



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE « DR. TAHAR MOULAY .» SAIDA

FACULTE DES SCIENCES

Département de biologie Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation
biologique des plantes

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Spécialité : Biologie

Option : microbiologie appliqué

Thème

**Isolement des actinomycètes productrices
d'enzymes à partir des biotopes différents de
l'Algérie**

Présenté par

M elle : BELEKRED Soumia

M elle : SARIA Raounek

Soutenu le : 17 /09/2020

Soutenus publiquement devant le jury composé de :

Mr. Adli D. H.

M.C.A. Université de Saïda

Président

Mr. Bellil Y.

M. C.B. Université de Saïda

Examineur

Mr. Benreguieg M.

M.C.A. Université de Saïda

Encadreur

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier « ALLAH » qui nous a donné la force et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous aimerons exprimer toute notre reconnaissance et notre respect à Mr. Benreguieg M., non seulement pour nous avoir encadrées tout le long de ce travail avec enthousiasme et dynamisme mais aussi pour ses précieux conseils scientifiques, ses encouragements et son parfait sens de la responsabilité.

Nous tenons à exprimer notre gratitude, notre profond respect et notre remerciements aux membres de jury : Mr. Adli D. H qui nous à fait honneur par sa présence en qualité de président de jury. Mr. Bellil Y qui est accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail et consacré de leur temps pour son évaluation.

Un grand merci à la doctorante Me.Gacemi Habiba pour sa gentillesse, ses encouragements, ses conseils ainsi que l'aide qu'elle nous a apporté pendant notre travail.

Nous ne saurons oublier Mr.Aouad khelil Chef de service laboratoire d'hygiène de L'hôpital "Ahmed Medeghri de Saida" et mon amie Asmaa pour leur aide qu'elle nous a apporté pendant notre travail pratique.

Nous remercions également tous les membres du laboratoire de Saida-Faculté des sciences Mr. Benhmida, Mr.Lairedj,Mr.Othmane.

Nous ne pouvons oublier de remercier chaleureusement nos collègues de travail Bakhta, Narimene, Houda et Halima. Un remerciement spécial à notre chère collègue Meglali Amina pour ses conseils et ses consignes.

Ces remerciements ne seront pas complets sans associés toutes les personnes ayant contribués, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents, leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie.

A mon très chère frangine Hafsa et mon cher frangin Mohamed.

A mes très chères grandes mères : Cherifa et Zohra.

A mes défunts grandes pères : Djelloul et Abedlkader.

A mes chères tantes : Chahra, Khaira, Khadidja, Fatima et mon cher oncle Mohamed.

A ma défunte ma tante Karima, toi qui n'est plus de ce monde tu demeure a jamais dans mon cœur.

A toute ma famille, A tous ceux qui mon chers.

Soumia





Dédicace

Je dédie ce travail :

À mes chers parents ; En témoignage de mon profond amour et mon plus grand respect je vous remercie pour votre soutien moral et financière tout le long de mon parcours merci pour votre confiance.

A mes chers frères chikh et mohammed que j'adore.

A mes chères soeurs :hadil,ikram que j'aime trop.

Et à Toutes personnes qui me sont chères :samra, nadjet a tout ma famille.

A toutes les personnes qui ont participé dans ma formation, ainsi qu'à tous mes amis sans exception.

A mon binôme « Soumia » et a toute sa famille.

Enfin à toute la promotion « microbiologie appliquée » 2019-2020.



Raounek

Résumé

Le marché des enzymes industrielles est l'un des secteurs générant des revenus les plus rapides au monde. Seulement 20 enzymes sont actuellement utilisées au niveau industriel, ce qui indique la nécessité de poursuivre les recherches et le développement d'enzymes à faible coût et leur production. L'application d'enzymes dans diverses industries biotechnologiques indique une tendance positive qui doit être satisfaite du découvert de nouvelles enzymes. Notre travail s'est intéressé à l'isolement des nouvelles souches actinomycétales éventuellement productrices d'enzymes à intérêt technologique et médicale. Pour cela nous avons procédé à un isolement à partir des différents milieux naturels (sol salin, sol rhizosphérique, sol d'une grotte et l'eau thermale). L'isolement est réalisé sur trois milieux de culture différents (Bennet, GYM et ISP2). Un total de 154 isolats est obtenu sur les différents échantillons et sur les différents milieux de culture. Le taux le plus important des isolats (60) est obtenu dans l'échantillon de l'eau thermale de Sidi Aissa (Wilaya de Saida) sur le milieu Bennet. 20 isolats qui s'avèrent différentes sont purifiés et subit par la suite une identification morphologique macroscopique et microscopique ainsi qu'une mise en évidence de leur activité enzymatique. Nous avons procédé à la recherche des enzymes suivantes : amylase, cellulase, xynalase, pectinase, lipase, caséinase, gélatinase, nitrate réductase, catalase, kératinase. L'objectif tracé pour une deuxième partie de travail qu'on n'a pas pu réaliser malheureusement à cause du confinement, est la caractérisation des enzymes produit. A cet effet nous avons choisi 3 enzymes les plus impotentes à l'échelle industrielle. Il s'agit de l'amylase, cellulases et kératinase.

Mots clés : souches actinomycétales, activité enzymatique, amylase, cellulase, kératinase.

Abstract

The industrial enzymes market is one of the fastest growing sectors in the world. Only 20 enzymes are currently used industrially, indicating the need for further research and development of low cost enzymes and their production. The application of enzymes in various biotechnology industries indicates a positive trend which must be satisfied with the discovery of new enzymes. Our work has focused on the isolation of new actinomycetal strains that may produce enzymes of technological and medical interest. For this we proceeded to isolation from different natural environments (saline soil, rhizospheric soil, cave floor and thermal water). Isolation is performed on three different culture media (Bennet, GYM and ISP2). A total of 154 isolates are obtained on the different samples and on the different culture media. The highest rate of isolates (60) is obtained in the sample of thermal water from Sidi Aissa (Wilaya de Saida) on Bennet medium. 20 isolates which are found to be different are purified and subsequently undergo macroscopic and microscopic morphological identification as well as demonstration of their enzymatic activity. We searched for the following enzymes: amylase, cellulase, xylanase, pectinase, lipase, caseinase, gelatinase, nitrate reductase, catalase, keratinase. The objective set out for a second part of the work, which unfortunately could not be carried out due to the confinement, is the characterization of the enzymes produced. For this purpose we have chosen 3 enzymes that are the most important on an industrial scale. These are amylase, cellulases and keratinase.

Key words: actinomycetal strains, enzymatic activity, amylase, cellulase, keratinase.

ملخص

يعد سوق الإنزيمات الصناعية أحد أسرع القطاعات نموًا في العالم. يتم استخدام 20 إنزيمًا فقط في الصناعة حاليًا، مما يشير إلى الحاجة إلى مزيد من البحث والتطوير في مجال الإنزيمات منخفضة التكلفة وإنتاجها. يشير تطبيق الإنزيمات في صناعات التكنولوجيا الحيوية المختلفة إلى اتجاه إيجابي يجب أن يرضي باكتشاف إنزيمات جديدة. ركز عملنا على عزل سلالات جديدة من الاكتينومييسات التي قد تنتج إنزيمات ذات أهمية تقنية وطبية. من أجل ذلك، قمنا بالعزل من بيئات طبيعية مختلفة (التربة المالحة، تربة الجذور، أرضية الكهوف والمياه الحرارية). يتم إجراء العزل على ثلاث وسائط زرع مختلفة (ISP2 و GYM و Bennet).

تم الحصول على 154 عزلة من العينات المختلفة وعلى أوساط زرع مختلفة. تم الحصول على أعلى معدل للعزلات (60) في عينة المياه الحرارية من سيدي عيسى (ولاية سعيدة) على وسط Bennet. تم تنقية 20 عزلة مختلفة، ثم خضعت بعد ذلك لتحديد شكلها الخارجي و المجهرى بالإضافة إلى توضيح نشاطها الأنزيمي. بحثنا عن الإنزيمات التالية: الأميلاز، السيليلاز، الإكسينالاز، البكتيناز، الليباز، الكازيناز، الجيلاتيناز، النترات، الكاتلاز، الكيراتيناز. الهدف المحدد للجزء الثاني من العمل، والذي للأسف لا يمكن تنفيذه بسبب الحجر الصحي، هو توصيف الإنزيمات المنتجة. لهذا الغرض، اخترنا 3 إنزيمات هي الأكثر أهمية على المستوى الصناعي: الأميلاز، السيليلاز والكيراتيناز.

الكلمات المفتاحية: الاكتينومييسات، النشاط الأنزيمي، الأميلاز، السيليلاز، الكيراتيناز.

La liste d'abréviation

G/C : Guanine et cytosine.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

µm : Micromètre.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

°C : Degré Celsius.

ARN : Acide ribonucléique.

% : Pourcentage.

Ca⁺² : L'ion calcium.

Mg⁺² : L'ion *magnésium*.

CO₂ : Le dioxyde de carbone.

h : heure.

mm : millimètre.

kDa : kilodalton.

pI : Point isoélectrique.

NaCl : Chlorure de sodium.

K_m : La constante de Michaelis.

Mg : milligramme.

ml : millilitre.

V_{max} : vitesse maximale.

g : gramme.

S: Seconde.

G: Grossissement.

Min : minute.

nm : Nanomètre.

P/V: Poids sur volume

cm : centimètre.

rpm : rotation par minute.

DNS : acide dinitrosalicylique.

tr / min : tour par minute.

La liste des figures

Figure N°01 : L'aspect filamenteux des actinomycètes.....	4
Figure N°02 : Observation microscopique des actinomycètes après Coloration de Gram.....	4
Figure N°03 : Micromorphologie des principaux genres d'actinomycètes (hamoudi houria,2011).....	7
Figure N°04 : Apparence d'isolats d'Actinobacteria sur caséine amidon (Benzekhroufa Ahlem,2018).....	8
Figure N°05 : morphologie des différentes chaines de spores chez les streptomycètes (benouagueni,2015).....	17
Figure N°06 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec des hyphes vivants (bleus-verts) et morts (blancs) (Merizig Hanane et al.,2015).....	19
Figure N°07 : Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes (Essaid Ait Barka et al.,2016).....	19
Figure N°08 : Ulcération produisant du pus contenant des granules jaunes (Silvia Tortorici et al.,2008).....	21
Figure N°09 : Abscess dorsal fistulisé (Yasmina Rhofir,2017).....	23
Figure N°10 : Différents degrés d'atteinte de la gale commune de la pomme de terre (Rebeca Padilla Reynaud,2017).....	24
Figure N°11 : Mode d'action de divers composants de la cellulase. (M. Karmakar,2010).....	28

Figure N°12 : Mode de d'action de l'α-amylase. (Florimont, 2013 in Meziani et Mahcene, 2017).....	30
Figure N°13 : Mode d'action des pectinases — <i>Mode of action of pectinases</i>	32
Figure N°14 : Mécanisme des xylanases . (Nisha Sharma et a.l,2017).....	33
Figure 15 . Principe du dosage des sucres réducteurs par la méthode DNS.....	55
Figure 16 . Courbe de calibrage pour la détermination de la quantité de sucres réducteurs (baily, 1996)	56
Figure 17 . Aspect des colonies des souches M3, S2, S4, S5, S6, Ba2 sur les trois milieux (sauvageon, 2012).....	57
Figure 18 . observation des souches d'actinomycètes après coloration de gram.....	58

La liste des tableaux

Tableau N°01 : .Les marqueurs taxonomiques utilisés pour différencier les genres d'actinomycètes. (Essaid ait barka et al .,2016).....	11
Tableau N°02 : Les caractères d'identification présomptive des <i>Nocardia</i> et des autres genres d'actinomycètes apparentés au genre <i>Nocardia</i> (Zermane Férial,2008).....	12
Tableau N°03 : La classification hiérarchique de la classe <i>Actinobacteria</i> basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr / l'ARNr 16S (Garrity et al ., 2004).....	13
Tableau N°04 : Répartition des Actinomycètes dans la nature (Goodfellow, 1983 in Saci,2012).....	14
Tableau N°05 : Applications des cellulases dans les diverses industries (Ramesh Chander Kuhad et al.,2011).....	29
Tableau N°06 : Utilisations des amylases dans divers secteurs de l'industrie (kiroMojsov,2012).....	31
Tableau N°07 : Pourcentage de substance pectique dans différents fruits et légumes.....	33
Tableau N°08 : Caractéristiques des xylanases de différents actinomycètes (kDa-kiloDaltons) (Annie Deborah Harris et al.,2010).....	36
Tableau N°09 : Caractéristiques de la kératinase produite par les actinomycètes (K. Tamreihao et al.,2018).....	38
Tableau N°10 : Les produits à base de kératinase disponibles dans le commerce (betiVidmar et al.,2018)	39
Tableau N°11 : Quelques exemples de lipases commerciales (David Guerrand,2017).....	41
Tableau N°12 : Applications des protéases dans différentes industries.....	42
Tableau N°13 : L'isolement de souches actinomycètes à partir des échantillons de sol.....	54
Tableau 14 . Résultats de l'étude macromorphologique des souches d'actinomycètes.....	55

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
<hr/>	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralité sur les actinomycètes

1. Définition des actinomycètes	3
2. physiologie et métabolisme	4
2.1. Le pH	4
2.2. La température	4
2.3. Le rapport d'oxygène.....	5
2.4. La matière organique	5
2.5. Le taux d'humidité	6
3. Les caractères morphologiques	6
4. Taxonomie et critères de classification	8
4.1. Evolution de la taxonomie des actinomycètes	8
4.2. Les critères de classification	9
4.2.1. Critères morphologiques	9
4.2.2. Critères physiologiques	9
4.2.3. Critères moléculaires	9
4.2.4. Critères chimiotaxonomies	10
4.2.5. Colorations et caractéristiques biochimiques	11
5. La classification	12
6. Nature et habitat des actinomycètes	14
7. Le mode de reproduction : cycle biologique	15
7.1. La formation des spores	15
7.1.1. Endospores	15
7.1.2. Exospores	16

7.2. Type des spores	17
7.3. La germination des spores	18
7.3.1. Mycélium de substrat	18
7.3.2. Mycélium aérien	18
8. L'intérêt des actinomycètes dans la microbiologie appliqué	20
8.1. Dans l'environnement et l'agriculture	20
8.2. Dans la médecine et la pharmacie	20
8.3. Dans l'industrie	21
9. Les actinomycètes pathogènes.....	21
9.1. L'actinomycose.....	21
9.1.1. Définition	21
9.1.2. Diagnostic.....	22
9.1.3. Traitement	22
9.2. La nocardiose	22
9.2.1. Définition	22
9.2.2. Diagnostic.....	23
9.2.3. Traitement	23
9.3. La gale commune de la pomme de terre	24
9.3.1. Définition	24
9.3.2. Diagnostic.....	25
9.3.3. Traitement	25

Chapitre II : les enzymes d'actinomycètes

1. Généralité sur les enzymes	27
2. Les enzymes d'actinomycètes	27
2.1. Cellulase	27
2.1.1. Définition	27
2.1.2. Application dans l'industrie	28
2.2. Amylase	30
2.2.1. Définition	30
2.2.2. Application dans l'industrie	30
2.3. Pectinase	31
2.3.1. Définition	31

2.3.2. Application dans l'industrie	32
2.4. Xylanase	34
2.4.1. Définition	34
2.4.2. Application dans l'industrie	36
2.5. Kérotinase	37
2.5.1. Définition	37
2.5.2. Application dans l'industrie	38
2.6. Lipase	40
2.6.1. Définition	40
2.6.2. Application dans l'industrie	40
2.7. Protéase	41
2.7.1. Définition	41
2.7.2. Application dans l'industrie	41

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

1. Objectif de l'étude.....	43
2. Isolement des actinomycètes	44
2.1. Prélèvement des échantillons	44
2.2. Milieux d'isolement.....	44
2.3. Méthode d'isolement et Préparations des dilutions décimales.....	44
2.4. Prélèvement et sélection des colonies d'actinomycètes.....	44
2.5. Coloration de gram	45
2.6. Purification des souches et Conservation des souches.....	45
2.7. Préparation de l'inoculum.....	45
3. Mise en évidence des activités enzymatiques.....	45
3.1. La recherche de l'amylase	45
3.2. La recherche de la Caséinase	45
3.3. La recherche de la gélatinase	46
3.4. La recherche de la catalase.....	46
3.5. La recherche de la cellulase.....	46
3.6. La recherche de la kérotinase.....	46
3.7. La recherche des lipases	46

3.8. La recherche de la pectinase.....	47
3.9. La recherche de la xylanase	47
3.10. La recherche de nitrate réductase	47
4. Pré identification des souches actives	48
4.1. L'aspect macroscopique	48
4.2. L'aspect microscopique	48
4.3. La mise en évidence des pigments <i>mélanoïdes</i> produits par les souches actives	48
4.4. Détermination de l'acido-alcool-résistance.....	49
4.4.1. Coloration de Ziehl-Neelsen.....	49
4.4.2. Coloration de Ziel-Neelsen modifiée	49
4.5. Caractéristiques biochimiques	50
4.5.1. Utilisation de citrate	50
4.5.2. Production de sulfure d'hydrogène	50
4.5.3. La recherche de l'uréase	50
4.5.4. La recherche de la production d'indole	50
4.6. Caractères physiologiques.....	51
4.6.1. Détermination de la température optimale de croissance	51
4.6.2. Détermination du pH optimum de croissance	51
4.6.3. Tolérance à différents concentration de Nacl.....	51
4.6.4. Détermination de la mobilité	51
5. Production, récupération et caractérisation des enzymes.....	51
5.1. l'amylase	51
5.1.1. La production de l'amylase	51
5.1.2. Caractérisation de l'amylase.....	52
5.2. La cellulase	52
5.2.1. La production de cellulase	52
5.2.2. Caractérisation de cellulase	53
5.3. La Kérotinase	53
5.3.1. La production de kérotinase	53
5.3.2. Caractérisation de kérotinase	53
5.4. Principe de la méthode DNS	54

Résultat et discussion

1. Isolement d'actinomycète	53
2. Caractérisation des actinomycètes.....	53
2.1. Etude morphologique.....	53
2.2. Coloration de Gram	56
3. Les résultats d'activité enzymatique des isolats d'actinomycètes.....	57
3.1. Activité amylolytique	57
3.2. Activité protéolytique	57
3.3. La dégradation de gélatine.....	58
3.4. Activité de la catalase.....	58
3.5. Activité cellulolytique.....	58
3.6. Activité kératinolytique	59
3.7. La recherche de lipase	59
3.8. Activité pectinolytique.....	59
3.9. Acticité xynalolytique	59
3.10. Teste de nitrate réductase.....	60
4. Caractérisation des enzymes	64
4.1. Amylase	64
4.2. Cellulase	64
4.3. kératinase	64
Conclusion et perspective.....	66
Référence bibliographique	68
Annexe.....	82



Introduction

Les enzymes produites par les micro-organismes sont des biocatalyseurs potentiels des réactions biochimiques. Généralement, les enzymes dérivées d'une source microbienne sont considérées comme des biocatalyseurs robustes, à haute spécificité et rendement économique important. Aujourd'hui, la recherche est beaucoup plus focalisée pour obtenir de nouvelles enzymes et améliorer les caractéristiques fonctionnelles à une large gamme de température, de pH, de salinité ou d'autres conditions extrêmes, par l'ingénierie des gènes et des protéines (**Mukhtar et al., 2017**).

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à Gram positif, à haute teneur en guanine et en cytosine dans leur ADN. Ils sont largement distribués dans les écosystèmes terrestres et aquatiques, principalement dans le sol, où elles jouent un rôle essentiel dans le recyclage des biomatériaux. Ils sont également importants dans la biodégradation du sol et la formation d'humus et ils jouent un rôle dans la décomposition des matières organiques telles que la cellulose et la chitine. Les *Streptomyces* peuvent jouer un rôle important dans le développement et la santé des plantes, car ils affectent la croissance des plantes en raison de leur assimilation des nutriments et de la production de métabolites secondaires. (**Fialho, 2010 ; Sharma et al., 2014 ; Anandan et al., 2016**).

Une attention particulière est attribuée à ce groupe bactérien dans les applications biotechnologiques qui est un résultat cohérent de leur grande diversité métabolique: ils sont la source la plus importante des antibiotiques et une source promotrice d'une large gamme d'enzymes, des inhibiteurs d'enzymes, des immuno-modulateurs et de vitamines. (**Kumar et al., 2012; Silva et al., 2013**).

Une grande variété d'enzymes biologiquement actives sont produites par les actinomycètes, qui peuvent être utilisées dans des diverses applications biotechnologiques. Les enzymes produites par les actinomycètes sont : cellulases, Protéases, amylases, lipases, xylanases, chitinases, Keratinase, Pectinase. Les actinomycètes identifiés à partir des environnements extrêmes sont connus pour être des producteurs de nouvelles enzymes à fort potentiel industriel. Cet avis tente de résumer les applications des enzymes des actinomycètes dans différentes industries telles que l'industrie alimentaire, l'industrie des détergentes, les industries des domaines pharmaceutiques, l'industrie du papier, l'industrie textile, et l'agriculture. (**Anandan et al., 2016 ; Mukhtar et al., 2017**).

L'objectif de notre travail consiste en à l'isolement à partir des différents écosystèmes des actinomycètes éventuellement productrice des enzymes à intérêt technologique et sanitaire.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both with rounded ends and a slight shadow effect.

Partie bibliographie



Chapitre I : Généralité sur les actinomycètes

1. Définition des actinomycètes :

Le terme actinomycète a été historiquement introduit pour définir des bactéries filamenteuses et ramifiées, qui dans la classification actuelle des Actinobacteria appartiennent à l'ordre des actinomycétales (**belyagoubi,2014**), une subdivision majeure des procaryotes. Ils ont longtemps été considérés comme des champignons, comme en témoigne leur nom: aktino (gr) = ray, mykes (gr) = champignon (**suneetha et al., 2011**).

Les Actinomycètes sont des bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies circulaires, constituées de filament qui irradient par croissance et centrifuge tout autour du germe qui leur adonné naissance. (**habbeche,2014**).

Les actinomycètes sont des bactéries aérobies ubiquitaires à Gram-positif, catalase positive (**harir,2017; pariya,2009**), ayant la capacité de formée des spores asexuées (conidiospores ou sporangiospores) et des hyphes ramifiés, habituellement non fragmentés (**haberre,2014**). Se sont des bactéries qui ont une teneur élevée en G+ C dans leur ADN. Ils vont de cocci simples aux diverses formes mycéliennes complexes trouvées dans certains des Actinomycétales ordre. Cette diversité morphologique est illustrée de façon spectaculaire dans atlas of Actinomycetes (**Keith,2013**).La plupart des actinomycètes sont immobiles. Toutefois, certains types produisent des spores flagellées, permettant leur dispersion dans les habitats aquatiques. (**djaballah,2010**)

Les actinomycètes sont des bactéries chimioorganohétérotrophes filamenteux avec des ramifications comme des champignons, mais sans noyau distinct. Les actinomycètes dans leurs composition de la paroi cellulaire ne contiennent pas de la chitine ni la cellulose communément trouvés chez les champignons (**rangaswami,2005**). Les filaments ont une largeur inférieure à 1,0 μm , normalement de 0,7 à 0,8 μm avec une chimie de la paroi cellulaire similaire à celle des bactéries. Les actinomycètes sont des microorganismes unicellulaires qui se reproduisent par fission binaire. Ils semblent former des spores, mais pas dans le même sens que les bactéries ou les champignons. Les spores d'actinomycètes apparaissent d'avantage comme une fragmentation cellulaire sans aucun revêtement protecteur dur. L'importance économique des actinomycètes a entraîné leur étude détaillée et leur séparation des autres bactéries. (**ross,2004**).



Figure 1. L'aspect filamenteux des actinomycètes. (habbeche,2014).

