine-chitosane à 100 mg/l a reconnu une hausse importante variant de 3.7 à 6 fruits ainsi qu'une augmentation de la masse par 42.3 g et 190 g. Tandis que, in vitro cette combinaison a intervenue dans la stimulation de la germination par 27%, 28% et 12%. En outre, à l'ajout de la souche B6 ou B29 et du mélange «chitine-chitosane» nous avons remarqué une progression de l'indice de vigueur par plus de 307.2 chez les trois type de graines.

Mots clés : chitine, chitosane, degrés de désacétylation, extraction, stimulation de la croissance, bactéries endophytiques, Bacillus, Lycopersicon esculentum L., Capsicum annuum L. et de Solanum melongena L., Parapenaeus longirostris.

Abstract :

The chitin was prepared by acid hydrolysis the chitin from the shrimp shell waste of Parapenaeus longirostris. While, chitosan was obtained by deacetylation of chitin under alkaline conditions.

The results obtained for the two sources of chitin and chitosan (extracts and commercial (Sigma-Aldrich)) for the X-ray diffraction having a high crystallinity of chitin compared to chitosan and that the analysis by infrared spectroscopy at Fourier transform (FTIR) indicates an alpha form of chitin by the presence of three photos around the region 1650-1550 cm-1. While analysis by scanning electron microscopy coupled with an energy selection X-ray spectrometer (SEM-EDS), reveals the presence of carbon atoms (36.66%), nitrogen atoms (10.74 %), oxygen (51.57%) and traces of chloride (1.03%) in the chitin samples. While the sample of chitosan extracted had 1.076% acetyl and atom percentages ranging from 31.17% (C), 11.34% (N), 54.72% (O) to 2.77% (Ca).

In Vitro application of the soluble form of chitin, chitosan or their mixtures at 25 mg / l, 50 mg / l or 100 mg / l on seeds of Lycopersicon esculentum L., Capsicum annuum L. and Solanum melongena L., reveals a stimulation of the germination ability compared to the control of seeds of three species by 14%, 34% and 22% respectively. While no increase was noticed on the length of the shoot or the root of the latter by more than 1.27 cm or 3.48 cm respectively. As for the vigor index, we noted a significant increase in this parameter by values exceeding 449.2, 221.5 and 330.5 respectively.

During the weekly amendment of the soil for 12 weeks with the powder of the chitin co-products at 25 mg / l, 50 mg / l or 100 mg / l, we observed a highly significant stimulation of the parameters measured with the addition of chitin for Lycopersicon esculentum L. and the addition of chitosan for Capsicum annuum L. and Solanum melongena L. Thus, an appreciable production, which exceeded the average of 5 and 2.2 fruit per plant, was. In addition, the weights of the beaten fruit 156.4 g in addition 100 mg / l of "chitin-chitosan" mixture instead of 32.9 g for the control.

In order to minimize the size of the polymers of chitin and chitosan, we thought of using four bacterial strains of the genus Bacillus (M12, M21, B6 and B29) isolated and identified in the laboratory of the microbiology team. The test for measuring chitinolytic activity consists in focusing on the quantity of enzyme

produced, which allowed us to differentiate the strains into producing strains of 55 U.ml-1 and 42 U.ml-1 (M12 and B29) and others less productive, such as the strain M21 and B6 (22 U.ml-1 and 31 U.ml-1).

Regarding the in vivo combination between chitin co-products and bacterial strains, we report a positive correlation between these two factors. For example, over the length of the stem, the strain M21 was capable of causing an increase in this parameter by more than 13.1 cm and 53.5 cm in the respective presence of the "chitin-chitosan" mixture at 100 or the chitosan. 50 mg / l compared to the bactericized control of Capsicum annuum L. and Solanum melongena L. Similarly, the number and weight of the fruits produced by the three plants inoculated with the strain M12; whose soil is amended by the

chitin-chitosan mixture at 100 mg / l recognized a significant increase variant from 3.7 to 6 fruits as well as an increase in mass by 42.3 g and 190 g. Whereas, in vitro this combination intervened in the stimulation of the germination by 27%, 28% and 12%. In addition, with the addition of the B6 or B29 strain and the "chitin-chitosan" mixture, we noticed an increase in the vigor index by more than 307.2 in the three types of seeds.

Key words: chitin, chitosan, degrees of deacetylation, extraction, growth stimulation, endophytic bacteria, Bacillus, Lycopersicon esculentum L., Capsicum annuum L. and Solanum melongena L., Parapenaeus longirostris.