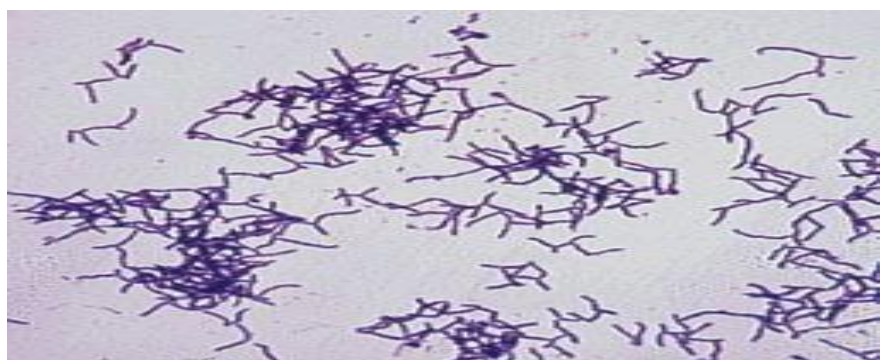


Figure2. Observation microscopique des actinomycètes après Coloration de Gram. (harir,2017)

2. physiologie et métabolisme:

2.1. Le pH:

La plupart des actinomycètes du sol sont neutrophiles et croissent dans un intervalle de pH compris entre 6.5 et 8 (bagyarag et rangswami, 2007), une croissance optimale à pH neutre ou légèrement alcalin.

Des travaux ont montré l'existence d'une large diversité d'actinomycètes acidophiles qui diffèrent morphologiquement des espèces neutrophiles (Basilio,2003). Les souches acidophiles croissent à des valeurs de pH comprises entre 3.5 et 6.5 avec un pH optimal de croissance compris entre 4.5 et 5.5 tel que : *Streptacidiphillus jiangxiensis* (Huang et al., 2004) et *Streptacidiphilus orzae* (Wang et al., 2006).

2.2. La température:

Les actinomycètes sont des microorganismes mésophiles, cependant il existe des espèces thermophiles, principalement dans le genre *thermoactinomyces* (holt,1994;ouargli,2018) ,la température entre 25°C et 30°C est optimale pour le

développement des actinomycètes, des espèces thermophiles à croissance optimale à 55°C et 65°C sont communs dans les compostes beaucoup plus du genre *thermoactinomyces* et *streptomyces* (**bagyarag et rangswami, 2007**).

2.3. Le rapport d'oxygène:

Les besoin des actinomycètes en oxygène diffèrent, certains genres sont fermentatifs, peuvent cloîtrent sous faibles concentrations d'oxygène, d'autres sont oxydatifs nécessitent des niveaux de transfert d'oxygène très élevés. (**bozzano, 1988**), le métabolisme aérobie donne plus d'énergie et plus de masse cellulaire que le métabolisme anaérobie (**ross,2004**).

Les actinomycètes anaérobies incluent les bactéries anaérobies et anaérobies facultatifs du genre *actinomyces*. Les actinomycètes aérobies sont divisés en deux groupes selon la présence ou l'absence de l'acide mycolique dans la paroi cellulaire :

a) actinomycètes avec l'acide mycolique: ce group inclue les membres des trois familles *corynebacteriaceae*, *mycobacteriaceae*, et *nocardiaceae*.

b) actinomycètes sans l'acide mycolique: ce group inclue plusieurs pathogénies opportunistes comme *actinomadura*, *nocardiopsis*, *dermatophilus*. (**parija,2009**).

2.4. La matière organique:

En général, les actinomycètes sont des hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimio-autotrophique, certaines ont des exigences nutritionnelles telles que les vitamines et certains acides aminés. Ils colonisent fréquemment les substrats insolubles, et peuvent dégrader les protéines, la cellulose et d'autres matières organiques et les résidus des plantes dans le sol. (**hamoudi,2011**).

Le nombre des actinomycètes augmente avec la présence de matière organique (**suneetha et al., 2011**), les actinomycètes métabolisent les matières organiques les plus naturellement présentes. Comme ils nécessitent moins d'azote que la plupart des bactéries pour la croissance cellulaire, les actinomycètes ont tendance à métaboliser les formes de matière organique les plus résistantes. Une fois que les bactéries et les champignons normaux métabolisent les composants facilement biodégradables du matériel végétal mort, les actinomycètes peuvent continuer à métaboliser les matières organiques résiduelles. Les actinomycètes peuvent croître sur les glucides, les protéines, les lipides et les aromatiques. (**ross,2004**).

2.5. Le taux d'humidité:

Les Actinomycètes présentent dans des sols, supportent des taux faibles jusqu'à modérés d'humidité, la phase de germination des spores, déterminée par des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0.67, également l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des Actinomycètes est égale à 0,98 (Zvyagintsev et al., 2005 ; Oskay et al., 2004).

3. Les caractères morphologiques:

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier : se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium). Le second : comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (Lechevalier, 1985). Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- Des colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
- Des colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
- Des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons. (aouar,2006).

Les actinomycètes présentent une grande diversité morphologique; ils vont des organismes coccoïdes à d'autres avec des cycles de bâtonnets de coccus, de bâtonnets non ramifiés, de formes hyphales légèrement ramifiées et fragmentées, et de mycéliums ramifiés permanents et très différenciés avec des hyphes aériens portant des spores. (bacterial seystematics). L'apparence morphologique des actinobactéries est compacte, souvent coriace, donnant un aspect conique avec une surface sèche sur les milieux de culture et souvent couverte par le mycélium aérien. (harir,2018).

Ils sont caractérisés par une croissance plus lente que celles des bactéries, variable allant de quelques jours à quelques semaines, une croissance relative aux espèces et aux conditions de culture.

Sur des milieux solides, les Actinomycètes forment, en une semaine environ, des colonies caractéristiques telles, blanc, gris, et le beige, une pigmentation diffusible dans la gélose appelés pigmentation mélanoides peut également être observée.

En milieu liquide, le développement s'effectue uniquement sous sa forme primaire, la production de pigment reste la même pour un milieu donné, et la différenciation physiologique y est mieux exprimée (production d'antibiotiques notamment) (benouagueni,2015).

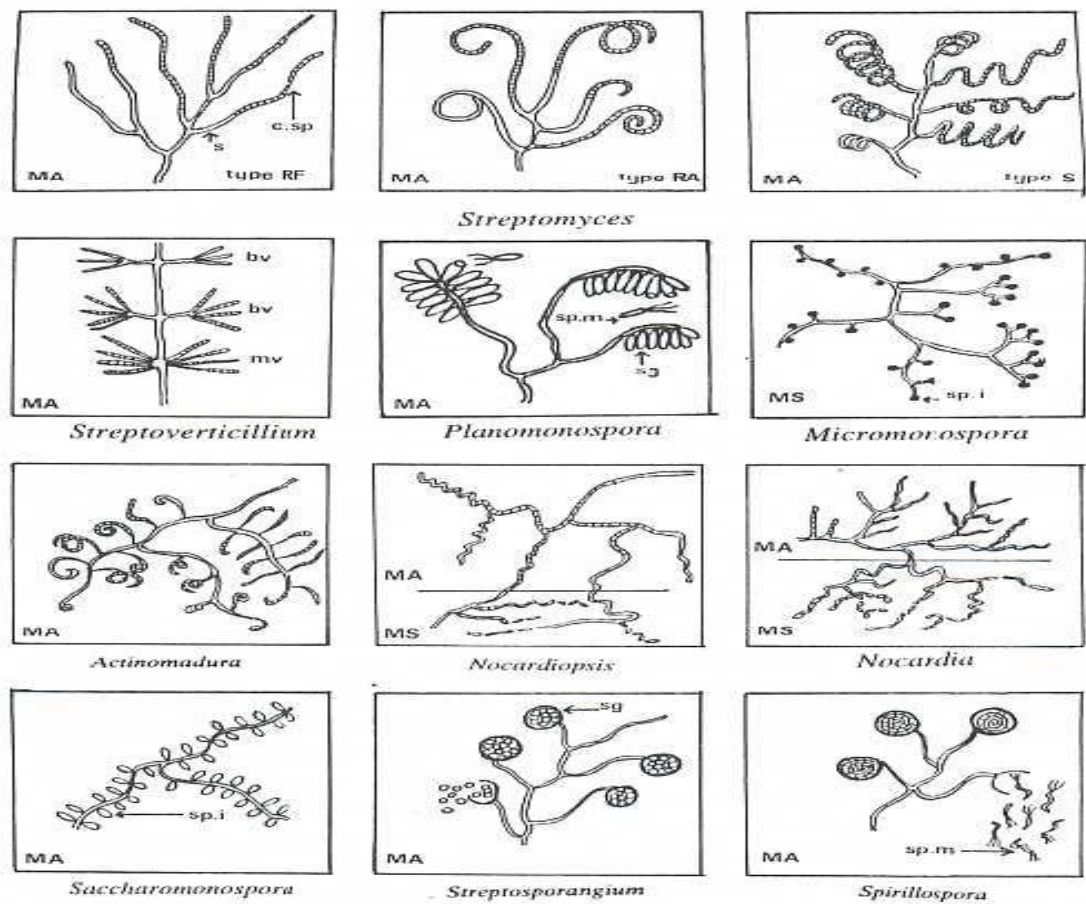


Figure3. Micromorphologie des principaux genres d'actinomycètes (hamoudi houria,2011).

MA, mycélium aérien; MS, mycélium du substrat; RF, *Rectus Flexibilis* (chaînes de spores droites à flexueuses); RA, *Retinaculum Apertum* (chaînes en crochets ou en boucles fermées); S, *Spira* (chaînes spiralées); s, sporophore; c. sp.; chaînes de spores; sp. i.; spores isolées; sp. m.; spores mobiles; sg., sporanges.

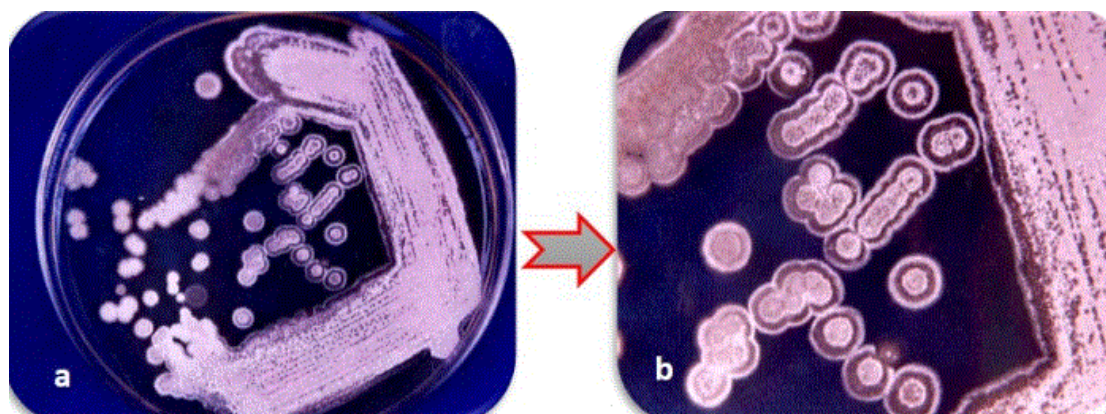


Figure 4. Apparence d'isolats d'Actinobacteria sur caséine amidon (**Benzekhroufa Ahlem,2018**).

A : Vue en plan des isolats actinobactériens. B : Morphologie des colonies individuelles.

4. Taxonomie et critères de classification :

4.1. Evolution de la taxonomie des actinomycètes :

Au cours des années, la taxonomie des actinomycètes a connu plusieurs remaniements Pour répondre à l'évolution progressive des critères de classification. Au cours de cette évolution, la systématique des actinomycètes a été caractérisée par quatre périodes distinctes :

Durant la première période, seuls les critères macro et micro morphologiques permettaient de différencier les genres entre eux.

La seconde période, qui a débuté à partir des années 60, a vu le développement de L'utilisation de la chimiotaxonomie. basée sur la composition (les acides aminés, les sucres cellulaires, les acides mycoliques, les acides gras...) .Le métabolisme cellulaire était négligé durant cette période et seulement environ une dizaine de tests physiologiques étaient impliqués dans la différenciation des espèces.

La troisième période, qui a débuté dans les années 70, avec une apogée entre 1980 et 1990, est caractérisée par l'avènement de la taxonomie numérique assistée par ordinateur, dans le but de clarifier l'identification des espèces de chaque genre. Contrairement à la période précédente, ici, le métabolisme cellulaire est d'une grande importance.

La dernière période, qui a débuté durant les années 80, consiste à l'application des méthodes d'analyses génétiques et moléculaires. L'hybridation ADN-ADN, le

séquençage de l'ARN ribosomique 16S et 23S et la détermination du coefficient de Chargaff ont permis de tracer toute la phylogénie des actinomycètes. Grâce au séquençage de l'ARN ribosomique 16S, certains genres bactériens non mycéliens furent inclus dans l'ordre des *Actinomycetales*, tandis que d'autres en furent exclus. **(Hamoudi houria, 2011).**

4.2. Les critères de classification :

La taxonomie des actinomycètes est basée sur plusieurs critères : morphologiques, chimiques, physiologiques et moléculaires.

4.2.1. Critères morphologiques

La production d'un mycélium aérien (MA) ou non (ex *Actinoplanes*, et *Micromonospora Rhodococcus*), La présence ou non de mycélium du substrat (MS) et la couleur du MA et du MS, La production et la couleur de pigments diffusibles dans le milieu de culture, La fragmentation ou non des mycéliums, La présence des spores (forme, mobilité, surface, disposition sur les hyphes, nombre) origine exogène ou endogène des spores (sporanges, des porophores, des sclérotés ou de synnemata). **(Hamoudi houria,2011).**

4.2.2. Critères physiologiques :

Tolérance au chlorure de sodium, croissance en différentes valeurs de Température et de pH, recherche des enzymes et différents métabolites intermédiaires et Terminaux. **(Cheriet meriem,2016).**

4.2.3. Critères moléculaires

Plus récemment, la classification morphologique et chimique des actinomycètes ont été contestés par la taxonomie moléculaire donnée, dont une grande partie a été obtenue grâce à l'évolution rapide du séquençage du génome. Notamment, certains organismes qui étaient placés de façon inappropriée dans certains groupes taxonomiques ont récemment reclassé sur la base d'analyses moléculaires.

Les principales techniques utilisées sont : le séquençage de l'ADN ribosomique 16S, l'hybridation ADN-ADN, et le pourcentage en guanine+cytosine. **(Essaid ait barka et al .,2016).**

4.2.4. Critères chimiotaaxonomies

La chimiotaaxonomie est un système de classification et d'identification basé sur des caractères chimique qui sont efficaces pour délimiter des groupes et des genres. Les principaux caractères utilisés dans la chimiotaaxonomie sont : l'examen des acides aminés de la paroi cellulaire, des glucides, des lipides, et des acides nucléiques. **(kitouni mahmoud,2007).**

L'analyse de la composition de la paroi cellulaire des Actinobactéries est taxonomiquement précieuse car il diffère entre les sous-ordres. Les informations sur la structure chimique du peptidoglycane dans la paroi cellulaire est utile pour classer les actinomycètes car il facilite la discrimination entre les groupes d'actinobactéries.

L'acide diaminopimélique (DAP) est chimiotaaxonomiquement important, il caractérisé les parois cellulaires des bactéries Gram-positives: le peptidoglycane des actinobactéries peut contenir des LL- ou DL-(mésos) -DAP, selon le genre.

Enfin, l'analyse de la composition du sucre est également importante en chimiotaaxonomie. Les sucres neutres (les principaux constituants des enveloppes de cellules d'actinomycètes) sont utiles, ils sont considérés comme des marqueurs taxonomiques (tableau 1).

Tableau1. Les marqueurs taxonomiques utilisés pour différencier les genres d'actinomycètes. (Essaid ait barka et al .,2016).

Acide aminé présent	Sucre (s)	Genres
Pas DAP	Xylose, madurose	<i>Oerskovia</i>
		<i>Promicromonospora</i> <i>Actinoplanes</i> <i>Actinomadura</i>
L-DAP	Xylose, madurose	<i>Nocardioides</i> <i>Streptomyces, Kitasatospora</i> <i>Streptoverticillium</i> <i>Kineosporia</i>
		<i>Micromonospora</i> <i>Actinoplanes</i> <i>Ampullariella</i> <i>Pilimelia</i> <i>Frankia</i>
méso-DAP	Xylose, arabinose	<i>Micromonospora</i> <i>Actinoplanes</i> <i>Ampullariella</i> <i>Pilimelia</i> <i>Frankia</i>
		<i>Microbispora</i> <i>Microtetraspora</i> <i>Planobispora</i> <i>Planomonospora</i> <i>Spirillospora</i>
	Madurose	<i>Microbispora</i> <i>Microtetraspora</i> <i>Planobispora</i> <i>Planomonospora</i> <i>Spirillospora</i>
	Fructose	<i>Frankia</i> <i>Actinoplanes</i>
	Rhamnose, galactose	<i>Saccharothrix</i>
	Rhamnose, galactose, mannose	<i>Streptoalloteichus</i>
	Galactose	<i>Kitasatospora</i>
	Arabinose, galactose	<i>Nocardia</i> <i>Actinobispora</i>

DAP : acide diaminopimélique

4.2.5. Colorations et caractéristiques biochimiques

Certains groupes d'actinomycètes ont une paroi cellulaire très riche en lipides et en cires de 60 à 90 carbones appelées acides mycoliques. Ces acides sont des acides gras complexes et leur présence ainsi que celle d'autres lipides à l'extérieur du peptidoglycane rendent les bactéries positives à la coloration de Ziehl Neelsen (acido-alcoolrésistance). L'acido-alcool-résistance est caractéristique du genre

Mycobacterium. L'acido-alcoolrésistance des *Nocardia* est partielle avec la technique modifiée de Kinyoun ou de Ziehl Neelsen.

A coté de ces colorations, il ya des plusieurs tests ont été proposés pour distinguer les *Nocardia* des *Rhodococcus*, *Tsukumurella* et *Gordonia*, tels que l'analyse de la sensibilité au lysosyme, la recherche d'une activité B-galactosidase (enzyme permettant l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose) et d'une nitrate réductase (enzyme qui catalyse la réaction de réduction des nitrates).

Tableau 2. Les caractères d'identification présomptive des *Nocardia* et des autres genres d'actinomycètes apparentés au genre *Nocardia*. (Zermane Férial,2008).

	<i>Nocardia</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Mycobacterium</i>	<i>Gordonia</i>	<i>Tsukumurella</i>
Mycélium aérien	+*	–	–	–	–
ONPG	+	–	–	–	+
Nitrate réductase	+	V	+	+	–
Résistance au lysozyme	R	S	V	S	R

*: *N. seriolae* et *N. crassostreae* ne forment pas de mycéliums aériens ;

S : Sensible ; **R** : Résistant ; **V** : Variable ; **+** : Présence de l'enzyme ; **_** : Absence de l'enzyme ; ONPG : Ortho-Nitrophényl-Béta-galactosidase.

5. La classification :

Actuellement, le phylum Actinobacteria tel qu'il figure dans le Bergey's manual (2012) renferme cinq classes : Acidimicrobiia, Coriobacteriia , Nitrospirae , Rubrobacteria et Thermoleophilia qui sont subdivisées en 19 ordres, 50 familles et 221 genres.(Cheriet meriem et al., 2016) . Les genres d'actinomycètes sont : *Nocardia*, *Actinomadura*. D'autres genres sont aussi rencontrés qui sont: *Streptomyces*, *Nocardiopsis*, *Dermatophilus*, *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Amycolata*, *Oerskovia*, *Rhotia*, *Tsukumurella*, *Corynebacterium*, *Cellulomonas*, *Dietzia* et d'autres genres d'actinomycètes aérobies, thermophiles ou non cultivables.

Les actinomycètes rares comprennent les genres d'actinomycètes filamenteux, contrairement au genre *Streptomyces*, résulte du fait qu'ils sont difficilement isolés,

cultivés, maintenus et manipulés : *Nonomuria*, *Kribbella*, *Micromonospora*, *Saccharothrix*.(**Zerizer,2014**).

Tableau 3.La classification hiérarchique de la classe *Actinobacteria* basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr / l'ARNr 16S (**Garrity et al ., 2004**).

Phylum <i>Actinobacteria</i>					
Classe <i>Actinobacteria</i>					

S/C	<i>Acidimicrobidae</i>	<i>Rubrobacteridae</i>	<i>Coriobacteridae</i>	<i>Sphaerobacteridae</i>	<i>Actinobacteridae</i>
-----	------------------------	------------------------	------------------------	--------------------------	-------------------------

S/C	<i>Actinobacteridae</i>				
Ordres	<i>Bifidobacteriales</i>		<i>Actinomycetales</i>		

Ordre <i>Actinomycetales</i>				
------------------------------	--	--	--	--

S/O <i>Actinomycineae</i>	S/O <i>Micrococcineae</i>	S/O <i>Corynebacterineae</i>	S/O <i>Micrimonosporineae</i>	S/O <i>Propionibacterineae</i>
Famille <i>Actinomycetaceae</i>	Familles <i>Micrococcaceae</i> <i>Bogoriellaceae</i> <i>Rarobacteraceae</i> <i>Sanguibacteraceae</i> <i>Brevibacteriaceae</i> <i>Cellulomonadaceae</i> <i>Dermabacteraceae</i> <i>Dermatophilaceae</i> <i>Dermacoccaceae</i> <i>Intrasporangiaceae</i> <i>Jonesiaceae</i> <i>Microbacteriaceae</i> <i>Beutenbergiaceae</i> <i>Promicromonosporaceae</i>	Familles <i>Corynebacteriaceae</i> <i>Dietziaceae</i> <i>Gordoniaceae</i> <i>Mycobacteriaceae</i> <i>Nocardiaceae</i> <i>Tsukamurellaceae</i> <i>Williamsiaceae</i>	Famille <i>Micromonosporineae</i>	Familles <i>Nocardiodaceae</i> <i>Propionibacteriaceae</i>
S/O <i>Pseudonocardinea</i>	S/O <i>Streptomycineae</i>	S/O <i>Streptosporangineae</i>	S/O <i>Frankinea</i>	S/O <i>Glicomycineae</i>
Familles <i>Pseudonocardiaceae</i> <i>Actinozynnemataceae</i>	Famille <i>Streptomycetaceae</i>	Familles <i>Streptosporangiaceae</i> <i>Nocardiopsaceae</i> <i>Thermomonosporaceae</i>	Familles <i>Frankiaceae</i> <i>Microsphaeraceae</i> <i>Sporichthyaceae</i> <i>Acidothermaceae</i> <i>Kineosoriaceae</i> <i>Geodermatophilaceae</i>	Famille <i>Glycomycetaceae</i>

S/C : sous-classe, S/O : sous-ordre.

6. Nature et habitat des actinomycètes :

Les actinomycètes sont les organismes les plus abondants qui forment des filaments filiformes dans le sol. Ils poussent comme des hyphes comme des champignons responsables de l'odeur caractéristique «terreuse» d'un sol sain fraîchement transformé. Les actinomycètes existent dans diverses habitudes de la nature et représentent un groupe omniprésent de microbes largement répartis dans les écosystèmes naturels du monde entier (H.J.M. Pasindu Chamikara,2016). Ils particulièrement abondante dans le sol, ainsi qu'en eau douce et dans d'autres environnements marins (Mabrouka Benhadj et al.,2019) . Leur présence dans des environnements extrêmes spécialement dans la région cryophile, par exemple des sols prélevés en Antarctique et même des sols désertiques, a été signalée. Il a été démontré dans une étude comparative que la population d'actinomycètes est la plus importante dans les sols de la couche superficielle et diminue progressivement avec l'augmentation de la profondeur; des souches individuelles d'actinomycètes sont présentes dans toutes les couches de sol. (H.J.M. Pasindu Chamikara,2016).

Tableau 4.Répartition des Actinomycètes dans la nature. (Goodfellow, 1983 in Saci,2012).

Genre	Habitat
<i>Actinomadura</i>	Sol.
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau, litière.
<i>Frankia</i>	Nodule des racines.
<i>Microbispora</i>	Sol.
<i>Micromonospora</i>	Sol, eau.
<i>Nocardia</i>	Sol, eau.
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier, litière.
<i>Sacharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière.
<i>Streptosporangium</i>	Sol.
<i>Thermoospora</i>	Matière en décomposition et fermentation.

7. Le mode de reproduction : cycle biologique

7.1. La formation des spores:

Les différents groupes d'Actinomycètes peuvent sporuler, ces derniers peuvent être classés en deux groupes principaux selon leur mode de formation : exospores et endospores, ces spores permettent la propagation de l'espèce et la survie dans des conditions défavorables (**Kitouni , 2007 ;Loucif , 2010**) comme pour la formation des spores chez d'autres bactéries, la sporulation des actinobactéries répond habituellement à une privation en éléments nutritifs et à des signaux chimiques entre les micro-organismes. En générale, ces spores ne sont pas particulièrement résistantes à la chaleur, mai elles supportent bien la dessiccation et sont, de se fait, bien adaptées pour l'environnement (**prescott,2018**).

La sporulation est contrôlée par des facteurs extérieurs aux microorganismes et par des facteurs propres à ceux-ci. Parmi les éléments extérieurs favorisant la sporulation, nous retiendrons principalement : la dessiccation, une concentration élevée en gélose, le glycérol comme source de carbone, l'urée comme source d'azote, l'addition de carbonate de calcium et d'extrait de sol, la présence de magnésium, de fer et de manganèse, et un pH légèrement alcalin voisin de 7,5 (**Zermane,2008 ; belyagoubi ,2014**).

7.1.1. Endospores:

La fragmentation des hyphes d'actinomycètes conduisent à la formation des spores résistantes à la dessiccation, d'un type général distinct des endospores formé à l'intérieur des «cellules mères» de *Bacillus spp.* et autre bactéries firmicute : elles se forment directement par division cellulaire des compartiments hyphal multi-génomiques, suivi par changements dans la paroi cellulaire pour permettre l'arrondi et l'épaississement de la paroi des spores et l'acquisition de propriétés de résistance (**Keith,2013**).

Les endospores naissent d'une réorganisation du cytoplasme avec formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe. Elles sont caractéristiques du genre *Thermoactinomyces*. Dans ce groupe, une subdivision supplémentaire est réalisée en fonction du mode de formation de la nouvelle paroi (**Locci et Sharples, 1984**). On parle ainsi de «sporulation entérothallique», caractéristique des genres *Planomonospora* et *Dactylosporangium*, lorsque la nouvelle paroi se forme entre la membrane cytoplasmique et la paroi de l'hyphe parentérale et de «sporulation holothallique»,

caractéristique du genre *Thermoactinomyces*, lorsque la nouvelle paroi qui délimite la spore provient, au moins en partie, de toutes les couches pariétales de l'hyphe parentérale, recouverte ou non d'une enveloppe (**Kitouni,2007**).

Tout comme les endospores bactériennes du genre *bacillus*, les spores des *thermoactinomyces* contiennent de l'acide dipicolinique à une concentration de 6.5 à 7% (poids/poids), ce qui est inférieure à la concentration retrouvée dans les spores de *bacillus*. cet acide, probablement situé dans la partie centrale de la spore; est un composé unique qui est retrouvé exclusivement chez les cellules non végétatives et il pourrait jouer un rôle dans la résistance des spores à la chaleur. De grande quantités d'ions calcium et magnésium sont également associées à la présence de cet acide dans la spore. les endospores des thermo-actinomycètes peuvent rester dans le sol pendant de nombreuse décennies (**sykes et skiner, 1973**).

7.1.2. Exospores:

Avec le temps, les hyphes aériens forment des chaînes de spores par septation. Les spores séparées sont libérées dans l'environnement lorsque le septum termine la constriction. elles sont considérées comme des exospores, parce qu'elle ne se développent pas dans une cellule mère (**prescott,2018**). Ces «exospores» apparaissent dans ou sur une variété considérable de structures morphologiques spécialisées, y compris de courtes branches latérales des hyphes, de grands sporanges et des hyphes aériens spécialisés qui se transforment en longues chaînes de spores. Dans certains genres, mais pas chez *Streptomyces*, les spores peuvent être mobiles. (**keith,2013**) si les spores sont localisées dans un sporange, on peut parler de sporangiospores. ces spores peuvent avoir des formes très variables (**prescott,2018**).

Une subdivision supplémentaire est également réalisée selon la présence ou l'absence d'une enveloppe qui recouvre la paroi de l'hyphe sporogène (**Kitouni,2007**). Ainsi, la formation d'exo-spores par fragmentation d'hyphes avec enveloppe est la plus fréquente et se retrouve notamment chez *Actinoplanes* et *Streptomyces*. La formation d'exo-spores par fragmentation d'hyphes du substrat sans enveloppe se rencontre avec *Micromonospora*.

Les exospores dont la dormance est de type exogène, sensible au milieu, germent après activation par un choc thermique qui peut être par exemple de 50 °C chez *S. viridochromogenes*, suivie d'une initiation en présence de L-alanine, d'adénosine, d'acide glutamique, d'acide paraaminobenzoïque, d'ions Ca^{+2} , Mg^{+2} et de CO_2 .

L'oxydation des réserves de tréhalose fournit l'énergie nécessaire. Les endospores de *Thermoactinomyces* ne germent dans des conditions de milieu favorable qu'avec une activation spécifique de nature physique. Un refroidissement à 20 °C de 2 à 48 h est nécessaire pour permettre aux spores de *Thermoactinomyces vulgaris* de répondre ensuite au choc thermique de 55 °C inducteur de la germination (**Leveau et Buix, 1993**).

7.2. Type des spores:

Les actinomycètes sont particuliers par la formation de différents types de spores, leurs différenciations rentrent dans leurs critères de classification, pour les *streptomycètes* filamenteuses, les spores sont disposées sur le mycélium aérien, les chaînes de spores peuvent être droites, flexueuses ou en spirales, elles sont résumées dans la figure. Leurs dispositions peuvent être en spores libres, ou attachées les unes aux autres pour atteindre jusqu'à 50 spores sur un seul hyphes ou dans les sacs appelés sporanges, cette formation peut résulter d'une segmentation ou désarticulation des hyphes (**hopwood,2007**).

La surface des spores peut être lisse, verruqueuse (se réfère aux verrues), épineuse, rugueuse, ou bien poilue, la plupart de ces spores sont ovoïdes sphériques et non mobiles, mais il existe également d'autres types de spores comme les formes flagellées mobiles présente chez les *actinoplanes* (**benouagueni,2015**).

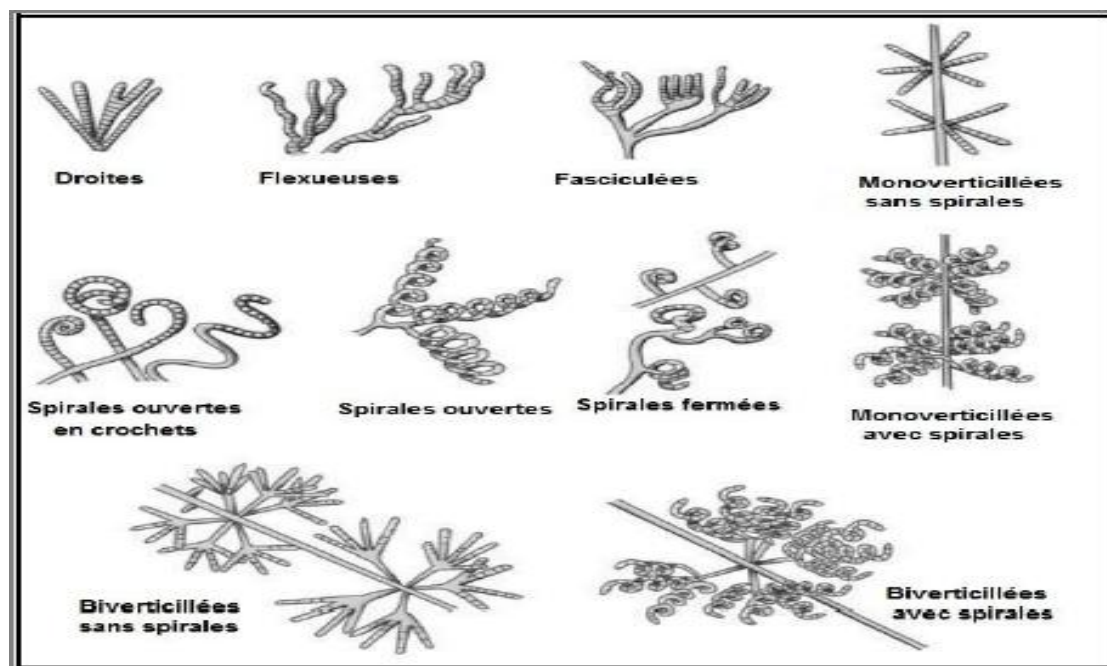


Figure5. morphologie des différentes chaînes de spores chez les streptomycètes (benouagueni,2015).

7.3. La germination des spores:

Apparemment les spores ont une très faible activité métabolique, mais quand placées dans un environnement favorable, elles germent pour donner des tubes germinatifs et recommencent à croître végétativement à une masse mycéliale dans le substrat (bozzano,1988).

La germination de spores est une séquence de changements morphologiques en structure végétative et comprend quatre étapes : l'activation, l'initiation, l'émergence du tube germinatif et sa croissance, pour lesquelles le degré hygrométrique joue un rôle important. Parfois, l'activation peut être déclenchée par un choc thermique, par exemple un traitement de 5 minutes à 50°C pour les spores de *Streptomyces viridochromogenes*. Puis le tube de germination croît et donne des hyphes qui se ramifient de manière apicale, l'ensemble de la colonie se développe de manière radiale. Le mycélium primaire est ancré dans le support solide dans lequel il puise ses nutriments. C'est cette morphologie qui lui permet l'utilisation des substances solides dans les sols, ce qui permet aux *Streptomyces* la colonisation des substrats solides en comparaison avec les microorganismes unicellulaires et immobiles (Miguel et al., 2000).

7.3.1. Mycélium de substrat:

Le mycélium du substrat est aérobie facultatif (**Silvey et Roach, 1975**), de nombreuses actinobacéries produisent des filaments, appelés hyphes, au lieu des petits bâtonnets ou coques plus familiers. Des septums divisent habituellement les hyphes en longues cellules (20 μm et plus) contenant chacune plusieurs nucléoïdes. Lorsqu'elles croissent sur un substrat solide comme le sol ou la gélose, les actinobacéries développent un réseau d'hyphes ramifiés. Ceux-ci poussent à la fois à la surface et à l'intérieur du substrat pour former un tapis dense d'hyphes qu'on appelle mycélium végétatif (ou de substrat). (**prescott,2018**).

7.3.2. Mycélium aérien:

Le mycélium aérien, est aérobie strict (**silvey et roach ,1975**), le mycélium aérien couvre les colonies de surface en leur donnant un aspect poudreux, compact, poilu ou en chou-fleur. La production de mycélium aérien est influencée par plusieurs facteurs, notamment: la composition du milieu de croissance, la température d'incubation et la présence de composés stimulant spécifiquement le mycélium aérien (**Pine, 1970**). Ces hyphes aériens sont plus épaisses et beaucoup moins ramifiées que les hyphes du substrat elles sont en général pigmentées et enfermées dans une enveloppe externe hydrophobe. (**djaballah, 2010**).

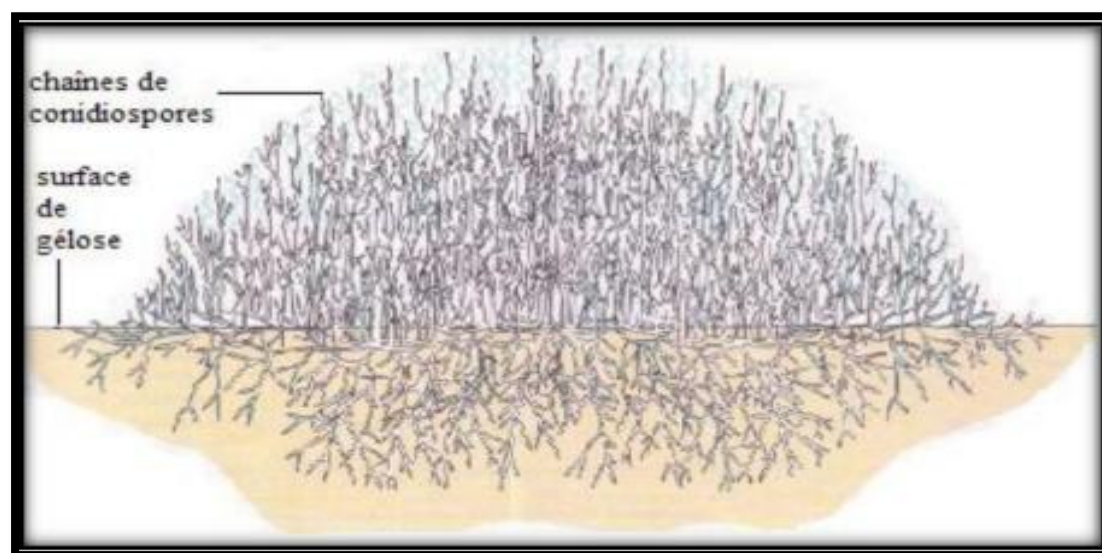


Figure 6. Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec des hyphes vivants (bleus-verts) et morts (blancs). (**Merizig Hanane et al.,2015**).

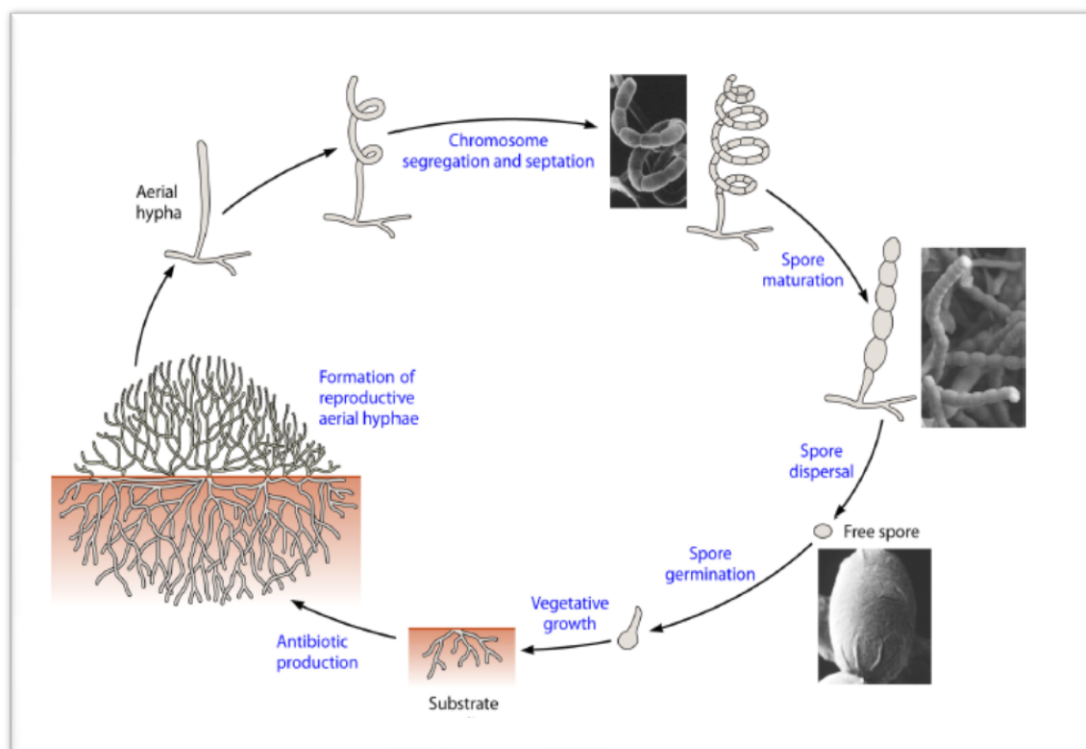


Figure 7. Représentation schématique du cycle de vie des actinomycètes. (Essaid Ait Barka et al.,2016).

8. L'intérêt des actinomycètes dans la microbiologie appliqué :

Les actinobactéries sont bien connues pour leur production de métabolites primaires et secondaires qui ont des applications importantes dans divers domaines. (Ranjani Anandan et al., 2016).

8.1. Dans l'environnement et l'agriculture

Les actinomycètes utilisent leurs métabolites secondaires comme herbicides contre les mauvaises herbes et les herbes indésirables. *Streptomyces saganonensis* produit des herbicidines et les herbimycines qui contrôlent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones. Anisomycine, qui est produit par *Streptomyces sp.*, est un type d'inhibiteur de croissance pour les mauvaises herbes telles que la digitale et les mauvaises herbes à feuilles larges; l'anisomycine peut détruire la capacité des plantes à synthétiser la chlorophylle. (Ranjani Anandan et al., 2016).

Les *streptomyces* peuvent jouer un rôle important dans le développement et la santé des plantes, car il affecte la croissance des plantes en raison de son assimilation des nutriments et de la production de métabolites secondaires. (Margaroni Filho,2010).

8.2. Dans la médecine et la pharmacie :

Les actinobactéries jouent un rôle important dans la production de divers médicaments extrêmement important pour notre santé et notre nutrition, ils produisent des inhibiteurs d'enzymes utiles pour le traitement du cancer et les immunomodificateurs qui améliorent la réponse immunitaire. **(Ranjani Anandan et al., 2016).**

La majorité d'antibiotiques sont dérivés de micro-organismes, en particulier des espèces Actinobactéries. **(Ranjani Anandan et al., 2016).** Environ 75% sont produits par des souches appartenant au genre *Streptomyces*. **(Saadoun et Gharaibeh, 2003 ; Oskay et al., 2004 ; et Boudjella et al., 2007).** Il est à l'origine de la majorité: plus de 50 % du total des antibiotiques et près de 80 % de ceux sécrétés par les actinomycètes **(Oskay et al., 2004).** Par ailleurs 80% des antibiotiques commercialisés proviennent de ce genre **(Thakur et al., 2007).**

Les antibiotiques des actinobactéries sont différenciés en plusieurs classes structurales majeures, comme les aminosides (par exemple, la streptomycine et kanamycine), ansamycines (par exemple, rifampicine), anthracyclines (par exemple, doxorubicine), β -lactame (céphalosporines), les macrolides (par exemple, l'érythromycine) et la tétracycline. **(Ranjani Anandan et al., 2016).**

8.3. Dans l'industrie :

Après les antibiotiques, les enzymes représentent le second grand groupe de produits industriels synthétisés par les actinomycètes. En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telles que des protéases, des chitinases **(Tanaka et Omura, 1990 ; Vonothini et al., 2008)**, amylase, lipase. Ces enzymes sont appliqués dans des différentes industries telles que l'industrie alimentaire, l'industrie des détergentes, les industries des domaines pharmaceutiques, l'industrie du papier, l'industrie textile **(Mukesh Sharma et al., 2014).** Étant donné que les colorants synthétiques ont certaines limites telles que l'utilisation de produits chimiques dangereux créant des problèmes de sécurité des travailleurs et la génération de déchets dangereux, les pigments microbiens sont très préoccupants. En particulier, les Actinobactéries sont caractérisées par la production de divers pigments sur des milieux naturels ou synthétiques. L'industrie textile produit et utilise environ

1,3 million de tonnes de colorants, pigments et précurseurs de colorant. (**Ranjani Anandan et al., 2016**).

9. Les actinomycètes pathogènes

9.1. L'actinomycose

9.1.1. Définition

L'actinomycose est une infection bactérienne chronique de la région cervico-faciale, du thorax ou de l'abdomen, causée par : *Actinomyces israelii*, *A. Propionica*, *A. Naeslundii*, *A. Viscosus* et *A. Odontolyticus* sont également connus pour causer infection chez l'homme. *A. bovis*, connu pour provoquer une «mâchoire grumeleuse». Le processus infectieux se propage aux tissus environnants tels que le pharynx, la langue, les glandes salivaires, les os de la mâchoire, ce qui entraîne une ostéite ou la peau, formant des fistules en divers points, parfois, mais pas souvent, l'infection peut pénétrer dans le sang ruisseler et provoquer une forme générale qui peut être fatale. (**Tania Aneja et al.,2017**).



Figure8. Ulcération produisant du pus contenant des granules jaunes. (**Silvia Tortorici et al.,2008**).

9.1.2. Diagnostic

Le diagnostic repose non seulement sur les symptômes, mais également sur l'identification d'*Actinomyces Israelii* dans les crachats séro-purulents ou dans les échantillons de biopsie. (**Silvia Tortorici et al.,2008**).

9.1.3. Traitement

Les patients atteints d'actinomycose nécessitent des doses élevées prolongées (de 6 à 12 mois) (pour faciliter la pénétration dans l'abcès et dans les tissus infectés) de pénicilline G ou d'amoxicilline. Des mesures préventives, telles que la réduction de l'abus d'alcool et l'amélioration de l'hygiène dentaire, peuvent limiter la survenue d'une actinomycose pulmonaire, cervico-faciale. Chez les femmes, les dispositifs intra-utérins doivent être changés tous les 5 ans afin de limiter la survenue de l'actinomycose pelvienne. (Florent Valour et al.,2014).

9.2. La nocardiose

9.2.1. Définition

La Nocardiose est une infection granulomateuse et suppurative due à une bactérie du genre *Nocardia*(N) qui appartient au groupe des Actinomycètes. (D. Lahiani et al.,2019). La nocardiose affecte principalement les patients immunodéprimés. Il a été rapporté plus fréquemment chez les patients atteints du SIDA ou qu'ils ont subi une greffe d'organe. La présentation clinique peut être aiguë, subaiguë ou, plus fréquemment, chronique. La nocardiose a une mortalité élevée compris entre 7 et 44%. (J. Ambrosioni et al.,2010).



Figure 9. Abscès dorsal fistulisé (Yasmina Rhofir,2017).

9.2.2. Diagnostic

Le diagnostic en laboratoire de la nocardiose humaine basé sur la microscopie et la culture. Identification de *Nocardia* est plus rapide, précis avec la réaction en chaîne par polymérase (PCR) et Séquençage de l'ARNr 16S, qui incluent les propriétés culturelles et biochimiques. **(Venkataramana Kandi, 2015).**

9.2.3. Traitement

L'infection à *Nocardia* nécessite une antibiothérapie systémique prolongée de 3 à 12 mois selon la localisation, la gravité et le terrain. L'association triméthoprim-sulfaméthoxazole constitue le traitement le plus anciennement prescrit vu la sensibilité de plusieurs espèces à ce traitement. Cependant, l'association classique amoxicilline-acide clavulanique plus amikacine, imipénème plus amikacine ou céfotaxime plus amikacine se sont révélées efficaces sur plusieurs souches, ensuite un relai par voie orale par triméthoprim-sulfaméthoxazole peut être proposé. **(Yasmina Rhofir, 2017).**

9.3. La gale commune de la pomme de terre

9.3.1. Définition

La gale commune réduit la qualité des pommes de terre en causant des lésions liégeuses en surface des tubercules. Cette maladie est causée par la bactérie *Streptomyces scabies* qui sécrète, au moment de l'infection des tubercules, une toxine, la thaxtomine A (TA), qui est essentielle au développement des symptômes de gale.