ملخص

تم تحضير الكيتين بواسطة التحلل في وسط حمضي (الكيتين) لمخلفات قريدس الروبيان (بارابينيوس لونجيروستريس). بينما، تم الحصول على الشيتوزان من خلال نزع الكيتين في ظل الظروف القلوية. النتائج التي تم الحصول عليها من مصدرين الكيتين والشيتوزان (المستخلص والتجاري (سيغما ألدريتش)) لحيود الأشعة السينية تدل على ان الكيتين يحتوي على بلورة عالية بالمقارنة مع الشيتوزان وأن التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء (FTIR) يشير إلى شكل ألفا من الكيتين بوجود ثلاث قمم حول المنطقة 1650-1550 سم -1. في حين يكشف التحليل عن طريق المسح المجهري للإلكترون إلى جانب مطياف الأشعة السينية لاختيار الطاقة (SEM-EDS)) وجود ذرات الكربون (36.66 ٪)، ذرات النيتروجين (10.74 ٪)، والأكسجين (51.57 ٪) وآثار كلوريد (1.03 ٪) في عينات الكيتين. في حين أن عينة الكيتوزان المستخرجة تحتوي على نسب أسيتيل إلى 2.77 ٪ (O) ٪ 54.72، (N) ٪ 11.34، (C)بنسبة 1.076 ٪ ونسب الذرات تتراوح بين 31.17 ٪ (Ca).

التطبيق المختبري للشكل القابل للذوبان من الكيتين، الشيتوزان أو مزيجهما بنسبة 25 ملغ/لتر، 50 ملغ/لتر أو 100 ملغ/لتر على بذور Lycopersicon esculentum L. ،Capsicum annuum L. وSolanum melongena L يكشف عن تحفيز لقدرة الإنبات مقارنةً الشاهد لبذور ثلاثة أنواع بنسبة 14٪ و34٪ و22٪ على التوالي. بينما لم تلاحظ أي زيادة في طول النمو أو الجذر ا بأكثر من 1.27 سم أو 3.48 سم على التوالي. أما بالنسبة لمؤشر القوة، فقد لاحظنا زيادة ملحوظة بقيم تتجاوز 449.2 و221.5 و330.5 على التوالي. خلال التعديل الأسبوعي للتربة لمدة 12 أسبوعًا باستخدام مسحوق منتجات الكيتين بنسبة 25 ملغ/لتر، 50 ملغ/لتر أو 100 ملغ/لتر، لاحظنا تحفيزًا كبيرًا للغاية للعوامل التي تم قياسها بإضافة الكيتين لـ Lycopersicon esculentum L. ومع إضافة الشيتوزان لـ Capsicum annuum L. وSolanum melongena L. وهكذا، كان إنتاج ملموس تجاوز متوسط 2.2 و5 فواكه لكل نبات. بالإضافة إلى ذلك، بلغ وزن الثمار 156.4 جم عند إضافة 100 ملغم / لتر من خليط "الكيتين-شيتوزان" بدلاً من 32.9 جم للشاهد.

من أجل تقليل حجم بوليمرات الكيتين والشيتوزان، فكرنا في استخدام أربع سلالات بكتيرية من جنس Bacillus المعزولة والتي تم تحديدها في مختبر فريق علم الأحياء الدقيقة. يتمثل اختبار (B29 وB6 وM21 وM12) في قياس نشاط تحليل الكيتين في التركيز على كمية الإنزيمات المنتجة، والتي سمحت لنا بتمييز السلالات إلى سلالات منتجة B29 وM12 (U.ml-1 55 و U.ml-142) وسلالات أقل إنتاجية، مثل سلالة M21 وغيرها B6(22 U.ml-1 وU.ml-1 31)

فيما يتعلق بالجمع بين منتوجات الكيتين والسلالات البكتيرية، فإننا نبلغ عن وجود علاقة إيجابية بين هذين العاملين. على سبيل المثال، على طول الساق، كانت السلالة M21 مسؤولة عن زيادة في هذه العامل بأكثر من 13.1 سم و53.5 سم في حالة وجود خليط "الكيتين-شيتوزان" أو الشيتوزان بنسبة 100 مع/لتر، على التوالي. وبالمثل، فإن 50 Solanum melongena L. L. ملغم / لتر مقارنة بالتحكم البكتيري في الفليفلة السنوية و ؛ تعرف تيتان -الشيتوزان التي تم تعديل M12 عدد ووزن الفواكه التي تنتجها النباتات الثلاثة الملقحة بالسلالة تربتها عند 100 ملغ / لتر على زيادة ملحوظة من 3.7 إلى 6 ثمار بالإضافة إلى زيادة في الكتلة بنسبة 42.3 جم و190 جم. بينما، في المختبر تدخل هذا المزيج في تحفيز الإنبات بنسبة 27 ٪، 28 ٪ و12 ٪. بالإضافة إلى وخليط "الكيتين-شيتوزان"، لاحظنا زيادة في مؤشر القوة بأكثر من 307.2 B29 أو B6 ذلك، مع إضافة سلالة في الأنواع الثلاثة من البذور.

الكلمات المفتاحية: الكيتين، الشيتوزان، درجات نزع النسيج، الاستخراج، تحفيز النمو، البكتيريا الداخلية، البكتيريا، Lycopersicon esculentum L. ،Capsicum annuum L. وSolanum melongena L.،