(Nathalie Beaudoin et al., 2016). Chez la pomme de terre, le principal symptôme de la gale commune est la formation de lésions nécrotiques plus ou moins profondes selon la sévérité de l'infection. Dans les cas mineurs, seule la zone autour des lenticelles est affectée, alors que les infections graves sont caractérisées par des lésions pouvant atteindre 7 mm de profondeur. Il est important de noter que le diagnostic ne doit pas être basé sur une observation à l'œil nu, mais plutôt au binoculaire. **(Audrey Ducharme, 2013).**

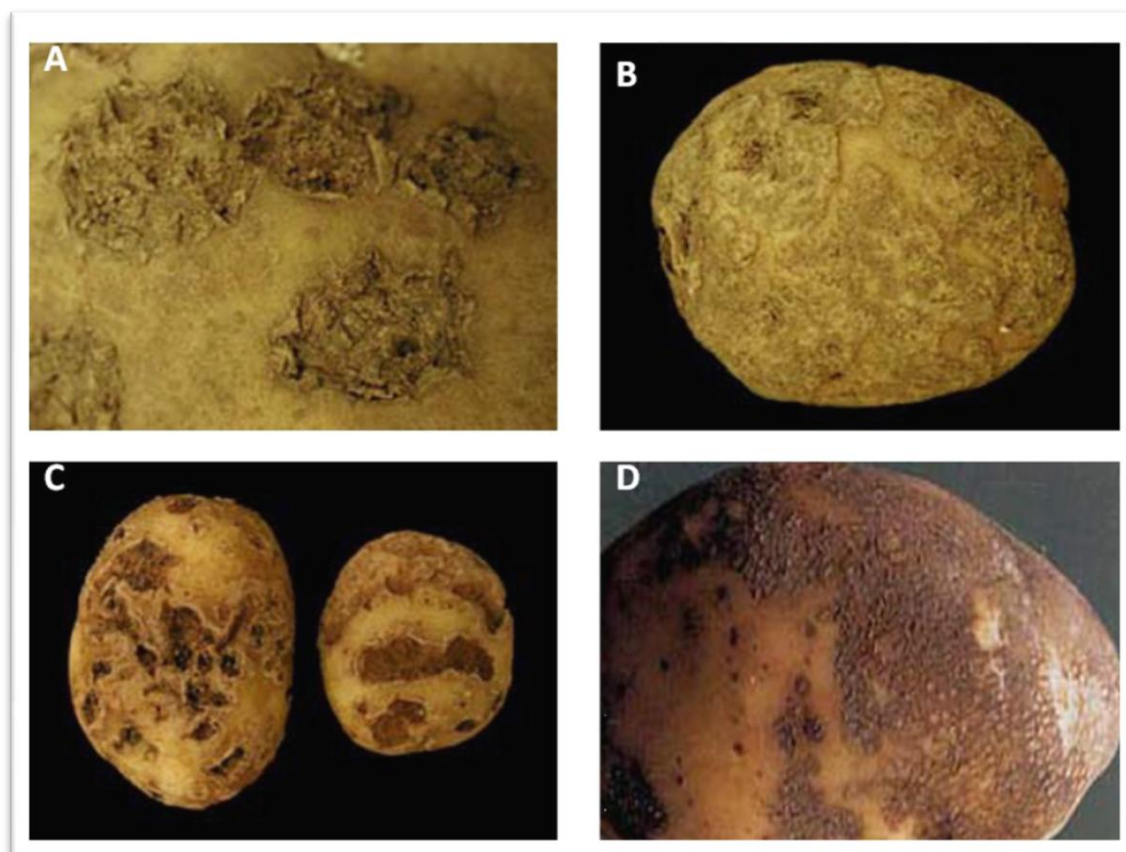


Figure10. Différents degrés d'atteinte de la gale commune de la pomme de terre. (Rebeca Padilla Reynaud,2017).

9.3.2. Diagnostic

Un tubercule entier est lavé et quelques parties sont prélevées et inoculées sur un milieu de culture nommé YME. Celui-ci est incubé de quatre à cinq jours à une température de 30 °C. S'il y a présence de la bactérie *Streptomyces*, on observera sur le milieu une croissance microbienne ressemblant à des filaments aériens. À partir d'une culture pure provenant du milieu YME, il y a inoculation dans un milieu de culture liquide CRM et incubation de 48 à 72 heures. Ensuite, l'ADN de la bactérie est extrait et son identification s'effectue par une technique en biologie moléculaire (Polymerase Chain Reaction (PCR)). (Cindy Dallaire,2008).

9.3.3. Traitement

Les méthodes de lutte qui sont présentement mises à la disposition des producteurs sont intimement reliées au cycle de la maladie et aux conditions la favorisant et sont majoritairement culturales. Les méthodes sont :

- Acidité du sol : La croissance de *S. scabies* est meilleure à un pH au-dessus de 5,2, il est donc logique que l'infection soit diminuée lorsqu'un pH plus acide est favorisé, ce qui peut être fait en utilisant des fertilisants soufrés acidifiant et en évitant le chaulage avant la culture de la pomme de terre.
- Rotations de culture : Malgré la forte capacité de survie des spores des *Streptomyces*, la rotation de cultures est un bon moyen de lutte contre la gale commune, surtout lorsque combinée avec d'autres méthodes. C'est la rotation de la pomme de terre avec des cultures de céréales et de luzernes qui semble la plus efficace.
- Irrigation : Une étude faite sur 5 ans a démontré que lorsqu'un sol infesté par les agents pathogènes responsables de la gale commune est irrigué, les symptômes de la maladie ne se développaient pas sur les parties du tubercule normalement atteintes. Les auteurs ont démontré que la microflore présente sur ces surfaces était influencée par l'humidité du sol, de telle façon qu'il n'y avait aucune actinomycète présent en condition humide, alors qu'elles abondent en condition de sécheresse.
- Fumigation : Il existe deux principales formes de fumigation: la bio fumigation et la fumigation chimique. La bio fumigation vise à prendre avantage des réactions se produisant lors de l'enfouissement des résidus de culture ou des engrais verts de la famille des crucifères telles le chou, la moutarde et le canola. Lorsqu'elles sont hachées et rapidement incorporées au sol, les crucifères libèrent des glucosinolates. Les glucosinolates sont des produits soufrés qui libèrent l'isothiocyanate lorsqu'ils sont dégradés par des enzymes spécifiques, un gaz toxique pour les microorganismes. Par contre, cette technique demande encore des mises au point car les effets sur la gale commune ne sont pas encore constants et varient selon les conditions climatiques. La fumigation chimique implique l'utilisation de la chloropicrine, un pesticide qui permet de contrôler la gale

commune de façon efficace et constante. Pour fonctionner, la chloropicrine doit être appliquée au moins 30 jours avant l'ensemencement des tubercules et directement à l'endroit de la plantation. Malgré son efficacité, l'application de la chloropicrine est à refaire à chaque année de production de pomme de terre; elle est donc très coûteuse et, en plus, très nocive pour l'environnement. (**Audrey Ducharme,2013**).



Chapitre II : les enzymes d'actinomycètes

1. Généralité sur les enzymes

Les enzymes sont des molécules protéiques permettant la catalyse des réactions biochimiques (**Jean hamburger, 1991**). Il existe plus de 2000 enzymes connues chacune impliquée dans une réaction chimique spécifique. Les enzymes comme les autres protéines ont des poids moléculaires allant d'environ 12000 à plus d'un million. Certaines enzymes ne nécessitent aucun groupe chimique pour l'activité, mais beaucoup nécessitent des co-enzymes ou des cofacteurs non protéiques pour leur fonction catalytique. (**R. Sharada et al .,2014**). Les principaux facteurs du milieu qui contrôlent la fonction des enzymes sont la température, le pH et l'activité de l'eau etc. (**Benzekhroufa,2008**). Les principales sources d'enzymes sont les organismes biologiques, les plantes, les animaux et les micro-organismes (bactéries et champignons). De ces sources, les enzymes microbiennes représentent le volume principal. Cependant, environ moins de 50 espèces sont réellement utilisées pour produire l'enzyme microbienne entière. (**Kunal Madhav,2011**).

La dénomination des enzymes a souvent été une affaire aléatoire et déroutante. Plusieurs noms ont été donnés à la même enzyme, et plusieurs enzymes différentes ont reçu le même nom, de sorte qu'il est devenu difficile de savoir de quoi d'autres parlaient. Souvent, le suffixe «ase» a été ajouté au nom du substrat, comme dans le cas de l'uréase (la première enzyme à cristalliser), ou bien le nom a donné une indication de la réaction catalysée, par ex. glucose oxydase, mais même cette enzyme était également connue sous d'autres noms. (**Andrew G et al .,2013**). Les enzymes sont divisées en six classes : Oxydoréductases, Transférases, Hydrolases, Lyases, Isomérases, Ligases. (**Sinead Boyce et al.,2001**).

2. Les enzymes d'actinomycètes

2.1 .Cellulase

2.1.1. Définition :

Cellulase est un complexe multi-enzymatique composé de plusieurs protéines, catalyse la conversion de la cellulose en glucose dans une hydrolyse enzymatique. (**Bushra Maryam et al.,2018**). Les cellulases jouent un rôle clé dans les voies enzymatiques de dégradation des polysaccharides de la paroi cellulaire végétale en sucres simples et économiquement pertinents. (**Thabata M. Alvarez et al.,2013**).Les

enzymes cellulases peuvent être divisées en 3 types: endoglucanase (EG), cellobiohydrolase ou exoglucanase (CBH) et β -glucosidase (BG), alors que les EG sont l'enzyme la plus économique.(**Muhammad Imran et al.,2016**). Les cellulases sont généralement produites par *Streptomyces ruber*, *Thermobifida halotolerans*. (**Salma Mukhtar1et al.,2017**).

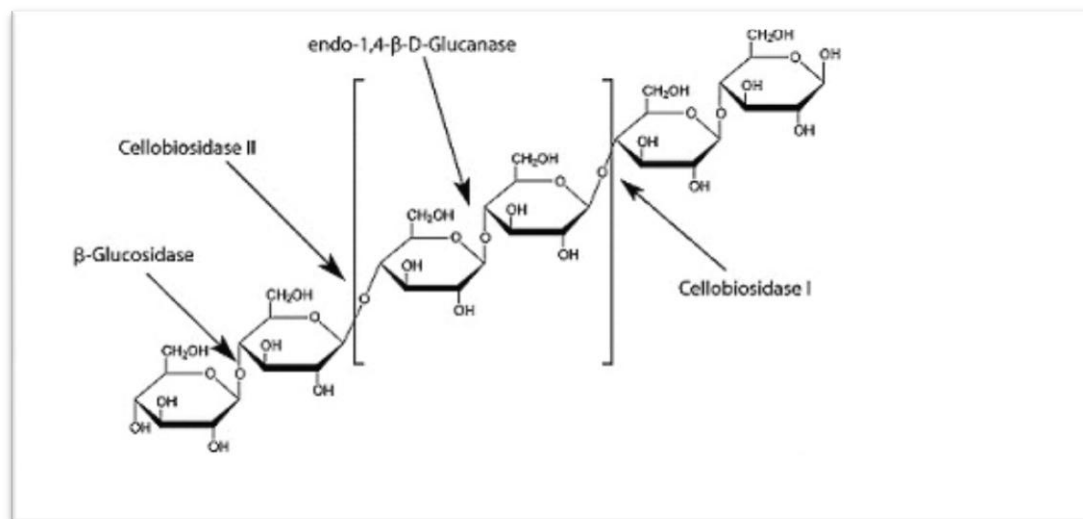


Figure11. Mode d'action de divers composants de la cellulase. (**M. Karmakar,2010**).

2.1.2. Application dans l'industrie :

Les cellulases sont des enzymes importantes sur le plan industriel, largement utilisé dans le textile, la lessive, l'extraction de jus de fruits, additifs pour l'alimentation animale et pour renforcer et blanchir pâte à papier dans l'industrie du papier. (**Ganesh D et al.,2012**), la production de biocarburants, , le brassage et l'agriculture.(**Ramesh Chander Kuhad et al.,2011**), l'extraction de l'huile d'olive. Dans les sciences pharmaceutiques et médicales dont ils sont utilisées comme des agents anti tumoraux ou antimicrobiens, pour le traitement du tissu sanguin et des hernies discales ,dans la génie génétique pour la production des sucres hémicellulosiques et les sucres cellulosiques et l'éthanol cellulosique, les cellulases sont aussi utilisées comme un traitement de la pollution, ils ont un grand potentiel pour transformer et détoxifier efficacement les substances polluantes.(**R. Sharada et al .,2014**).

Tableau 5. Applications des cellulases dans les diverses industries. (Ramesh Chander Kuhad *et al.*,2011)

Industrie	Applications
agriculture	génération de protoplastes végétaux et fongiques; amélioration de la germination des graines et système racinaire; augmentation de la croissance et floraison des plantes; amélioration de la qualité du sol.
Bioconversion	Conversion de matières cellulosiques en éthanol, autres solvants, acides organiques et protéines unicellulaires et lipides; amélioration de la qualité nutritionnelle des aliments pour les animaux.
Détergents	Détergents à base de cellulase; action nettoyante supérieure sans endommager les fibres; amélioration de la luminosité des couleurs et enlèvement de la saleté.
Fermentation	amélioration de maltage et purée; amélioration du pressurage et de l'extraction de la couleur des raisins; amélioration d'arôme des vins; amélioration de la fermentation primaire et de la qualité de la bière.
Pâtes et papiers	Coadditif dans le blanchiment de la pulpe; mise en pâte biomécanique; amélioration du drainage dans les papeteries; la production de carton biodégradable, de serviettes en papier et papier hygiénique.
Textile	bio-polissage des fibres textiles; amélioration de la qualité des tissus; amélioration de propriété d'absorbance de fibres; amélioration de stabilité des tissus cellulosiques; élimination de l'excès de colorant des tissus.
Autres	Amélioration de l'extraction des caroténoïdes; amélioration de l'oxydation et de la stabilité de la couleur des caroténoïdes; amélioration de l'extraction d'olive.

2.2. Amylase

2.2.1 Définition

Les amylases sont des enzymes capable d'hydrolysées les molécules d'amidon en une variété de produits comprenant des dextrines et des polymères composés de plus petits d'unités de glucose qui donne un sirops riches en fructose, en glucose et en maltose. (fig.12).

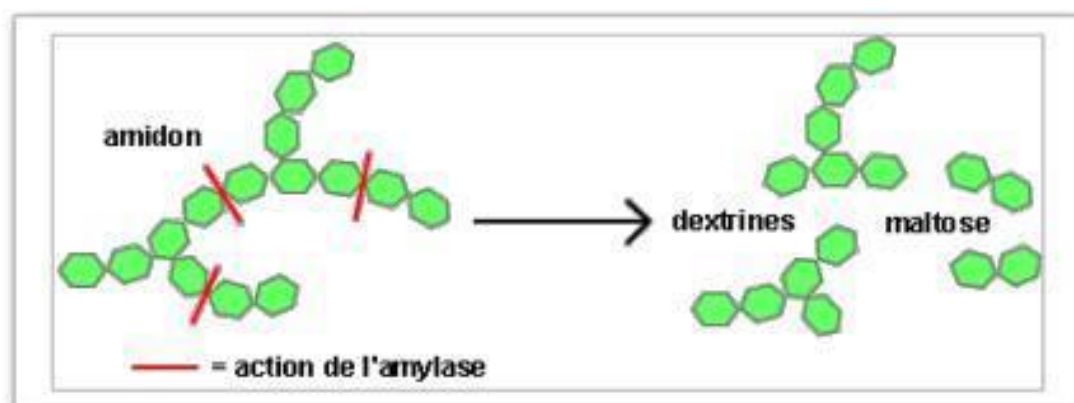


Figure12. Mode de d'action de l' α -amylase. (Florimont, 2013 in Meziani et Mahcene, 2017).

Les actinomycètes tels que *Streptomyces erumpens* et *Thermobifida fusca* ont un Pouvoir de sécréter des amylases à l'extérieur des cellules pour effectuer la digestion extracellulaire. (Salma Mukhtar et al .,2017).

Les types d'amylase sont : α - Amylase (amylases salivaires et pancréatiques), β -Amylase, γ -amylase. (SP Tiwari et al.,2015).

L' α amylase est considérée l'une des enzymes industrielles la plus importante et la plus ancienne. C'est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires, de type endoglycanases, de la classe des hydrolases, qui agit sur les liaisons α (1-4) de l'amidon. (Zoubiri,2012).

2.2.2. Application dans l'industrie

Les amylases sont le deuxième type d'enzymes utilisées dans la formulation des détergents enzymatiques, et 90% de tous les détergents liquides contiennent ces enzymes. Ces enzymes sont utilisées dans les détergents pour la lessive et le lavage automatique de la vaisselle pour dégrader les résidus de féculents.

Pour la production d'éthanol, l'amidon est le substrat le plus utilisé en raison de son prix bas et de sa matière première facilement disponible dans la plupart des régions du monde. La bioconversion de l'amidon en éthanol implique la liquéfaction et la saccharification, où l'amidon est converti en sucre à l'aide d'un micro-organisme amylolytique ou d'enzymes telles qu'alpha-amylase. **(Paula Monteiro et al.,2010).**

Les amylases sont utilisées dans l'industrie textile pour le processus de désencollage. Des agents d'encollage comme l'amidon sont appliqués sur le fil avant la production de tissu pour assurer un processus de tissage rapide et sûr. Après avoir tisser le tissu, l'amidon est retiré, il est généralement éliminé par application d' α -amylase.

L'amylase est appliquée dans de nombreux domaines tels que les chimies cliniques, médicales et analytiques, Traitement des eaux usées, l'industrie du papier... **(KiroMojsov,2012).**

Tableau 6. Utilisations des amylases dans divers secteurs de l'industrie. **(KiroMojsov,2012).**

Secteur	Applications
Aliments	Production de sirops de glucose, Production de sirops de maïs à haute teneur en fructose; Production de sirops de maltose; Réduction de la viscosité des sirops de sucre; Solubilisation de l'amidon pour la fermentation alcoolique dans les industries brassicoles.
Détergents	Utilisé comme additif pour éliminer les saletés à base d'amidon.
Papier	Réduction de la viscosité de l'amidon pour un revêtement approprié du papier
Textile	Dimensionnement en chaîne des fibres textiles
Pharmaceutique	Utilisé comme aide digestive

2.3. Pectinase

2.3.1 Définition

Les pectinases sont un groupe enzymatique qui catalyse la dégradation des substances pectiques. **(Danielle Biscaro Pedrolli et al.,2009).** Le terme « enzyme pectinolytique» ne concerne que les enzymes qui agissent sur la partie galacturonique des substances pectiques et les enzymes capables de dégrader les chaînes latérales ne

sont pas classées parmi les enzymes pectolytiques. Les enzymes pectinolytiques sont classées selon la nature du substrat (pectine, acide pectique, oligogalacturonate), le mécanisme de dégradation (trans-élimination ou hydrolyse) et le type de clivage (endo ou exo). (Agnan Marie Michel Combo et al.,2010) .Ces enzymes peuvent être divisées en deux grands groupes : les pectinestérases(PE) ou pectine-méthylestérases (PME) et les dépolymérases (polygalacturonases et lyases). (Oliyad Jeilu Oumer,2017 ; Agnan Marie Michel Combo et al.,2010). Les pectinases sont produites par plusieurs espèces de Streptomyces telles que *Streptomyces lydicus*. (Salma Mukhtar1 et al.,2017).

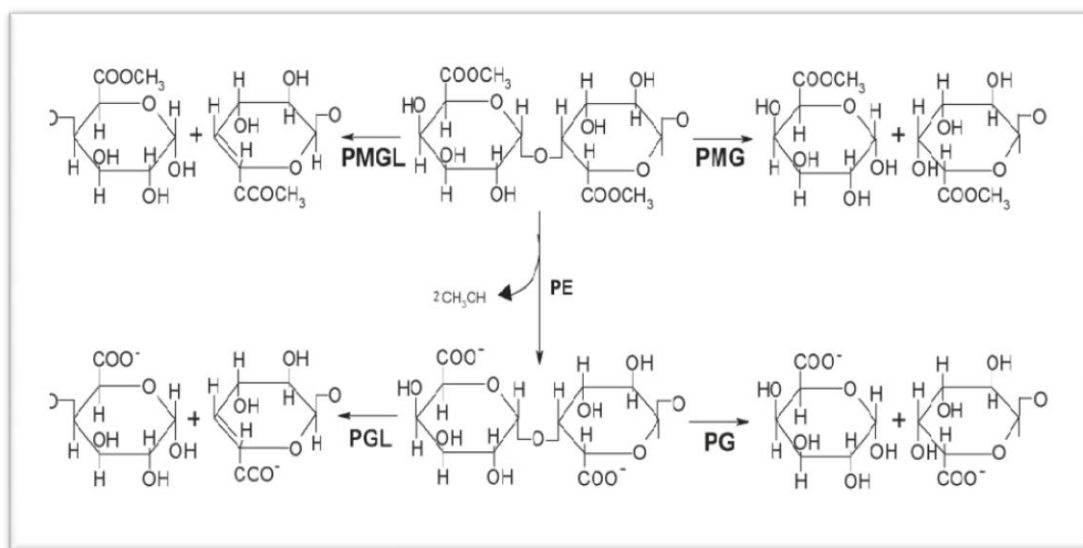


Figure 13. Mode d'action des pectinases — *Mode of action of pectinases.*

PMGL : polyméthylgalacturonate lyase — *polymethylgalacturonate lyase* ; PMG : polyméthylgalacturonase — *polymethylgalacturonase* ; PE : pectinestérase — *pectinesterase* ; PGL : polygalacturonate lyase — *polygalacturonate lyase* ; PG : polygalacturonase — *polygalacturonase*.

2.3.2. Application dans l'industrie

L'application de pectinases dans la transformation des aliments s'est considérablement prolongée ces dernières années, principalement dans les processus d'extraction, de clarification et de stabilisation. Les pectinases acides ont un rôle majeur dans l'industrie des jus de fruits et légumes. Les préparations enzymatiques comprennent principalement des pectines lyases, des estérases et des polygalacturonases.

Les pectinases sont présentes dans de nombreux fruits et légumes en grande quantité, comme indiqué dans le tableau 7. Les pectinases éliminent facilement les écorces de fruits par un processus de ramollissement. Ils augmentent le rendement en jus par

macération et réduction de viscosité. Les pectinases augmentent la clarification et réduisent le temps de filtration jusqu'à 50%. Les pectinases sont non seulement responsables de la clarification des jus, mais elles ont également amélioré la saveur du jus de pomme. Les pectinases facilitent le processus de production. Les pectinases sont utilisées dans divers types de fermentation. Ils accélèrent le processus de fermentation tels que : la fermentation de thé, du café, et du cacao. (**Kadija Tul Kubra et al.,2018**).

Tableau 7. Pourcentage de substance pectique dans différents fruits et légumes.

Fruites /légumes	Tissu	Substance pectique
Pomme	Fraîche	0.5-1.6
Pêche	Fraîche	0.1-0.2
Banane	Fraîche	0.7-1.2
Fraise	Fraîche	0.6-0.7
Cerise	Fraîche	0.2-0.5
Orange	Matière sèche	12.4-28.0
Pomme de terre	Matière sèche	1.8-3.3
Tomate	Matière sèche	2.4-4.6

Les pectinases peuvent être mises en œuvre pour faciliter l'extraction d'huile à partir de graines ou de fruits oléagineux. Aussi, elles peuvent être utiles pour l'extraction de fractions fonctionnelles de matières premières riches en antioxydant. (**Henry Eric spinnler,2013**). Les pectinases alcalines sont principalement utilisées dans le dégomme et rouissage des cultures de fibres et prétraitement des eaux usées pectiques des industries des jus de fruits. Ils sont aussi utilisés dans la fabrication de papier. (**Kashyap et al.,2001**) et ils ont une principale application dans la santé : protection contre le cancer du côlon, la stimulation de la croissance de bactéries bénéfiques dans le côlon (prébiotiques), l'inhibition de l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales. (**Agnan Marie Michel Combo et al.,2010**).

2.4. Xylanase

2.4.1. Définition

La xylanase est une enzyme naturelle présente dans les microbes et les champignons. (**Nishant Shahi et al.,2016**). Les xylanases sont des glycosidases (O-glycoside hydrolases, EC 3.2.1.x) qui catalysent les hydrolyses des liaisons 1,4-D-xylosidiques dans les régions non substituées des chaînes de xylandes pour aboutir au xylose (une source de carbone primaire nécessaire au métabolisme cellulaire). (**Allah Antoine Assamoi et al., 2009**). Ces enzymes participent à la dégradation des parois des cellules végétales, ainsi que d'autres enzymes qui hydrolysent les polysaccharides et digèrent également xylane lors de la germination de certaines graines (par exemple dans le maltage des grains d'orge). Les xylanases peuvent également être trouvées dans les algues marines, protozoaires, crustacés, insectes, escargots et graines de plantes terrestres. (**Nisha Sharma et al.,2017**).

Dans un système de classification antérieur, les xylanases étaient classées en deux groupes en fonction de leurs propriétés physicochimiques: un groupe composé de protéines de bas poids moléculaire (<30 kDa) avec pI basique, alors que l'autre groupe était composé de protéines de haut poids moléculaire (> 30 kDa) avec pI acide. (**girisha malhotra et al.,2018**). Cependant, Collins et al. (2005) notent que cette classification était incomplète. Plus tard, un système de classification plus complet a été admis et permettait la classification des xylanases et des glycosidases en général par la comparaison des structures primaires de leurs domaines catalytiques. Ce système regroupait les xylanases en six familles (de A à F). Actuellement, 96 familles de glycosidase ont été identifiées (**Collins et al., 2005 in Allah Antoine Assamoi et al., 2009**).

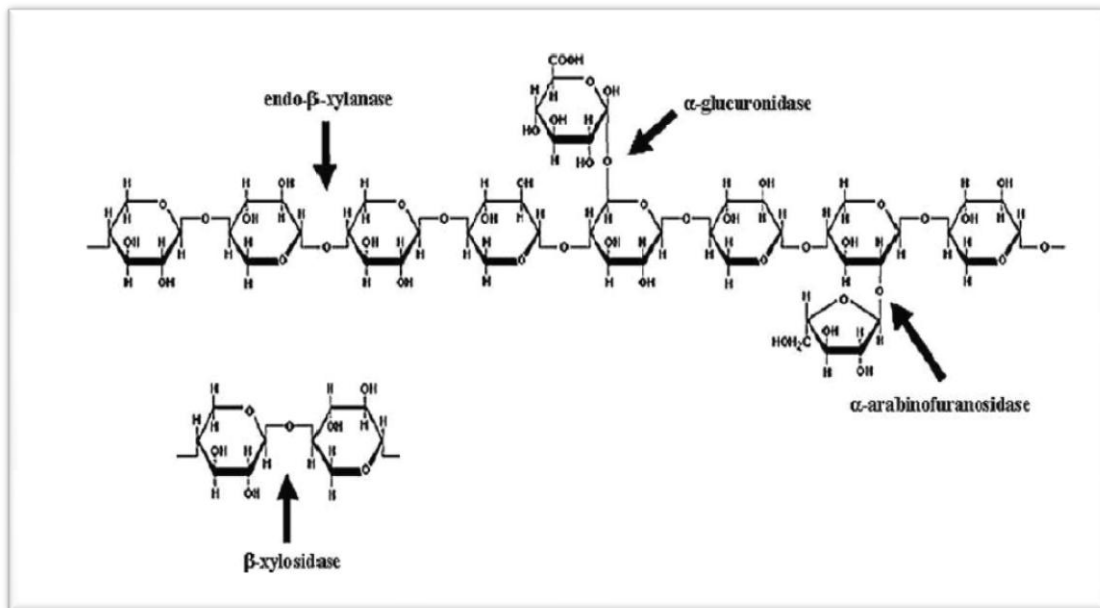


Figure14. Mécanisme des xylanases. (Nisha Sharma et *al.*,2017).

Les xylanases observées chez plusieurs espèces de *Streptomyces* telles que *Streptomyces olivaceoviridis*, *Streptomyces viridosporus*, *Streptomyces lividans* et *Streptomyces cyaneus* (Boucherba Nawel et *al.* ,2010).les xylanases sont produites aussi par *Actinomadura* sp (Salma Mukhtar et *al.*, 2017).

Tableau 8. Caractéristiques des xylanases de différents actinomycètes (kDa-kiloDaltons) (Annie Deborah Harris et al.,2010).

Actinomycètes	Poids moléculaire(Kda)	PH optimal	Température opt. (°C)	PI	Km (Mg/ml)	Vmax (µM / Le mien par mg)
<i>Streptomyces sp.EC 10</i>	32	7-8	60	6.8	3	-
<i>Streptomyces sp.B-12-2</i>	23.8-40.5	6-7	55-60	4.8-8.3	0.8-5.8	162-470
<i>Streptomyces T7</i>	20	4.5-5.5	60	7.8	10	7610
<i>Streptomyces thermoviolaceus OPC-520</i>	33.54	7	60-70	4.2, 8	-	-
<i>Streptomyces chattanoogensis CECT 3336</i>	48	6	50	9	4,0.3	78.2, 19.1
<i>Streptomyces viridisporus T7A</i>	59	7-8	65-70	10.2-10.5	-	-
<i>Streptomyces sp.QG-11-3</i>	-	8-6	60	-	1.2	158.85
<i>Thermomonospora curvata</i>	15.36	6.8-7.8	75	4.2-8.4	1.4-2.5	-

2.4.2 Application dans l'industrie

Les xylanases ont récemment suscité un grand intérêt en raison de leur potentielle application dans de nombreux procédés industriels. Ces dernières années, l'utilisation biotechnologique des xylanes et des xylanases a connu une croissance remarquable. La xylanase a commencé à être utilisée dans les années 80, initialement dans la préparation des aliments pour les animaux et plus tard dans les industries de l'alimentation, du textile et du papier. Les enzymes xylanases sont utilisées pour accélérer la cuisson de biscuits, gâteaux, craquelins et des autres aliments en aidant à décomposer les polysaccharides dans la pâte. Dans les aliments pour les animaux, la

xylanase contribue à la digestibilité du blé par la volaille et les porcs, en diminuant la viscosité de l'aliment. Les xylanases sont aussi utilisées dans la panification, le mucilage des grains de café (**Annie Deborah Harris et al.,2010**).

L'enzyme xylanase s'est efficace pour obtenir une meilleure extraction du sucre à partir des jus de fruits. (**Dushyant Kumar et al.,2017**). Les xylanases utilisées comme prétraitement des cultures fourragères, améliorent les propriétés nutritionnelles de l'ensilage agricole et l'alimentation des céréales et facilitent le compostage. La combinaison de la xylanase avec plusieurs enzymes telles que la mannanase, la lignase, la xylosidase, la glucanase, la glucosidase, etc. peut être appliqué à la production de biocarburants (éthanol et xylitol) (**Nisha Sharma et al.,2017**). Le traitement à la xylanase convertit les hémicelluloses insolubles dans l'eau en formes solubles, qui diminuent la fermeté et augmenter le volume de la pâte. (**Girisha malhotra et al.,2018**).

2.5. Kératinase

2.5.1 Définition

Les kératinases sont des enzymes protéolytiques spéciales qui peuvent digérer la kératine insoluble «difficile à soluble» présents dans la plume, les ongles, les cheveux et la laine. La plupart des kératinases sont actives de façon optimale à pH de 6 à 9 et à une température de 30 à 50 ° C. (**K. Tamreihao et al.,2018**) . Les kératinases sont également actif sur une large gamme de substrats, y compris les kératines, l'hémoglobine, la fibrine, la gélatine et la caséine.

Des plusieurs actinomycètes sont connus pour produisent des enzymes kérolytiques en particulier Streptomyces spp tels que *Streptomyces albus* (**Isiaka A et al.,2016**), *Streptomyces albidoflavus*, *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces pactum*(**K. Tamreihao et al.,2018**),*Actinomadura keratinilytica*. (**Salma Mukhtar et al., 2017**).

Tableau 9. Caractéristiques de la kératinase produite par les actinomycètes. (**K. Tamreihao et al.,2018**).

Actinomycètes	PH optimal	Temp. Optimale (° C)
<i>Actinomyces sp.</i>	7.5	28
<i>Nocardiosis sp.</i>	11.0–11.5	70-75
<i>Streptomyces albidoflavus</i>	6-9.5	40-70
<i>Streptomyces fradiae</i>	8.0	45
<i>Streptomyces pactum</i>	8.0	65
<i>Streptomyces sp.</i>	11	45
<i>Streptomyces sp.</i>	5-10	55-80

2.5.2 Application dans l'industrie

Les kératinases ont une application importante dans l'élimination des déchets de volaille et sont recyclées en sous-produit précieux. La kératinase a également une application émergente dans le processus d'épilation dans l'industrie du cuir au lieu des sulfures de sodium et est également utilisée comme détergent pour éliminer les taches sur les vêtements. (**B. Deivasigamani et al.,2008**). Il ya une proposition de l'utilisation de kératinase dans la formulation de la crème dépilatoire pour la rendre organique, sûre et non allergène. De nombreuses applications de la kératinase en sont encore aux premiers stades, comme la dégradation des prions pour le traitement de la maladie de la vache folle, la fabrication de plastiques biodégradables et la production de peptides de kératine. (**Roohi et al.,2017**).

Tableau 10. Les produits à base de kératinase disponibles dans le commerce. (Beti Vidmar et al.,2018).

Application	Description du produit	Produit commercial
Élimination du cérumen	Élimination réussie, sûre et efficace du cérumen.	Zymox
Traitement de l'acné	L'acné est causée par le blocage des glandes sébacées dans la présence de grandes quantités de kératine, donc les kératinases peuvent être utilisées pour un traitement réussi.	Keratoclean® Sensitive PB, Keratopeel® PB
Utilisation commerciale (Alimentation de volaille)	Le produit de kératinase améliore le taux d'alimentation et a un effet positif sur la masse corporelle du poulet.	Versazyme®
Biomédical, pharmaceutique et cosmétiques	Le produit de kératinase réguler la concentration de kératine dans les pores, contribuant à l'élimination des cloques, il peut être utilisé pour le traitement des maladies dermatophytiques.	PURE100 Keratinase
Agents nettoyeurs	Nettoyage des tuyaux et des réservoirs avec différentes enzymes, y compris les kératinases.	Bioguard Plus

2.6. Lipase

2.6.1 Définition

Les triacylglycérol acyl-hydrolases, ou lipases, sont des enzymes atypiques de par leur mécanisme d'action et leur spécificité de substrats. En fonction du micro-environnement de l'enzyme, elles peuvent agir en tant qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique. En tant qu'hydrolases, elles sont responsables du catabolisme des triglycérides, leurs substrats préférentiels, en acide gras et en glycérol. Chez de nombreux êtres vivants, cette réaction est capitale de par son rôle physiologique majeur dans le métabolisme des graisses et des lipides. De plus, certaines lipases sont capables d'hydrolyser des phospholipides, des esters de cholestérol et même parfois certains esters synthétiques. Les lipases forment une classe d'enzymes hétérogènes de par leur origine, qu'elles soient animales, végétales ou microbiennes, ce qui augmente encore leurs potentialités. **(Patrick Fickers et al.,2008).**

Un certain nombre de souches d'actinomycètes ont la capacité d'hydrolyser les huiles et les graisses. Un membre des actinomycètes, par ex. *Streptomyces exfolie* et *Nocardiopsis alba* produisent des lipases qui hydrolysent les liaisons esters des triglycérides en glycérol et en acides gras. **(Salma Mukhtar et al.,2017).**

2.6.2 Application dans l'industrie

Les lipases ont une application importante dans les détergents (Lessives ménagères), Elles sont capables, en effet, de fragmenter en petites particules les taches de graisse, par exemple de beurre, d'huiles et des produits de beauté. Les lipases sont largement mises en œuvre dans l'industrie pharmaceutique pour la synthèse des médicaments c'est le cas des anti-inflammatoires non stéroïdiens, de certains agents antimoraux, de certains antibiotiques ou vitamines. **(Rihani Alima,2012).**

Les lipases ont de nombreuses applications et avantages dans les aliments et les agro-industries Par exemple dans le traitement de l'huile végétale. En pâtisserie et applications laitières, des lipases sont ajoutées pour améliorer et accélérer le développement de notes aromatiques. Les lipases sont utilisées aussi dans la production de biocarburants, le traitement des textiles et du cuir, et dans l'industrie papetière. **(David Guerrand,2017).**

Tableau 11. Quelques exemples de lipases commerciales. (David Guerrand,2017).

Producteur d'enzymes	Exemples de produits	Applications
NOVOZYMES	Lipase 435 Lipolase	Lipase polyvalente Détergents
DSM	Gumzyme Maxapal A2	Dégommage à l'huile Traitement des œufs
AB ENZYMES	Rohalase PL, Rohalase F, Veron Hyperbake	Dégommage à l'huile Cuisson
AMANO	Lipase DF	Cuisson

2.7. Protéase

2.7.1. Définition

Les enzymes protéolytiques catalysent l'hydrolyse des liaisons peptidiques entre les acides aminés résidus de protéines, ils sont souvent appelés protéases ou peptidases (A. Dhillonet *al.*,2018). La classification des protéases est basée sur leur origine, leur mécanisme catalytique, la spécificité ou la nature du groupe réactif dans le site catalytique, sur le site d'action sur chaînes polypeptidiques, les protéases sont divisées en deux groupes : les exopeptidases et endopeptidases. Les exopeptidases n'agissent qu'à proximité des extrémités des chaînes polypeptidiques, les endopeptidases clivent les liaisons peptidiques dans les régions internes des chaînes polypeptidiques loin des deux extrémités. Ceux-ci divisés en six groupes : sérine protéases, cystéine protéases, aspartate protéases, métallo protéases, glutamate protéases, thréonine protéases. (Rajendra Singh et *al.*,2016).

Des plusieurs études ont signalé la production de protéases à partir de actinomycètes comme les genres *Streptomyces*, *Nocardia* et *Nocardiopsis* (Salma Mukhtar et *al.*,2017).

2.7.2. Application dans l'industrie

Toutes les enzymes protéolytiques présentent des propriétés spécifiques avec en ce qui concerne la température, le pH, les besoins en ions, la spécificité, l'activité et la stabilité. Ces caractéristiques déterminent l'application de protéase dans des diverses industries. Dans la pharmacie les protéases sont utilisées dans le développement de

divers médicaments (anticancéreuses, antimicrobiennes, anti-inflammatoires...), et maintenant les protéases sont utiles dans le traitement de la fibrose kystique, la septicémie, les troubles digestifs et bien d'autres maladies. Dans la gestion des déchets industriels les protéases sont utilisées pour traiter les différents types de déchets tels que déchets solides, liquides et dangereux. Certaines enzymes protéolytiques de *Streptomyces sp* jouent un rôle majeur dans la dégradation des cheveux et sont également impliqués dans le nettoyage des tuyaux. (**Neha Thakur et al.,2018**). Dans l'industrie de détergents les protéases sont utilisées comme l'un des composants clés dans les formulations de détergents pour améliorer les performances de lavage, ils sont utilisés comme une solution pour nettoyer les lentilles de contact ou les prothèses dentaires. Les protéases sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour un large éventail d'applications. Ces enzymes participent efficacement à la modification des propriétés des protéines alimentaires pour améliorer la valeur nutritionnelle, la solubilité, la digestibilité, la saveur, et minimiser les composés allergènes. (**Rajendra Singh et al.,2016**).

Tableau 12. Applications des protéases dans différentes industries.

Industrie	Application
Aliments	Amélioration de la digestibilité, de la saveur de solubilité, de la palatabilité ; amélioration de récupération de l'huile des fruits de mer.
Détergents	Amélioration du lavage
textile	Dégommage, développement de la texture.
Bioremédiation	Traitement des déchets.
Médicaments	agents anticancéreux, anti-inflammatoires
Autres	Récupération de l'argent, dégommage de la soie.



Matériels et méthodes

1. Objectif de l'étude:

L'objectif principal de ce travail est :

- L'isolement de souches d'actinomycètes à partir des milieux naturels différents, La recherche des enzymes à intérêt technologique (amylase, cellulase, xynalase, pectinase, lipase, caséinase, géltinase, nitrate réductase, catalase, kératinase).
- production et caractérisation partielle de quelques enzymes détectés.

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique de l'université de Saida Dr. MOULAY TAHAR, Faculté des sciences, Département de biologie, pendant la période allant de février à mars 2020.

2. Isolement des actinomycètes

2.1. prélèvement des échantillons

Des échantillons de sol sont prélevés à partir d'un lac « sebkha » de Bougtob dans la wilaya d'El bayedh, zone rhizosphérique de la plante *Ziziphus spina-christi* « sedra » dans la région de Youb dans la wilaya de Saida et *Moringa oleifera* (Adrar) et de la grotte (vieux de Saida). Les prélèvements sont réalisés suivant la technique décrite par **Pochon et Tradieux (1962)**. Après avoir écarté les cinq premiers centimètres de sol, une quantité suffisante de terre est prélevée du sol, jusqu'à 10 centimètres de profondeur, Puis déposée à l'aide d'une spatule sur une feuille d'aluminium stérile. Après un premier tri, écartant les pierres et les débris végétaux, l'échantillon est récupéré dans un flacon stérile. Les échantillons sont transportés au laboratoire pour les analysés.

Un échantillon d'eau hydrothermale (Sidi Aissa) est prélevé dans un flacon stérile avec un bouchon à vis. Le robinet est flambé au préalable, les premiers jets ont été éliminés et le flacon a été rempli de volume $\frac{3}{4}$ (**Manceur et al., 2016**).

2.2. Milieux d'isolement

Les milieux sélectifs pour les actinomycètes qu'on a utilisés sont: Milieu Gym ; milieu Bennet (**Lee et al., 2011**); milieu ISP2 (**Ara et al., 2012**). (Annexe I).

2.3. Méthode d'isolement et Préparations des dilutions décimales

Pour chaque échantillon, 1g de sol est dilué dans 9ml d'eau physiologique stérile (pour l'échantillon d'eau 1ml d'eau est diluée, puis agité au vortex deux fois pendant 5 minutes, cette suspension constitue la dilution 10^{-1}).

Une série de dilutions décimales (jusqu'à 10^{-5}) est effectuée pour chaque échantillon. Les trois milieux sontensemencés en surface à raison de 0,1ml par dilution par boîte de Pétri. Les boîtes sont incubées à 28°C et observées quotidiennement pendant une durée de 4 semaines.

2.4. Prélèvement et sélection des colonies d'actinomycètes

Dans un premier temps, les colonies d'actinomycètes sont repérées d'après leur aspect macroscopique caractéristique (colonies dures incrustées dans la gélose). Puis par leur

aspect microscopique (colonies circulaires constituées d'hyphes), par observation directe sous microscope optique grossissement $\times 10$.

Pour une observation plus claire, une colonie entière est placée sur une lame stérile et après élimination du maximum d'Agar, elle est légèrement écrasée avec une lamelle et observée sous microscope optique (grossissement $\times 40$) (**Suzuki, 2001**).

2.5. Coloration de Gram

Elle est effectuée selon la méthode classique. Des frottis de colonies répondant aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques des actinomycètes sont préparés, colorés puis observés sous microscope optique selon la méthode suivante :

1. Préparer et fixer sur une lame des frottis qui sont réalisés à partir des colonies des actinomycètes bien isolés à la flamme d'un bec bunsen.
2. Coloration par violet de gentiane ou cristal violet, laissez agir de 30 secondes à 1 min, puis rinçage par eau distillée.
3. Couvrir la lame avec la solution de Lugol pendant 1 min, puis rinçage à l'eau distillé.
4. Le frottis est décoloré avec de l'alcool 30 s, puis rinçage à l'eau distillé.
5. Recoloration à la fuschine pendant 1 min, rinçage à l'eau puis séchage.
6. Observation au microscope optique du faible grossissement 10 jusqu'au G 100x. (**Camille, 2007**).

Remarque : on utilise une goutte d'huile à immersion dans l'observation à grossissement 100.

Les colonies Gram positif sont toutes repiquées sur le milieu Bennet car ce dernier a montré une croissance rapide et excellente des souches d'actinomycètes.

2.6. Purification des souches et Conservation des souches

Après avoir purifié les souches, elles sontensemencées sur le milieu Bennet en gélose incliné, après incubation à 28°C pendant 21 jours, les cultures sont conservées à 4°C, un repiquage est réalisé tous les deux mois.

Remarque: des copies des souches sont conservées en boites de pétrie jusqu'à la formation des spores, puis ils sont écarter et mets dans un flacon contenant le sol stérilisé.

2.7. Préparation de l'inoculum

Des tubes contenant le milieu ISP3 gélosé incliné (Annexe I) sont ensemencés par les souches d'actinomycètes isolées et purifiées puis incubées pendant 21 jours à 28° C. La surface des colonies est raclée et une suspension dense de fragments mycéliens et de spores est préparée en eau physiologique stérile, celle-ci constitue l'inoculum (**Suutari et al., 2002**).

Pour chaque souche, l'inoculum est préparé de telle manière à obtenir une densité optique égale à 0,1 pour une longueur d'onde de 660 nm.

3. Mise en évidence des activités enzymatiques

3.1. La recherche de l'amylase

Ce test est réalisé sur le milieu nutritif gélosé contenant 1% de l'amidon soluble selon la méthode de **Gordon et Smith (1953)**. Après 14 jours d'incubation à 28°C, la gélose est recouverte d'une solution de lugol. L'hydrolyse est mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies à l'inverse les zones contenant de l'amidon qui se colorent en brun.

3.2. La recherche de la Caséinase (Non réalisé)

La caséinase, protéine de lait, peut être hydrolysée par certaines espèces bactériennes. Chaque isolat est ensemencé sur milieu gélosé en boîte de pétri additionné de 2 à 5% de lait écrémé stérile. Les boîtes sont incubées à 28°C pendant 7 jours. L'observation des zones éventuelles d'éclaircissement, du milieu autour des colonies témoigne l'hydrolyse de la caséine. (**Camille, 2007**).

3.3. La recherche de la gélatinase (Non réalisé)

Les souches sont ensemencées sur gélose nutritive contenant 0,4% (P/V) de gélatine, puis incubées 14 jours à 28°C. Les zones où la gélatine n'est pas dégradée s'opacifient lorsqu'une solution de chlorure mercurique à 15% est versée sur la gélose. Les zones claires correspondent aux zones d'hydrolyse de la gélatine (**Williams et Cross, 1971**).

3.4. La recherche de la catalase (Non réalisé)

Prendre une lame propre, déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes. À l'aide d'une pipette Pasteur, émulsionner par un peu de la colonie

d'actinomycètes. Le dégagement des bulles de gaz indique la présence d'une catalase (Camille, 2007).

3.5. La recherche de la cellulase (Non réalisé)

Pour chaque souche d'actinomycètes un tube à essai contenant 9 ml du milieu liquide ISP9 (annexes I) est utilisé. Une bandelette de 0.5 x 10 cm de papier filtre Whitman N°1 stérile, est introduite dans chaque tube, elle est utilisée comme unique source de carbone et d'énergie. Les tubes ainsi préparés sont ensemencés par 1ml d'inoculum préalablement préparé. Un tube non ensemencé sert de témoin. Les cultures incubées à 28°C pendant 21 jours. L'activité cellulolytique est mise en évidence par la digestion du papier filtre (Boulaïrouf *et al.*, 1986).

3.6. La recherche de la kératinase (Non réalisé)

dans des tubes contenant chacun 10ml de isp9 (annexe I) on introduit les plumes de poulet qui ont été lavées, séchées et stérilisées à l'autoclave, les tubes sont ensemencés par 1ml d'inoculum préparé un tube sans inoculation sert témoin, les autres tubes sont incubés à 30°C pendant 7 jours (Habbeche *et al.*, 2013).

Remarque: dans ce travail pour chaque souches d'actinomycètes un tube à essai est utilisé pour l'économisassions due au manque de produit.

3.7. La recherche des lipases

Ce test est effectué par l'utilisation de milieu spécifique à base de tween 80 (voir annexe I), comme seule source de carbone, après l'ensemencement et incubation à 30°C pendant 14 jours, la lecture est basée sur l'apparition d'une croissance sur le milieu de culture et par la présence d'un halo autour des colonies indique la dégradation des acides gras (Gordon *et Smith*, 1953).

3.8. La recherche de la pectinase

Ce test est réalisé sur le milieu pectine agar (annexe I). Ensemencer les boîtes en stries après incubation de 5 jours à 28° C. Les boîtes sont recouvertes par la solution d'acétate de cuivre et laisser à température ambiante pendant quelques minutes. L'apparition d'un halo claire indique la présence d'une activité pectinolytique. (Camille, 2007).

3.9. La recherche de la xylanase

Afin de déterminer l'activité xylanolytique directement sur milieu solide, les souches d'actinomycètes sont ensemencées sur milieu nammori (annexe I) à base de xylane.

A ce milieu, on ajoute 10g de xylane puis le PH du milieu est ajusté à 7 avant l'addition de l'agar à raison de 15ml/l on les mettre dans un autoclave à 121°C pendant 16 minutes, puis coulé dans des boîtes de pétrie à raison de 15ml/boîte par la suite, les souches sont ensemencées de manière stérile sur le milieu nammori à base de xylane par touches afin d'obtenir des colonies bien séparées. L'incubation se fait à 45°C pendant 4 jours. (**nammori t et al., 1990**).

Test qualitatif au rouge congo à 0.05% (annexe II) pendant 10 minutes après ce temps, on élimine l'excès de rouge congo et on effectue plusieurs lavage avec une solution de NaCl 1M (annexe II) les souches productrice des xylanase sont détectées grâce à la zone claire qui apparaît autour de ces colonies.

Remarque: dans ce travail, vue le cout très cher du xylane dans le marché, nous avons utilisé le milieu liquide horikoshi à base de son de blé comme seul source de carbone, puis y'ajouté 15g d'agar pour le rendre solide.

3.10. La recherche de nitrate réductase (Non réalisé)

La mise en évidence du nitrate réductase se fait sur un bouillon nitrate (ISP8), les souches sont ensemencées par une anse de platine et incubées à 30°C pendant 7 jours. Le virage de couleur rose vers le rouge clair suite à l'addition des réactifs (le nitrate réductase 1 et le nitrate réductase 2) signe la réduction du nitrate en nitrites, dans le cas de l'absence de coloration rouge, on ajoute le poudre de zinc ; l'apparition de la coloration rouge indique un test négatif (les nitrates du milieu ne sont pas réduits par la souche) et en l'absence de coloration, le test est considéré comme positif (**Guiraud et Duriod, 2003**).

4. Pré identification des souches actives (Non réalisé)

4.1. Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique des différentes souches actives est déterminé sur les milieux de l'International Streptomyces Project (ISP2, ISP4, ISP5).

L'aspect macroscopique (couleur, forme, etc.) des colonies est observé après 21 jours d'incubation à 30°C (**Mocheva et al., 2002 ; Oskay et al., 2004**).

4.2. Aspect microscopique

L'observation de la morphologie des chaînes de spores, du mycélium aérien et du mycélium du substrat est effectuée selon deux techniques :

A. Technique de culture sur lame:

Les souches actives sont ensemencées, à raison d'une goutte de l'inoculum sur une portion rectangulaire d'Agar de 1cm x 1cm x 2mm d'un milieu solide ISP2, ISP3, ISP4 ou ISP5. Ce rectangle est déposé sur une lame puis recouvert avec une lamelle. La culture sous forme de sandwich est incubée à 30°C pendant 21 jours. L'observation se fait au microscope optique (G x 100) (**Zaitlin et al., 2003**).

B. Technique de culture sur lamelle:

Cette technique consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans un milieu gélosé ISP2, ISP3, ISP4 ou ISP5, de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec la surface de celui-ci. Une goutte de l'inoculum est déposée contre la lamelle en contact avec le milieu.

Après 14 jours d'incubation à 30°C, la lamelle est retirée soigneusement de la gélose, entraînant avec elle des fragments du mycélium du substrat et aérien, elle est ensuite déposée sur une lame puis examinée au microscope optique (G x 100) (**zermane,2008**).

4.3. La mise en évidence des pigments mélanoïdes produits par les souches actives

Cette technique est réalisée sur les milieux ISP6 et ISP7 (Annexe I) en gélose inclinée. Un tube non ensemencé sert de témoin. L'observation de la couleur brune noir caractéristique des pigments mélanoïdes se fait au 2^{ème} et au 4^{ème} jusqu'au 7^{ème} jour, en comparant les tubes ensemencés avec le témoin (**Shirling et Gottlieb, 1966 ; Mocheva et al., 2002**). S'il y a production de pigments diffusibles de couleurs différentes, autre que la couleur brun-noir caractéristique des pigments mélanoïdes, la couleur est notée (**Shirling et Gottlieb,1966**).

4.4. Détermination de l'acido-alcool-résistance

Les frottis des souches d'actinomycètes actives sont préparés à partir des cultures de 5 jours d'incubation sur le milieu GSEA (Glycérol Extrait de Sol) (Annexe I), puis fixés par du méthanol à froid (**Gordon et Smith, 1954**).

4.4.1. Coloration de Ziehl-Neelsen

La coloration de Ziehl-Neelsen est une méthode permettant l'identification des Mycobactéries, elle fait partie des colorations qui mettent en évidence l'acido-alcoolrésistance de ce genre d'actinomycètes.

Ce type de coloration comprend deux temps :

1er temps : coloration des frottis par la fuschine de Ziehl à chaud (Annexe II)

- Recouvrir les frottis d'un papier filtre imprégné de fuchsine de Ziehl.
- Chauffage à émission de vapeur pendant dix minutes au moins sans ébullition.
- Rinçage à l'eau distillée stérile.

2ème temps : décoloration par le décolorant de Ziehl-Neelsen (Annexe II) pendant 3 minutes, puis rinçage et séchage.

L'observation s'effectue au microscope optique, avec l'objectif à immersion (G x 100). Les cellules des Mycobactéries qui sont acido-alcool-résistantes apparaissent en rouge, alors que celles des autres actinomycètes prennent la coloration bleue (**Hamid et al., 2001**).

4.4.2. Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée

Cette méthode de coloration permet la mise en évidence de l'acido-alcool-résistance partielle des *Nocardia* et genres apparentés.

Elle est réalisée selon le protocole de **Gordon et Smith (1954)**. Les frottis sont recouverts par une solution de carbolfuschine (Annexe II), puis chauffés pendant 3 minutes, les lames sont ensuite rincées à l'eau distillée stérile, décoloré par l'acido-alcool (Annexe 2), lavées à l'eau et enfin contre colorées avec le bleu de méthylène pendant 2 minutes. Les actinomycètes acidoalcool- résistants partiels apparaissent en rose.

4.5. Caractéristiques biochimiques (Non réalisé)

4.5.1. Utilisation du citrate

Ce test détermine la capacité qu'a un organisme d'utiliser le citrate comme seule source de carbone. Des cultures de souches actinomycètes sur milieu citrate de Simmons incubées à 30°C sont observées quotidiennement jusqu'au 14 jours.

La coloration du milieu en bleu traduit l'utilisation du citrate par les souches (**Guiraud, 1998**).

4.5.2. production de sulfure d'hydrogène (H₂S)

Pour la mise en évidence de production de sulfure d'hydrogène (H₂S), des tubes contenant du milieu TSI (annexe I) sont ensemencés puis incubés pendant 14 jours à 30°C.

La production de l'H₂S est appréciée par l'apparition d'une coloration noire dans le milieu (**Guiraud, 1998**).

4.5.3. La recherche de l'uréase

La recherche de l'uréase est effectuée en mettant 4 gouttes du milieu urée-indole (couleur jaune) dans 4.5 ml d'eau physiologique puis les ensemencées par l'isolat d'actinomyètes. Après une incubation à 28°C pendant 24h, une uréase positive se manifeste par le virage de la couleur du milieu vers le rouge. (**Marchal et al.,1991**).

4.5.4. La recherche de la production d'indole

Les isolats sont ensemencés dans 4,5ml d'eau physiologique contenant 4 gouttes du milieu urée-indole. La lecture est effectuée après 24h à 28°C. 2 à 3 gouttes du réactif de kovacs sont ajoutées à 1 ml de la culture. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'un anneau rouge vermillon à la surface. (**Marchal et al., 1991**).

4.6. Caractères physiologiques (Non réalisé)

4.6.1. Détermination de la température optimale de croissance

Le milieu utilisé pour déterminer la température optimale de croissance est le milieu d'ISP2 (annexe I). Les boîtes ensemencées sont incubées à différentes températures: 5, 25, 30,40 et 50°C pendant 2 semaines, la croissance est estimée pendant 21 jours d'incubation et la température qui permet une bonne croissance est notée (**Smaoui, 2010**).

4.6.2. Détermination du pH optimum de croissance

Les souches actives sont ensemencées sur le milieu CYD (Annexe I), tamponné à différents pH (5,5, 6,0, 6,5, 7, 7,5, 8). Le pH final est ajusté juste avant stérilisation.

La croissance des souches est estimée visuellement après 21 jours d'incubation à 30°C (**zermane,2008**).

4.6.3. Tolérance à différentes concentrations de NaCl

Ce test permet la détection des espèces d'Actinomycètes halophiles ou d'origines marines, sur un milieu spécifique (Voir l'annexe I) à différentes concentrations de NaCl (2,5%, 5%, 7%, 10%) et en utilisant un témoin, c'est le milieu à 0% de NaCl, ce test consiste à ensemercer chaque souche d'Actinomycète à différentes concentrations de NaCl, ces boîtes sont incubées à 30°C pendant 14 à 21 jours (**Boucheffa, 2011**).

4.6.4. Détermination de la mobilité

Elle est réalisée sur le milieu semi solide de mannitol-mobilité (Annexe I), l'ensemencement est réalisé par piqûre centrale. Après incubation pendant 7 jours à 30°C, la mobilité se traduit par l'envahissement du milieu à partir de la piqûre d'inoculation. (**Guiraud, 1998**).

5. Production, récupération et caractérisation des enzymes (Non réalisé)

5.1. l'amylase

5.1.1. la production de l'amylase

Un milieu spécifique utilisé pour la production d'enzyme. Le pH du milieu a été ajusté à 6,8 avec KOH ensuite on le met dans un autoclave à 120°C pendant 20 min. Cinquante millilitres de milieu ont été prélevés dans des flacons Erlenmeyer de 150 ml et inoculé avec 1 ml de culture d'inoculum ensuite incubées à 37 °C sous une agitation de 100rpm, pendant 24h (**oliviera et al.,2010**) .Les solutions d'enzymes extracellulaires ont été obtenues par centrifugation à 5000 rpm pendant 20 min, le surnageant acquis a été collecté et utilisé comme source d'enzyme (**baydda,2018**).

L'activité d'amylase de la souche est déterminée selon le protocole du dosage suivant: 0,5 ml d'une solution d'amidon (Sigma) (1% P/V) et 0,3 ml du tampon citrate phosphate 0,2M pH 6 sont incubés en présence de 0,2 ml de la solution enzymatique à 70 °C pendant 5 minutes.

5.1.2. caractérisation de l'amylase

L'effet de la température sur l'activité enzymatique était déterminé en effectuant le protocole du dosage suivant: 0,5 ml d'une solution d'amidon (Sigma) (1% P/V) et 0,3 ml du tampon citrate phosphate 0,2M pH 6 sont incubés en présence de 0,2 ml de la

solution enzymatique pendant 30 min dans une gamme de température de 30 à 60°C dans un tampon phosphate (0,05 M, pH 7.5) (**maktouf, 2013**).

L'effet du pH sur l'activité enzymatique était déterminé en mesurant l'activité à 37°C utilisant du citrate - phosphate (0,05 M, pH 3,5 - 5,5), phosphate (0,05 M, pH 6,5 - 7,5) et Tris-HCl (0,05 M, pH 8,5 - 9,5) tampons pendant 30 min (**Oliveira et al., 2010**).

L'activité amylase des souches est déterminée selon la méthode DNS.

5.2. La cellulase

5.2.1. la production de cellulase

La production de la cellulase est réalisée dans des fioles erlenmeyer de 500ml contenant un volume de 100ml de milieu de culture de production stérile (annexe1) les fioles erlenmeyer sont inoculées avec une colonie bactérienne prélevée à partir d'une culture jeune (moins de 18h), incubées à température ambiante sous une agitation de 100rpm, pendant un intervalle de temps de 24h. (**Refas.F,2017**).

La récupération de la cellulase par un prélèvement de 1ml de la culture des souches sélectionnées productrices de la cellulase, inoculé dans le milieu de fermentation est récolté dans un eppendorf stérile, soumis à une centrifugation de 10000 g, à une température de 4°C, pendant un intervalle de 10minutes. le surnageant obtenus est utilisée comme source de la cellulase brute (**shoham et al.,1999**).

5.2.2. caractérisation de cellulase

La valeur du pH optimale de l'activité de la cellulase chez les souches sélectionnées est déterminée par l'incubation d'un volume de 0,5ml du surnageant contenant la cellulase avec une solution tampon de phosphate de 0,05M à 1% de cellulose, ajustée à différentes valeurs de pH (5, 6, 7, 8, 8.5). La réaction est amorcée par l'incubation du mélange réactionnel à une température de 50°C pendant 30 minutes et l'activité de la cellulase est mesurée par la méthode de la DNS.

La température optimale de l'activité de la cellulase chez les souches sélectionnées est déterminée par l'incubation d'un volume de 0,5ml du surnageant contenant la cellulase avec une solution tampon de phosphate de 0,05M à 1% de cellulose, ajustée à une valeur de pH égale à 8. La réaction est amorcée par l'incubation du mélange réactionnel à des températures de (20-100°C) pendant 30 minutes et l'activité de la cellulase est mesurée par la méthode de la DNS (**ifran et al .,2012**).

5.3. La Kérotinase

5.3.1. la production de kérotinase

La production d'enzyme kérotinase a été réalisée dans le milieu basal en utilisant un ballon à secousses. 2,5 ml d'inoculum bactériens ont été ajoutés dans 50 ml de milieu et cultivés sur un incubateur à agitation rotatif (Stuart SI 500, UK) à 150 tr / min et 37° C pendant 72 h. Après incubation, le bouillon fermenté a été centrifugé à 5000 tr / min pendant 20 min à 4 ° C. Le surnageant acellulaire a été recueilli et utilisé pour le dosage de l'activité de la kérotinase. (**barman et al., 2007**)

5.3.2. caractérisation de la kérotinase

Le pH optimal pour l'activité enzymatique a été déterminé en incubant le mélange réactionnel à divers pH allant de 5 à 10 au bain-marie à agitation pendant 10 min à 40° C en utilisant un tampon Tris – HCl 0,05 M et l'effet de la température sur l'activité enzymatique a été vérifié par incubation du mélange réactionnel à des températures de 30 à 80 ° C (30, 40, 50, 60, 70, 80 ° C) en utilisant le même tampon pendant 10 minutes et dosé pour l'activité enzymatique. (**barman et al., 2007**)

5.4. Principe de la méthode DNS

Les sucres réducteurs libérés sont dosés par DNS suite à une réaction d'oxydo-réduction (figure15). La réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (3,5-DNS) jaune par les oses réducteurs en acide 3-amino 5-nitrosalicylique entraîne l'apparition d'une coloration orange stable proportionnelle à la quantité des sucres réducteurs présents dans le milieu (**Summer et Somers, 1944**).

La réaction enzymatique est arrêtée par addition de 1,5 ml d'une solution à base d'acide dinitrosalicylique (DNS) (Annexe II), puis le mélange est porté à ébullition pendant 5 min. Le témoin correspond à un blanc (une solution de substrat incubée sans l'enzyme), puis 1,5 ml de DNS sont ajoutés et portés à ébullition pendant 5min. Après refroidissement, la densité optique est mesurée à 550 nm contre le blanc (**yahia et al., 2015**) . une unité d'enzyme est définie comme étant la quantité d'enzyme qui permet la libération d'une micromole de 1 µmol de glucose à partir de substrat par minute (**bayda ,2018 ;maktouf,2013**).

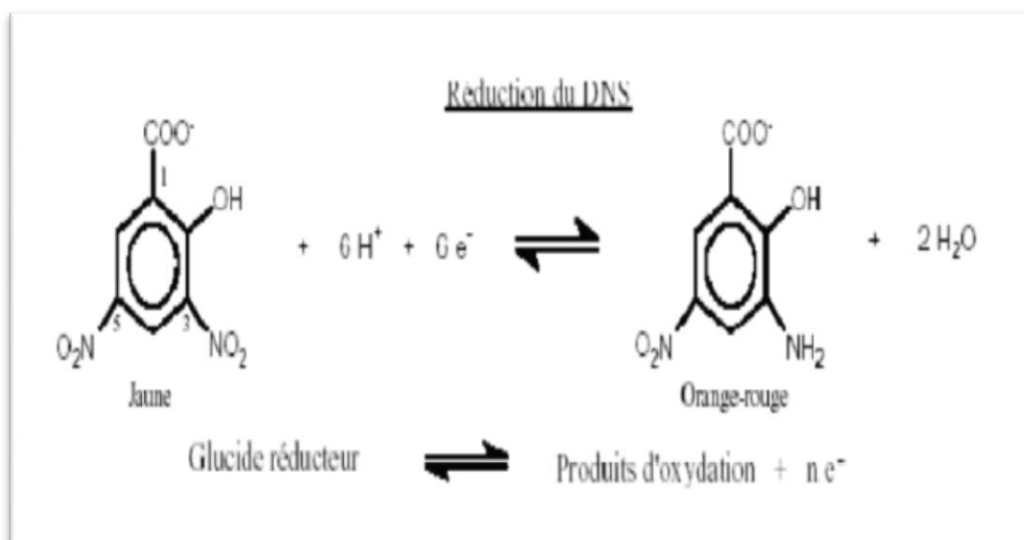


Figure 15. Principe du dosage des sucres réducteurs par la méthode DNS. (baily, 1996).

La quantité des sucres réducteurs libérée est déterminée par rapport à une gamme étalon de glucose raison de traduire les valeurs d'absorbance en concentration (exprimée en g/L), une courbe de calibrage est utilisée (annexe III). Cette courbe est présentée dans la Figure 16.

La formule utilisée pour le calcul est la suivante :

$$\text{Sucres réducteurs (g/L)} = \frac{\text{ABS mesurée} + c}{m}$$

Avec :

- Sucres réducteurs : quantité totale de sucres obtenue, en g/L.
- ABS mesurée : absorbance de l'échantillon à 550 nm de longueur d'onde.
- m : pente de la courbe de calibrage.
- c : ordonnée à l'origine de la courbe de calibrage.

Finalement, en remplaçant les valeurs obtenues sur la courbe de calibrage la formule devient :

$$\text{Sucres réducteurs (g/L)} = \frac{\text{ABS mesurée} + 0.0739}{1.0998}$$

L'activité enzymatique est calculée selon Bailey et collaborateurs en 1992 comme suit:

$$\text{activité enzymatique} = \frac{(C_x - C_t)D}{t}$$

C_x : Concentration des sucres réducteurs du mélange réactionnel ($\mu\text{mole/ml}$).

C_t : Concentration des sucres réducteurs du mélange témoin ($\mu\text{mole/ml}$).

D : facteur de dilution.

t : temps d'incubation (minutes).

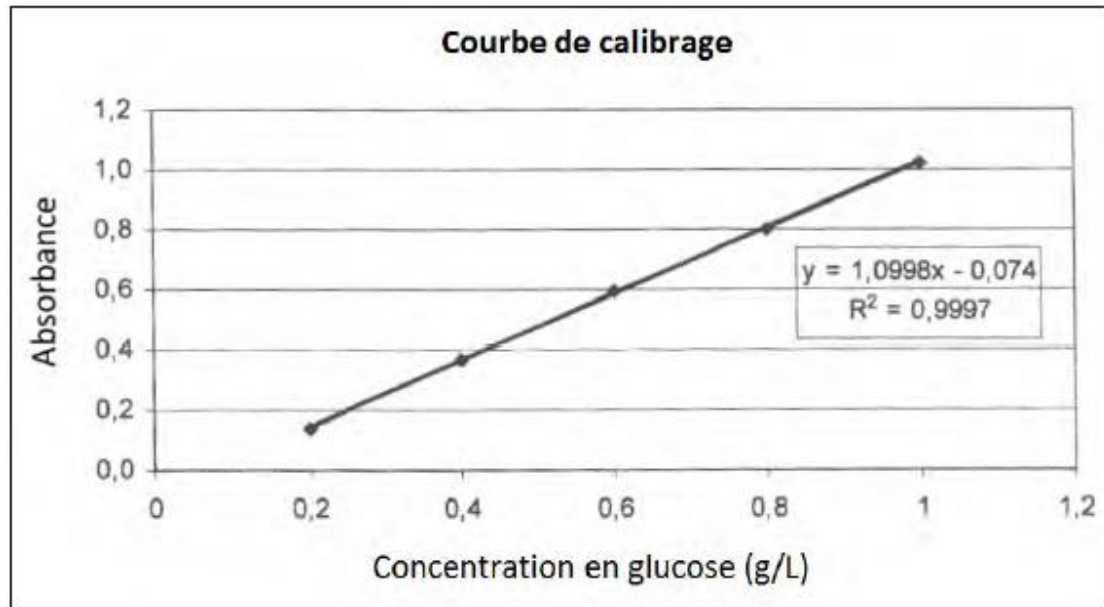


Figure 16. Courbe de calibration pour la détermination de la quantité de sucres réducteurs. (sauvageon, 2012).

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left side and rounded corners on the right. The text is centered within this border.

Résultats et discussion

1. Isolement d'actinomycètes

L'isolement des actinomycètes est réalisé à partir de nos échantillons de sol de sebkha, rhizosphère sedra, rhizosphère moringa, eau de Sidi Aissa, et de la grotte sur les trois milieux sélectifs (Gym, Bennet, ISP2).

Au bout du 3^{ème} jour d'incubation à 28°C les actinomycètes apparaissent, et se développent lentement. Les colonies d'actinomycètes ont été reconnues par leur aspect morphologique (elles apparaissent sèches, ronde, colorées, et adhèrent à la gélose).

Les résultats de l'isolement d'actinomycètes sont présentés dans le tableau N°13.

Tableau N°13 :L'isolement de souches actinomycètes à partir des échantillons de sol.

Echantillon		Sebkha Sa (Ba)	Sebkha Sb (Bb)	Sedra D	Grotte G	Moringa M	Eau de source E
Origine du sol		ADRAR	BOUGTOB	DAOUD	Vieux de SAIDA	ADRAR	Hamam SIDI-AISSA
Milieux utilisés et le nombre d'isolats obtenus	Bennet	1	1	0	11	0	60
	GYM	3	7	20	8	6	7
	ISP2	3	3	13	3	2	6

L'utilisation de certaines sources de carbone (amidon) et d'azote (caséine) ainsi que le carbonate de calcium dans le milieu GYM rend le milieu moins favorable à la croissance des bactéries autres que les actinomycètes et donc minimise les contaminants.

Les milieux Bennet et GYM permettent un bon isolement d'actinomycètes par rapport au ISP2 cela peut être dû à la richesse des deux premiers milieux en matière organique.

L'eau provenant de hammam Sidi-Aissa isolées sur les trois milieux donnés que sur le milieu Bennet et donne un bon rendement en actinomycètes par rapport aux autres.

Les résultats de **Kitouni (2007)** ont montré que CaCO_3 favorise la sporulation en augmentant le nombre des actinomycètes par rapport aux autres.

2. Caractérisation des actinomycètes

2.1. Etude morphologique

Les résultats de l'étude macromorphologique des souches d'actinomycètes sont résumés dans le tableau 14 et figure 17.

Tableau 14. Résultats de l'étude macromorphologique des souches d'actinomycètes.

Code des Souches	Milieu de culture	Couleur des colonies	L'aspect des colonies	Production de pigments diffusibles
M1	Gym	Blanche	poudreuse	-
M2	ISP2	Jaune	Rugueuse poudreuse	-
M3	ISP2	Grise Marron	Rugueuse poudreuse	+
Ba1	ISP2	Grise	poudreuse	-
Ba2	Gym	Blanche marron	poudreuse	+
D1	ISP2	Beige Blanche	Poudreuse	+
S1	Bennet	Marron clair Marron foncé	Lisse Brillante	-
S2	Gym	Noire	Lisse	-

Code des Souches	Milieu de culture	Couleur des colonies	L'aspect des colonies	Production de pigments diffusibles
S4	Gym	Grise	Lisse Brillante	-
S5	Bennet	Rouge, Rose	Rugueuse	-
S6	ISP2	Grise, Beige	Rugueuse	+
S7	Bennet	Marron	Rugueuse	+
S8	ISP2	Blanche	Poudreuse	-
S9	Bennet	Blanche, Marron	Poudreuse	-
S10	Bennet	Blanche, Grise	Rugueuse	-
S11	Bennet	Blanche, bleu	Lisse	-
S12	Bennet	Beige, Jaune	Lisse	-
S13	Bennet	Beige	Lisse brillante	-
S14	Gym	Beige	Lisse brillante	-
S15	Bennet	Grise, blanche	Lisse	-

(+) : présence de pigmentation, (-) : absence de pigmentation.

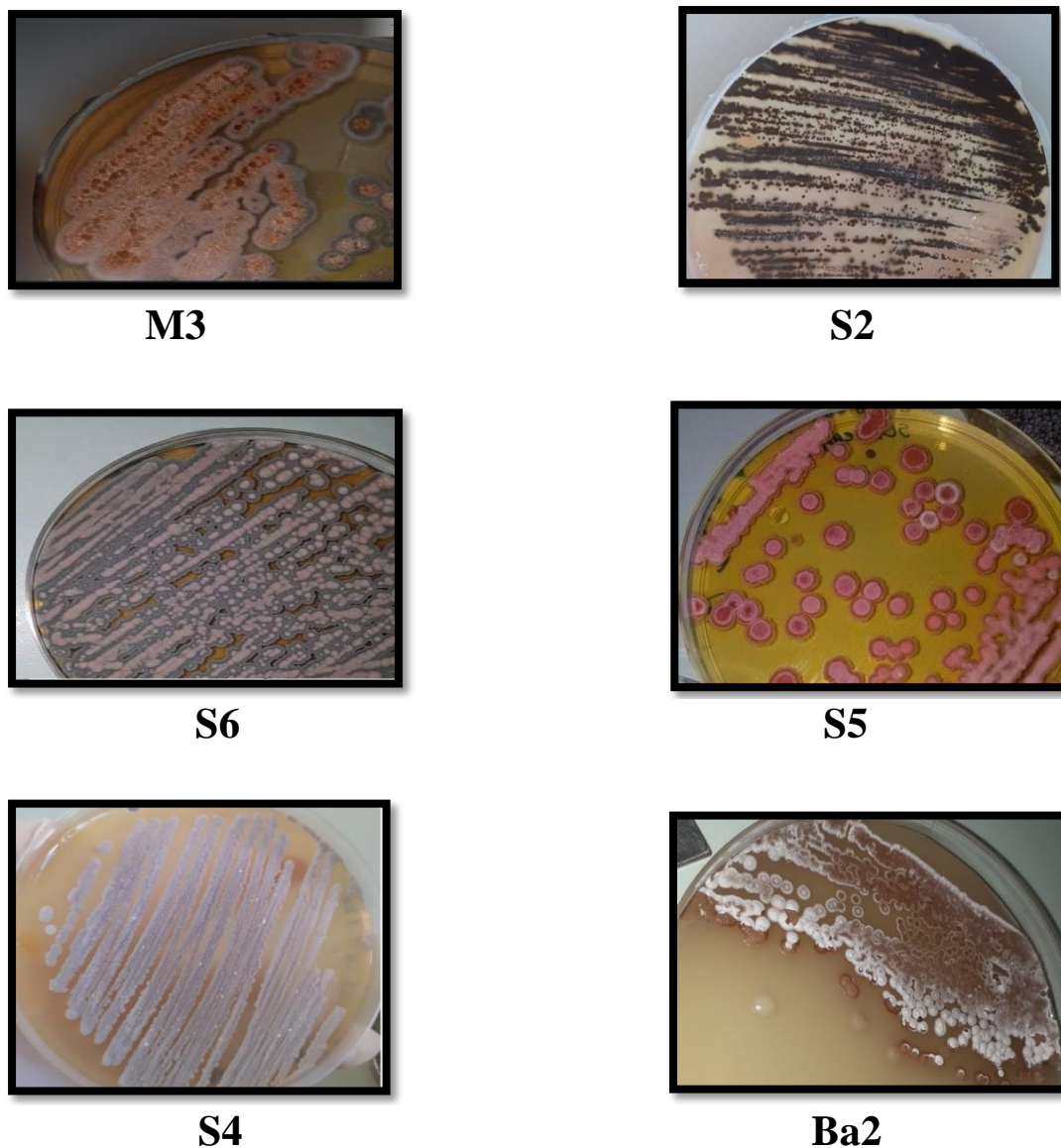


Figure 17. Aspect des colonies des souches M3, S2, S4, S5, S6, Ba2 sur les trois milieux (Gym, Bennet, ISP2).

Djaballah (2010) a trouvé les couleurs de la plupart des colonies sont marron et beige et parmi les 27 souches 13 produisent un pigment diffusible sur les milieux.

Aouar (2006) a montré les couleurs de la plupart des colonies sont beige et blanche.

2.2. Coloration de Gram

D'après la coloration de Gram, l'observation microscopique montre que la plupart des Souches d'actinomycètes isolées et purifiées sont des bactéries de Gram positive. (Figure 16).

Aouiche et al., (2012), Rosilma et al., (2016) ont confirmé que tous les actinobactéries sont de Gram positive.

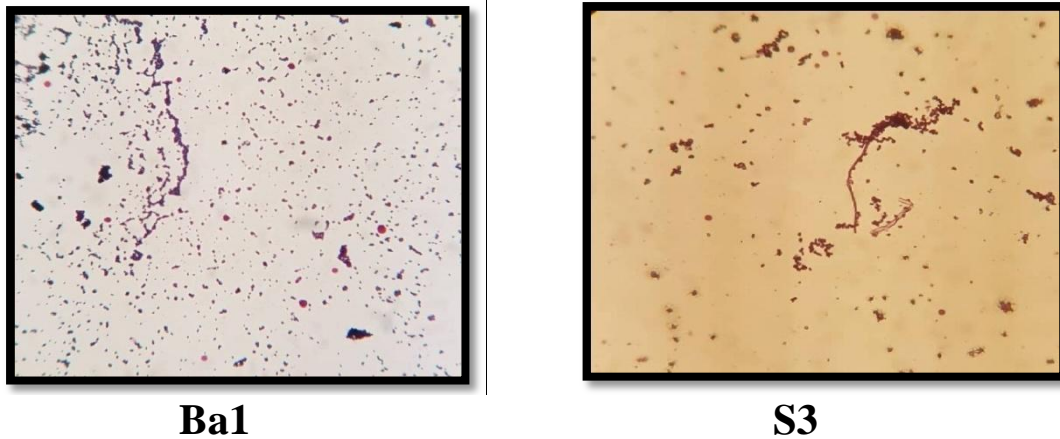


Figure 18. observation des souches d'actinomycètes après coloration de gram(Gx100)

3. Les résultats d'activités enzymatiques des isolats d'actinomycètes

3.1. Activité amylolytique

Après addition du Lugo, l'apparition d'un halo clair autour de la colonie traduit la dégradation de l'amidon.

Alkama et al.,(2014) ont obtenu que 11 souches sur 20 présentent une activité amylolytique sur le milieu à base d'amidon.

Saci (2012) a obtenu que 15 souches sur 18 présentent une activité amylolytique sur le milieu à base d'amidon.

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 50 et 70% des souches possèdent une activité amylolytique.

3.2. Activité protéolytique

L'apparition de toute zone claire autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la caséine.

Alkama et al.,(2014) ont obtenu que 12 souches sur 20 possèdent une activité protéolytique.

Gulve et Deshmukh (2011) ont obtenu que 76 souches sur 90 possèdent la capacité à dégrader la caséine.

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 60 et 80% des souches possèdent une activité protéolytique.

3.3. La dégradation de gélatine

Cette activité se traduit par l'apparition d'un halo clair entourant la colonie après l'ajout d'une solution de chlorure de mercure.

Parmi les 35 souches d'actinomycètes **Bouzigha et Bouchiba (2017)** ont obtenu 07 souches ont pu produire l'enzyme gélatinase.

Alkama et al.,(2014) ont obtenu que 17 souches sur 20 ont pu produire l'enzyme gélatinase.

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 20 et 80% des souches ont pu produire l'enzyme gélatinase.

3.4. Activité de la catalase

Hamoudi (2011) a obtenu un résultat positif pour toutes les souches (20 souches).

Parmi les 10 souches **Belyagoubi (2014)** a obtenu 9 souches ont un catalase positive.

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 90 et 100% des souches ont un catalase positive.

3.5. Activité cellulolytique

Cette activité se traduit par digestion du papier Whatman indiquant que les souches testées possèdent l'enzyme responsable de l'hydrolyse de la cellulose (cellulase).

Alkama et al.,(2014) ont obtenu que 15 souches sur 20 présentent une activité cellulolytique.

yous (2017) a obtenu un résultat positif pour toutes les souches. (Toutes les souches présentent une activité cellulolytique).

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 80 et 100% des souches présentent une activité cellulolytique.

3.6. Activité kératinolytique

La capacité de dégradation des plumes de poulet par la souche a été inspectée visuellement par rapport au témoin.

Parmi les 9 souches **Selvam et al.,(2012)** ont montré une dégradation de Plume chez 3 souches.

Singh et al.,(2012) ont obtenu que 29 souches sur 35 présentent une activité kératinolytique.

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 30 et 80% des souches présentent une activité kératinolytique.

3.7. La recherche de lipase

Cette activité se traduit par la présence d'un halo autour des colonies indique la dégradation des acides gras.

Gunalakshmi et al.,(2008) ont obtenu que 3 souches sur 20 ont pu produire l'enzyme lipase.

Al-Dhabi et al.,(2019) ont obtenu que 41 souches sur 109 ont pu produire l'enzyme lipase.

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 15 et 38% des souches ont pu produire l'enzyme lipase.

3.8. Activité pectinolytique

L'apparition d'un halo claire autour de la colonie indique la présence d'une activité pectinolytique.

Alkama et al.,(2014) ont obtenu que 12 souches sur 20 présentent une activité pectinolytique.

Salehghamari et al.,(2019) ont obtenu que 15 souches sur 35 présentent une activité pectinolytique.

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 40 et 60% des souches présentent une activité pectinolytique.

3.9. Activité xylanolytique

Après addition du rouge Congo et lavage avec une solution de NaCl 1M, l'apparition d'un halo autour de la colonie indique la présence d'une activité xylanolytique.

Ninawe et al.,(2006) ont obtenu que 69 souches sur 88 présentent une activité xylanolytique.

Robl (2019) a obtenu un résultat positif pour toutes les souches. (Toutes les souches présentent une activité xylanolytique).

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 80 et 100% des souches présentent une activité xylanolytique.

3.10. Teste de nitrate réductase

Cette activité est traduite par une réaction colorée en rouge après l'ajout des deux réactifs qui sont le nitrate réductase 1 et le nitrate réductase 2.

Alkama et al.,(2014) ont obtenu que 9 souches sur 20 présentent une réduction du nitrate.

Amara et al.,(2019) ont obtenu que 3 souches sur 4 présentent une réduction du nitrate.

D'après les résultats précédents on pense obtenir entre 45 et 75% des souches présentent une réduction du nitrate.

4. Caractérisation des enzymes

4.1.Amylase

Santos et al.,(2012) ont montré la meilleure activité α -amylase à 50° C et pH 7,0 .

Ragunathan1 and Padhmadass (2013) ont trouvé que la température optimale pour l'activité de l'amylase à 40° C et le pH optimale à 7,0 pour toutes les souches.

D'après les résultats précédents on pense obtenir la température optimale pour l'activité de l'amylase situé entre 40° C et 50° C et le pH optimal à 7,0.

4.2. Cellulase

Soeka et al.,(2019) ont trouvé la température optimale pour l'activité de la cellulase à 35 ° C et 50 ° C et le pH optimal à 6,0 et 8,0.

Hamoudi (2011) a trouvé la température optimale pour l'activité de la cellulase à 50 ° C et 60 ° C et le pH optimal à 6,0 et 8,0.

D'après les résultats précédents on pense obtenir la température optimale pour l'activité de la cellulase à 35 ° C, 50 ° C, et 60 ° et le pH optimal à 6,0 et 8,0.

4.3. Kératinase

Gong et al.,(2015) ont montré la meilleure activité de la kératinase à 75° C et pH 12,0.

Habbeche et al.,(2014) ont trouvé la température optimale pour l'activité de la kératinase à 70 ° C et le pH optimal à 10,0.

D'après les résultats précédents on pense obtenir la température optimale pour l'activité de la kératinase situé entre 70° C et 75° C et le pH optimal situé entre 10, 0 et 12,0.

A decorative horizontal border with a scroll-like appearance, featuring rounded ends and a slight shadow effect. The text is centered within this border.

Conclusion et perspective

Parmi les nombreuses propriétés des actinomycètes, nous signalons leur capacité à produire une variété de substances intéressantes du point de vue industriel. Les enzymes occupent une place importante après les antibiotiques chez ce groupe de microorganismes. Les actinomycètes provenant des écosystèmes extrêmes où les conditions physicochimiques sont défavorables à la vie de la plupart des microbes, ont montré toujours une très grande capacité de productions de métabolites bioactives intéressantes.

Dans ce travail nous avons procédé à l'isolement des actinomycètes à partir de six écosystèmes différents de l'Algérie (sol salin, sol rhizosphérique, sol d'une grotte et l'eau thermale). Trois milieux de cultures (GYM, Bennet et ISP2) sont utilisés pour réaliser l'isolement afin d'avoir une grande diversité des souches.

Un total de 154 isolats est obtenu sur les différents échantillons et sur les différents milieux de culture. Le taux le plus important des isolats (60) est obtenu dans l'échantillon de l'eau thermale de Sidi Aissa (Wilaya de Saida) sur le milieu Bennet. 20 isolats sont, ensuite, purifiés et passés à une identification morphologique macroscopique et microscopique ainsi qu'une mise en évidence de leur activité enzymatique. Nous avons procédé à la recherche des enzymes suivantes : amylase, cellulase, xylanase, pectinase, lipase, caséinase, gélatinase, nitrate réductase, catalase, kératinase. Vu les conditions et le confinement dû à la pandémie causée par le COVID19 on n'était pas capable de lire les résultats des tests réalisés donc on a supposé des hypothèses et des résultats probables comme suivant :

Les tests de mise en évidence des activités enzymatiques réalisés ont exceptés de montrer que 80 à 100% cellulase et xylanase positive, presque 100% catalase positive, entre 20 % à 80% gélatinase et kératinase positive, entre 40% à 75 % pectinase et nitrate réductase positive, entre 15 % à 38% lipase positive, entre 60% à 80% protéase positive et entre 50% à 70% amylase positive.

Les tests de caractérisation des enzymes ont exceptés de montrer que la température optimale pour l'activité de l'amylase est entre 40 °C et 50 °C et le pH optimale est 7, pour la cellulase la température optimale est entre 35 °C et 60 °C et le pH optimale varie entre 6 à 8, pour les kératinase la température optimale de l'activité est entre 70 °C 75°C et le pH optimale est entre 10 à 12.

Les résultats exceptés dans la présente étude et leur interprétation écologique et biotechnologiques peuvent cependant constituer une source importante de nouvelles informations sur l'activité potentielle des enzymes des actinomycètes dans les langues

et donc dans le processus de transformation de la matière organique dans ces écosystèmes ainsi que les modalités d'exploitation de ces processus.

A l'issue de ce travail, nous émettons quelques réflexions et voies d'investigations sous forme de perspectives pour une meilleure exploitation de ces résultats et travaux préliminaires:

- Refaire les tests des activités enzymatiques et les tests de caractérisation des enzymes pour confirmer les résultats exceptés.
- Approfondir les tests d'identification pour les isolats étudiés (chimiotaxonomiques et moléculaires) afin de les affilier aux espèces correspondantes.
- Purifier les enzymes pour mieux les caractériser et envisager leur utilisation soit dans l'amélioration de la digestibilité en alimentation animale ou dans les procédés industriels.
- Tester les souches sur différents déchets organiques pour rentabiliser la production des différents enzymes.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both featuring a slight shadow and rounded ends. The text is centered within this border.

Référence bibliographique

1. **A. Dhillon, K. Sharma, V. Rajulapati, A. Goyal.** (2016). Proteolytic Enzymes. current developments in biotechnology and bioengineering,149-175.
2. **Agnan Marie Michel Combo, Mario Aguedo, Michel Paquot.** (2011). Les oligosaccharides pectiques : production et applications possibles. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **15**(1), 153-164.
3. **Allah Antoine Assamoi, Jacqueline Destain, Philippe Thonart.** (2009). Aspects microbiologiques de la production par fermentation solide des endo- β -1,4-xylanases de moisissures : le cas de *Penicillium canescens*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **13**(2), 281-294p.
4. **Amara souhila, Boukhorsa Abd-El-karim.** (2019). Isolement et caractérisation des Actinomycètes productrices des antibiotiques et des lipides, et mise en évidence de leurs pouvoirs antibactériens vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*. Mémoire de master. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis, 89p.
5. **AminaHabbeche ,BoudjemaSaoudi ,BassemJaouadi ,SoumayaHaberra S.Sudha and L.Kannan.**(2008).research journal of microbiology.3(2),73-81.
6. **Andrew G, McDonald and Keith F. Tipton.** (2013). Fifty-five years of enzyme classification: advances and difficulties. *FEBS Journal* **281**, 583–592p.
7. **Annie Deborah Harris, C. Ramalingam.** (2010). Xylanases and its application in food industry. *Journal of Experimental Sciences*, **1**, 01-11p.
8. **Aouiche A., Sabaou N., Meklat A., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A.** (2012). Activité antimicrobienne de *Streptomyces* sp. d'origine saharienne contre divers microorganismes cliniques et toxinogènes résistants aux antibiotiques. *Journal de Mycologie Médicale* : **22**, 42-51.
9. **Audrey Ducharme.**(2013).augmentation de la résistance à la gale commune de cultivars de pomme de terre par l'habituation et la sélection de cellules somatique. Mémoire de master. Canada : Université de Sherbrooke, 79.
10. **B. Deivasigamani, K.M. Alagappan.** (2008). Industrial application of keratinase and soluble proteins from feather keratins. *J. Environ. Biol*, **29**(6), 933-936p.
11. **B.Gunalakshmi;MaloyKumarSahu ;K.Sivakumar ;T.Thangaradjou ,Bilal Kerouaz ,MokhtarBoudelaa ,AbdelmalekBadis ,AliLadjama.**(2014). Purification and biochemical characterization of a detergent-stable keratinase

- from a newly thermophilic actinomycete *Actinomadura keratinilytica* strain Cpt29 isolated from poultry compost. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 117, 413-421p.
12. **Bakdi Katia**.(2016). Evaluation de l'activité antimicrobienne et de la capacité de production enzymatique des Actinomycètes. Mémoire de master. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, 131.
 13. **Baydaa A. Hassan, Nibras yahya alsalami, Mohammed A. Jebor**. (2018). Amylase production , purification and characterization from *Escherichia coli*. *Pharm. Sci. & Res.* Vol. 10(7) 1691-169.
 14. **Belyagoubi Larbi**.(2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat. Tlemcen : Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, 209.
 15. **Benouaguni Sarah**. (2015). recherche de nouvelles souches d'actinomycètes productrice de molécules antifongique .Thèse de doctorat. Annaba : Université Badji Mokhtar, 194.
 16. **Benzekhroufa Ahlem**. (2008). Contribution à l'étude cinétique des extraits enzymatiques de quelques de *Streptomyces* isolées du sol de la région de Mostaganem. Mémoire de master. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 80p.
 17. **Beti Vidmar , Maša Vodovnik**.(2018). Microbial Keratinases: Enzymes with Promising Biotechnological Applications.*Food Technol. Biotechnol.*56(3), 312-328.
 18. **Boucheffa, K**. (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques :Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits. Mémoire de Magister. En microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes. Université Abderrahmane Mira Bejaia. P : 3-15.
 19. **Boucherba Nawel, Benallaoua Said, Copinet Estelle, Hebal Hakim, Francis Duchiron**.(2010). Production and partial characterization of xylanase produced by *Jonesia denitrificans* isolated in Algerian soil. *Process Biochemistry*, 46, 519–525p.
 20. **Boudjella H., Bouti K., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N**. (2007). Isolation and partial characterization of pigment-like antibiotics

- produced by a new strain of *Streptosporangium* isolated from an Algerian soil. J. Appl. Microbiol, 103, 228–236p.
21. **Boughachiche,f.**(2012). Étude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre Streptomyces, isolées de Sebka. thèse de doctorat. Constantine : Université Mentouri- Constantine.
 22. **Boulahrouf A., Fonty G. et Gouet P.** (1986). Study of plant cell wall polysaccharides degrading bacteria in the digestive tract of rabbit and mice. In: “Proceeding of International Seminary on biology of anaerobic bacteria.” Eds : Dubourguier H.C. Edition Elsevier-Amsterdam.
 23. **Bouzigha Nardjess, Bouchiba Samira.**(2017). Diversité métabolique et physiologique de quelques souches d’actinomycètes. mémoire de master. Constantine : université Mentouri Constantine,79.
 24. **Bushra Maryam.,Abdul Qadir., Mariam Zameer.,Sajid Rashid Ahmad., Rubina Nelofer.,Nadia Jamil., Sameen Arzoo.,and Rubab Afzaal .** (2018). Production of Cellulases by Bacillus cellulosilyticus Using Lignocellulosic Material. Pol. J. Environ. Stud, 27(6), 2659–2667p.
 25. **Camille D.** (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire p, 248, 250, 296, 320, 341, 359, 476.
 26. **Cheriet Meriem, Amari Sihem, Benmammar Yasmine.** (2016).Étude de quelques activités enzymatiques d’une collection d’actinomycètes. Mémoire de master. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine ,102p.
 27. **Cindy Dallaire.**(2008). les agents pathogènes (*streptomyces* et *spongospora*) responsables des gales que l’on retrouve chez la pomme de terre. ministère de l’agriculture des pêcheries et de l’alimentation Québaec,8.
 28. **D. J. Bagyaraj, G. Rangaswami.** (2007). agricultural microbiology. 2ème édition. new delhi. prentice hall of india, 206-207p.
 29. **D. Lahiani , CH. Marrakchi,E. Elleuch,B. Hammami,M. Koubaa, F. Smaoui,F. Karray,A. Hammami,et M. B. Jemaa.**(2019). une nocardiose systémique révélant une infection rétrovirale a systemic nocardiosis revealing an infection by the human immunodeficiency virus. J.I. M. Sfax, n°32,64-69p.
 30. **D.R. Kashyap , P.K. Vohra , S. Chopra , R. Tewari.**(2001). Applications of pectinases in the commercial sector. Bioresource Technology 77 ,215-227p.

31. **Danielle Biscaro Pedrolli, Alexandre Costa Monteiro, Eleni Gomes and Eleonora Cano Carmona.** (2009). Pectin and pectinases: production, characterization and industrial application of microbial pectinolytic enzymes. *The Open Biotechnology Journal*, 3, 9-18p.
32. **David Guerrand.** (2017). Lipases industrial applications: focus on food and agroindustries. *OCL*, 24(4), 1-7p.
33. **Dellaras C.** (2007) *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de controle sanitaire*, Tec & doc Lavoisier.P.
34. **Diogo Robl.** (2019). Endophytic actinomycetes as potential producers of hemicellulases and related enzymes for plant biomass degradation. *Braz. arch. biol. Technol.* 62, 29p.
35. **Djaballah chamsseddine.**(2010).biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolé de la Sbekha de Ain L'Milla .mémoire de magister. Constantine : université Mentouri Constantine,102.
36. **Dr Kiro Mojsov.** (2012). Microbial α -amylases and their industrial applications. *International Journal of Management, IT and Engineering*, 2,583-609p.
37. **Dushyant Kumar, Smita S. Kumar, Jagdeesh Kumar, Om Kumar, Shashi Vind Mishra, Rahul Kumar and Sandeep K. Malyan.** (2017). Xylanases and their industrial applications. *Biochem. Cell. Arch*, 17, n° 1, 353-360p.
38. **Édilla Ribeiro dos Santos; Zozilene Nascimento Santos Teles; Núria Mariana Campos; Diogo Angeli Jacinto de Souza; Aline Simões da Rocha Bispo; Rodrigo Pires do Nascimento.** (2012). Production of α -amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 strain using agro-industrial by-products. *Braz. arch. biol. technol.* vol.55 no.5.
39. **Ensieh Salehghamari, Zohre Nasrollahzadeh, Mohammad Tahmaseb, Mohammad Ali Amoozegar.**(2019). Pectinase enzyme from *Streptomyces coelicoflavus* GIAL86 isolated from Meyghan Salt Lake, Arak, Iran. *Int. J. Aquat. Biol.* 7(2), 106-111.
40. **Essaid Ait Barka, Parul Vatsa, Lisa Sanchez, Nathalie Gaveau-Vaillant, Cedric Jacquard, Hans-Peter Klenk, Christophe Clément, Yder Ouhdouch, Gilles P, van Wezel.** (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of *Actinobacteria*. *Microbiol Mol Biol Rev*, 80, n°1, 43p.

41. **Florent Valour, Agathe Sénéchal, Céline Dupieux, Judith Karsenty, Sébastien Lustig, Pierre Breton, Arnaud Gleizal, Loïc Bousset, Frédéric Laurent, Evelyne Braun, Christian Chidiac, Florence Ader, Tristan Ferry.** (2014). Actinomycosis: etiology, clinical features, diagnosis, treatment, and management. *Infection and drug resistance*, 7,183-197p.
42. **G. Vonothini, M. Murugan, K. Sivakumar and S. Sudha.** (2008). Optimization of protease production by an actinomycete strain ,PS-18A isolated from an estuarine shrimp pond. *African Journal of Biotechnology*, 7 (18), 3225-3230p.
43. **Ganesh D. Saratale, Rijuta G. Saratale, Sang Eun Oh.** (2012). Production and characterization of multiple cellulolytic enzymes by isolated *Streptomyces* sp. MDS. *biomass and bioenergy*, 47, 302-315p.
44. **Garrity G.M., Bell J.A. and Lilburn T.G.** (2004). Taxonomic Outline of the prokaryotes. In : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Springer-Verlag. New York.
45. **Girisha Malhotra, Shilpa S. Chapadgaonkar.** (2018). Production and applications of xylanases. *Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology*, 99(1), 59–72p.
46. **Gordon R.E. and Smith M.M.** (1954). Proposed group of characters for the separation of *Streptomyces* and *Nocardia*. *J. Bacteriol.* **69**,147-150.
47. **Guiraud .J & P .Duriod.** (2003) *Microbiologie alimentaire*. Ed. Dunod, 188-193p.
48. **Guiraud J. P.** (1998). Techniques d'analyses microbiologiques. *In: microbiologie alimentaire*. Dunod, paris. 168-333.
49. **Gulve R. M. and Deshmukh A. M.,** (2011). Enzymatic activity of actinomycetes isolated from marine sediments. *Recent Reserch in Science and technology*. **3(5)**, 80-83.
50. **H.J.M. Pasindu Chamikara.** (2016). Advanced Study on selected taxonomic groups of Bacteria and Archaea, Actinomycetes. B.Sc.(UG) Microbiology (Sp), University of Kelaniya, Sri Lanka,11p. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/308900787_Actinomycetes.
51. **Habbeche Amina.(2014).** Purification et caractérisation d'une kératinase thermostable KERAK-29 chez une nouvelle souche d'Actinomycète. thèse de doctorat. Annaba : Université Badji Mokhtar,167.

52. **Hamoudi Houria.** (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices de cellulases industrielles. Mémoire de magister. Bejaia : Université A.Mira de Bejaia, ,101p.
53. **Harouna Maidoukia Abdoul Razack ;Alkama Mounira.**(2014). Etude de quelques activités enzymatiques des actinomycètes isolés de deux écosystèmes extrêmes dans le sud Algérien. mémoire de Master.Constantine : université constantine,65.
54. **Henry Eric Spinnler.** (2013). Enzymes d'intérêt pour la fabrication d'aliments. Techniques de l'Ingénieur, 1-17p.
55. **Holt J.G,Wang L,Rodriguez c,Quintana E ,Goodfellow M and Liu Z.**(2004). streptacidiphilus jiangxiensis sp.nov, a novel actinomycetes isolated from acidic rhizosphere soil in china. Antonie van leeuwenhoek, 86.159-165.
56. **Hopwood D.A.** (2007). streptomyces in nature and medicine, the antibiotic makers.oxford university press édition.
57. **Huang Y., Cui Q., Wang L., Rodriguez C Quintana E., Goodfellow M. and Liuz.** (2004). Streptacidiphilus jiangxinensis sp. nov., a novel actinomycete isolated from acidic rhizosphere soil in china. Antonie van Leeuwenhoek, 86,159-165.
58. **ifran.m.,safdar.a.,syed.q.,nadeem.m.**(2012.).isolation and screening of cellulolytic bacteria soil and optimization of cellulose production and activity. turkish journal of biochemistry-turk j biochem 37 (3);287-293.
59. **Isiaka A. Adelere, Agbaje Lateef.** (2016). Keratinases: emerging trends in production and applications as novel multifunctional biocatalysts. Kuwait J. Sci, 43 (3), 118-127p.
60. **J. Ambrosioni, D. Lew, J. Garbino.** (2010). Nocardiosis: Updated Clinical Review and Experience at a Tertiary Center. Updated Clinical Review, 9p.
61. **Jean Hamburger.** (1991).dictionnaire de médecine Flammarion. France, 4 rue casimir-Delavigne 75600 paris, 857p.

62. **Jin-Song Gong, Yue Wang, Dan-Dan Zhang, Rong-Xian Zhang, Chang Su, Heng Li, Xiao-Mei Zhang, Zheng-Hong Xu and Jin-Song Shi.**(2015). Biochemical characterization of an extreme alkaline and surfactant-stable keratinase derived from a newly isolated actinomycete *Streptomyces aureofaciens* K13. *Journal of RSC advances*.
63. **K. Selvam, B. Vishnupriya and M. Yamuna.** (2013). Isolation and description of keratinase producing marine actinobacteria from South Indian Coastal Region. *African Journal of Biotechnology*. 12(1), 19-26.
64. **K. Tamreihao, Saikat Mukherjee, Rakhi Khunjamayum, Laishram Jaya Devi, Roshan Singh Asem, Debananda S. Ningthoujam.** (2018). Feather degradation by keratinolytic bacteria and biofertilizing potential for sustainable agricultural production. *J Basic Microbiol*, 59,4–13p.
65. **Kadija Tul Kubra, Sikander Ali, Manam Walait, Hira Sundus.** (2018). Potential applications of pectinases in food, agricultural and environmental sectors. *Journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences*, 6(2) ,23-34p.
66. **Keith F.chater ; Govind C.** (2013).Developmental biology of *Streptomyces* from the perspective of 100 actinobacterial genome sequences. *FEMS Microbiology Reviews*, 38,345–379.
67. **Kitouni Mahmoud.** (2007). isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches active et caractérisation préliminaire des substances élaborés. thèse de doctorat. Constantine : Université Mentouri Constantine, 205p.
68. **Kunal Madhav, Satish Verma, Ritu Tanta.** (2011). Isolation of amylase producing *Bacillus* species, from soil sample of different regions in Dehradun and to check the effect of pH and Temperature on their amylase activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 12(3) ,1-8p.
69. **Lamia Aouar.**(2006). Mise en évidence des actinomycètes aérobies pathogènes impliqués dans les infections traitées au service des maladies infectieuses du CHU de Constantine. Etude des caractéristiques culturelles des souches isolées et purifiées. Mémoire de magister. Constantine : université Mentouri Constantine,101.

70. **Levreau J. Y. and Buix M.**(1993). Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Lavoisier, Paris. Ch : 6 425-481. Technique et documentation. Lavoisier. Paris.
71. **M. Karmakar , R.R. Ray.** (2010). Current trends in research and application of microbial cellulases. *Research Journal of Microbiology*, 6, 41-53p.
72. **Mabrouka Benhadj, Djamila Gacemi-Kirane, Taha Menasria, Khaoula Guebla, Zina Ahmane.** (2019). Screening of rare actinomycetes isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities. *Journal of King Saud University – Science* 31, 706–712p.
73. **MAKTOUF Sameh .**(2013).Activités amylase et lichenase d'une nouvelle souche de Bacillus Production sur milieu solide et caractérisation.thèse de doctorat.université de toulouse .p:65.
74. **Manceur Yassmina, Djaballah Salwa.**(2016). Analyse microbiologique de l'eau distribuée dans la ville de Tébessa. Mémoire de master. Tébessa : Université Larbi Tébessi,75.
75. **Marchal, N., Bourdon, J. L.** (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin éditeurs –Paris. 509p.
76. **Margaroni Fialho de Oliveira, Mariana Germano da Silva, Sueli T. Van Der Sand.** (2010). Anti-phytopathogen potential of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in southern Brazil, and
77. **Merizig Hanane, Naami Fatima.**(2015). Etude taxonomique de quelques souches d'actinomycètes isolées de la région d'Ouargla. Mémoire de master. Ouargla : universite kasdi merbah Ouargla, 118.
78. **Meziani Amina, Mahcene Hadjer.** (2017). Activités hydrolases des souches fongiques. Production par fermentation de cellulase et d' α -amylase par *Penicillium. sp* sur substrat solide. Mémoire de master. Constantine : université mentouri-constantine, 81p.
79. **Mocheva P., Tishkov S., Dimitrova N., Chipeva V., Antonova-Nikolova S. & Bogatzevska N.** (2002). Characteristics of actinomycetes from Antarctica.J. Cult.Collect. 3, 3-14.
80. **Morakchi Houda.** (2011).isolement et identification de souche d'actinomycètes productrice de molécule bioactive au niveau du lac Oubeira : étude morphologique, physiologique, moléculaire et spectre d'activité. Thèse de doctorat. Annaba : Université Badji Mokhtar, 129.

81. **Muhammad Imran, Zahid Anwar, Muhammad Irshad, Muhammad Javaid Asad, Hassan Ashfaq.** (2016). Cellulase Production from Species of Fungi and Bacteria from Agricultural Wastes and Its Utilization in Industry. *Advances in Enzyme Research*, 4, 44-55p.
82. **Mukesh Sharma, Pinki Dangi and Meenakshi Choudhary.** (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their applications. *International journal of current microbiology and applied sciences*, 3, n°2,801-832p.
83. **Naif Abdullah Al-Dhabi, Galal Ali Esmail, Abdul-Kareem Mohammed Ghilan, Mariadhas Valan Arasu.**(2020). Isolation and screening of *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-49 from the environment of Saudi Arabia with concomitant production of lipase and protease in submerged fermentation. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27, 474–479.
84. **Nathalie Beaudoin, Carole Beaulieu, Dominique Michaud et André Gagnon.**(2016). amélioration de la résistance à la gale commune de la pomme de terre par la production de somaclones chez des variétés cultivées au québec. ministère de l’agriculture des pêcheries et de l’alimentation Québec, 3.
85. **Neha Thakur, Meghna Goyal, Saweta Sharma and Dinesh Kumar.**(2018). Proteases: Industrial Applications and Approaches used in Strain Improvement. *Biological Forum – An International Journal* .10(1),158-167.
86. **Nisha Sharma, Nivedita Sharma.** (2017). Microbial xylanases and their industrial applications as well as future perspectives. *G.J.B.A.H.S* ,6(3) ,5-12p.
87. **Nishant Shahi, Adria Hasan, Salman Akhtar, M. Haris Siddiqui, Usman Sayeed, and M. Kalim A. Khan.** (2016). Xylanase: A promising enzyme. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(3) ,334-339p.
88. **Oliyad Jeilu Oumer.** (2017). Pectinase: Substrate, Production and their Biotechnological Applications. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2,1007-1014p.
89. **Oskay M, Tamer A, and Azeri C.** (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afr J. Biotechnol*, 3 (9), 441-446p.
90. **Parija SC.** (2009).textbook of microbiology and immunology .1st edition.p:409

91. **Patrick Fickers, Jacqueline Destain, Philippe Thonart.** (2008). Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 12(2), 119-130p.
92. **Paula Monteiro de Souza, Pérola de Oliveira e Magalhães.** (2010). Application of microbial α -amylase in industry. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 850-861p.
93. **Pine L.** (1970). Classification and phylogenetic relationship of microaerophilic actinomycetes. *Int. J. Bacteriol.* 20, p. 445-474.
94. **Pochon J. et Tardieux P.** (1962). Techniques d'analyses en microbiologie du sol. Edition de la tourtourielle, Saint Mandé. 110-111.
95. **Prescott L M, Joanne M Willey, Linda M Sherwood, Christopher J Woolverton.** (2018). *Microbiologie de prescott.france*. 5^{éd}tion. De Doeck Supérieur.
96. **Prescott L. M, Harley J. and Klein D. A.** (2007). *Microbiologie*. Edition de boeck et lancier.
97. **Prescott L. M., Harley J. P., Klein. D. Au.** (2003). *Microbiologie*. De Boeck and Larcier. France.
98. **R. Sharada¹, G. Venkateswarlu, S.Venkateswar and M. AnandRao.** (2014). Applications of cellulases. *IJPCBS*, 4(2), 424-437p.
99. **R.Ragunathan¹ and R. Padmadas.** (2013). Production, purification and characterization of α -amylase using *Streptomyces* spp. PDS1 and *Rhodococcus* spp. Isolated from Western Ghats. *int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 2(8), 206-214p.
100. **Rajendra Singh, Anshumali Mittal, Manoj Kumar, Praveen Kumar Mehta.** (2016). Microbial Proteases in Commercial Applications. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological.* 4(3), 365-374.
101. **Ramesh Chander Kuhad, Rishi Gupta, and Ajay Singh.** (2011). Microbial cellulases and their industrial applications. *Enzyme Research*, 10p.
102. **Ranjani Anandan, Dhanasekaran Dharumadurai and Gopinath Ponnusamy Manogaran.** (2016). An Introduction to Actinobacteria. Licensee InTech, 3-37p.
103. **Rebeca Padilla Reynaud.** (2017). Implication de la subérine dans la régulation de l'activité cellulolytique des espèces de *streptomyces* causant la gale commune de la pomme de terre. Thèse de doctorat. Canada : Université de Sherbrooke, 195.

104. **Rihani Alima.** (2012). Screening de microorganismes producteurs de lipases : application dans la biodécontamination de surface. Mémoire de magister. Annaba : universite badji mokhtar ,87p.
105. **Roohi,mohammed kuddus.**(2017). Keratin degrading microbial keratinase as a tool for bioremediation. J Microbiol Exp, 5(4), 154p.
106. **Rosilma O., Araujo- Melo., Igor F.A.C., Maria C.V., Janete M., Kêsia X.R.F., and Luana C. B. B. Coelho.** (2016). Actinobacteria : Versatile Microorganisms with Medical and Pharmaceutical Application. British Biotechnology Journal.vol 15(4).
107. **Ross E. McKinney.** (2004). Environmental Pollution Control Microbiology: A Fifty-Year Perspective. new york: marcel dekker,lnc, 47-48p.
108. **Saadoun I., Gharaibeh R.** (2003). The *Streptomyces* flora of Badia region of Jordan and its potential as a source of antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria. J. Arid. Environ, 53, 365 – 371p.
109. **Saci Amina.** (2012). Production d'alpha-amylase par *Streptomyces* sp. Optimisation d'un milieu de production à base de déchets d'orange. Mémoire de magister. Constantine : université mentouri-constantine, 92p.
110. **Salma Mukhtar, Ahmad Zaheer, Dalaq Aiysha, Kauser Abdulla Malik and Samina Mehnaz.** (2017).Actinomycetes:A Sourc of Industrially Important Enzymes. J Proteomics Bioinform, 10(12), 316-319p.
111. **SAUVAGEON Thibaud.** (2012).Optimisation d'une hydrolyse enzymatique dans le processus de transformation de matériel ligno-cellulosique en bioéthanol.université de lorainne.p:27_29.
112. **SAZCI, A., RADFORD, A. & ERENLER, K.** (1986). Detection of cellulolytic fungi by using Congo red as an indicator: a comparative study with the dinitrosalicylic acid reagent method. Journal of Applied Bacteriology 61, 559-562.
113. **Shoham.y,lamed.d,bayer.e.a.**(1999).the cellulosome concepts as an afficient microbial strategy for the degradation of insoluble polysaccharides.trends microbiol 1999; 7(7):275-281.
114. **Silvia Tortorici, Francesco Burruano, Maria Lidia Buzzanca, Paolo Difalco, Cabibi Daniela and Maresi Emiliano.** (2008). Cervico-facial actinomycosis: epidemiological and clinical comments. American journal of infectious diseases, 4(3) ,204-208p.

115. **Sinead Boyce, Keith F Tipton.** (2001). Enzyme Classification and nomenclature. encyclopedia of life sciences, 11p.
116. **Smriti Sing, Anju Rawat Shrivastava, Abhinav Gupta, Anil Kumar Singh, N Gopalan, and Hotam Singh Chaudhary.**(2012). Keratinolytic Actinomycetes Isolated From Poultry Waste. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 4(9) ,4107-4111.
- 117.**SP Tiwari, R Srivastava, CS Singh, K Shukla, RK Singh, P Singh, R Singh, NL Singh, and R Sharma.**(2015). Amylases: an overview with special reference to alpha amylase. Journal of Global Biosciences, 4, 1886-1901p.
- 118.**Suchita Ninawe, RupLa, R. C. Kuhad.** (2005). Isolation of Three Xylanase-Producing Strains of Actinomycetes and Their Identification Using Molecular Methods. Current microbiology. 53, pp. 178–182.
119. **Suneetha.** (2011).actinomycetes:sources for soil enzymes in soil enzymology girish shukla ajit varma. Dunod, 188-193p.
120. **Suutari M., Lignell U., Hyvarinen A. and Nevalailen A.** (2002). Media for cultivation of indoor streptomycetes. J. Microbiol. Meth. 1668-1674.
121. **Suzuki S.I.** (2001). Establishment and use of gellan gun media for selective isolation and survey of specific rare Actinomycetes. Actinomy. 15(2), 55-60.
122. **Sykes G. and Skinner F. A.** (1973). Actinomycetales: Characteristics and practical importance. Academic press. London. New York.
123. **Tania Aneja, Nitish Bhat ,Gurveen Chawla, Monika Negi .**(2017). Actinomycosis of tongue: case report of an atypical presentation. IOSR Journal of dental and medical sciences (IOSR-JDMS), 16,84-86p.
124. **Thabata M. Alvarez , Joice H. Paiva, Diego M. Ruiz, João Paulo L. F. Cairo,Isabela O. Pereira, Douglas A. A. Paixão, Rodrigo F. de Almeida, Celisa C. C. Tonoli, Roberto Ruller, Camila R. Santos, Fabio M. Squina, and Mario T. Murakam.** (2013). Structure and Function of a Novel Cellulase 5 from Sugarcane Soil Metagenome. PLoS One,8(12), p1-9.
125. **Thakur D, Yadav A, Gogoi B. K, and Bora T. C.** (2007). Isolation and screening of Streptomyces in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. J. Mycolo. Med, 17, 242-249p.

126. **Venkataramana Kandi.** (2015). Human Nocardia Infections: A Review of Pulmonary Nocardiosis. *Pulmonary Nocardiosis Cureus review*, 7(8), 304p.
127. **Wang L, Huang Y, Lin Z, goodfellow m, and rodriguez c.** (2006). *Streptacidiphilus oryzae* sp., an actinomycetes isolated from rice-field soil in Thailand. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56, 1257-1261.
128. **Williams and Cross.** (1971). Isolation, purification, cultivation and preservation of actinomycetes. *Methods Microbiol.* 4 : 295-33.
129. **YAHIA Nadia , AIT HAMMACHE Sofiane .** (2015). Isolement et sélection des souches xylanolytiques locales : caractérisation biochimique des xylanases produites par l'isolat SJ4, A. MIRA - Bejaia.
130. **Yasmina Rhofir, Rachida Zahraoui, Nabil Tiress, Hicham Naji-Amrani, Mouna Soualhi, Jamal Eddine Bourkadi.** (2017). Nocardiose pulmonaire sur un terrain immunocompétent: à propos de 2 cas. *Pan African Medical Journal*, 27, 149p.
131. **Yati Soeka, Nandang Suharna, Evi Triana, Titin Yulinery.** (2019). Characterization of Cellulase Enzyme Produced by Two Selected Strains of *Streptomyces Macrosporeus* Isolated from Soil in Indonesia. *Makara Journal of Science*. 23, 9p.
132. **Yoshitake Tanaka, satoshi Omura.** (1990). Metabolism and products of actinomycete-An introduction. *actinomycetol*, 4, n°1, 13-14p.
133. **Yous Kahina, Bendris Ouarda.** (2017). Mise en évidence d'activités biologiques d'une souche d'actinomycète isolée de sédiments marins. Mémoire de master. Bejaia : Université A. Mira – Bejaia, 77p.
134. **Zaitlin B., Watson S.b., Ridal J., Satchwill T. and Parkinson D.** (2003). Actinomycetes in lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. *Res. J. Can.* 95 (2), 113-118.
135. **Zerizer Habiba.** (2014). Les genres d'actinomycètes (hors mycobactéries) impliqués dans les infections dans la région de Constantine. thèse de doctorat. Constantine : Université Constantine 1, 217p.
136. **Zermane Férial.** (2008). Etude des caractéristiques culturelles des actinomycètes impliquées dans la biodégradation de la cellulose, des substances pectiques et des composés organiques de synthèse. Mémoire de magister. Constantine : université Mentouri Constantine, 126.

137. **Zoubiri Lamia.** (2012). Production d'alpha amylase par des moisissures cultivées sur milieu à base de rebuts de dattes. Mémoire de magister. Constantine : université mentouri-constantine, 104p.



Annexes

Annexe I**Milieux de cultures****Milieu Bennett**

Extrait de levure	1g
Extrait de viande de bœuf	1g
Peptone pancréatique de caséine	2g
Glucose	10g
Agar	15g
Eau distillée	1000m

Milieu Gym

Glucose	4g
Extrait de levure	4g
Extrait de malt	4g
Caco3.....	2g
Agar	12g

Milieu ISP2

Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Glucose	4g
H2O distillée	1000ml

Milieu ISP 3

Solution d'avoine.....	1000ml (Annexe II)
Solution d'oligo-éléments	1ml (Annexe II)
Agar	20g
pH = 7,2	

Milieu ISP 5

Glycérol	10 g
L-Asparagine	1 g
Solution d'oligo-éléments	1 ml (Annexe II)
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g
pH = 7,0-7,4	

Le milieu ISP4

Amidon.....	10 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	1 g
NaCl.....	1 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
CaCO ₃	2 g
Solution saline standard.....	1 mL
Agar.....	20 g
pH= 7.5	

Milieu ISP 6

Peptone	15 g
Proteose-Peptone	5 g
Citrate de fer ammoniacal	0,5 g
Thiosulfate de sodium	0,08 g
Extrait de levure	1 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g
pH = 7,0-7,2	

Milieu ISP 7

Glycérol	15 g
L-Tyrosine	0,5 g
L-Asparagine	1 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,8 g
NaCl	0,5 g
FeSO ₄ 7H ₂ O.....	0,01 g
Solution d'oligo-éléments	1 ml (Annexe II)
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g
pH = 7,2-7,4	

Milieu Glycérol-extrait de sol (GSEA)

Peptone	5 g
Extrait de viande.....	3 g
Glycérol	20 g
Extrait de sol	150 ml (Annexe II)
Eau distillée	1000 ml
Agar.....	20 g
pH = 7	

Milieu Citrate de Simmons

Ammonium dihydrogenophosphate	1g
Phosphatededipotassique	1g
Chlorurede sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Sulfate magnésium	0,2g
Bleu de bromothymol	0,08g
Agar	15g
Eau distillée	1L
pH= 6,8	

Milieu Gélose TSI (Triple SugarIron)

Peptone de viande	15g
Protéase peptone	5g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	3g
Glucose	1g
Saccharose.....	10g
Lactose	10g
Citrate de fer ammoniacal	0,3g
Chlorure de sodium	5g
Sodium thiosulfate	0.3 g
Rouge de phénol	0,05g
Agar	18g
Eau distillée	1L

pH=7,2

Milieu Urée- indole

L-tryptophane	3g
Phosphate de dipotassique	1g
Phosphate monopotassique	1g
Chlorure de sodium	5g
Urée	20g
Rouge de phénol	2,5g
Eau distillée	1L

pH =6,8

Milieu CYD

Casamino acids.....	0,5 g
Extrait de levure	0,3 g
D-Glucose	0.4 g
K ₂ HPO ₄	2 g
Eau distillée	1000ml
Agar	20 g

pH = 7,2

Milieu de test Tolérance au NaCl

Peptone de caséine.....	10g/l
Extrait de levure.....	5.0g/l
H2O distillée	1000ml
Agar.....	20.0g/l
pH =7.0 à 7.4	

Milieu Mannitol-Mobilité

Peptone	20 g
Nitrate de potassium	1 g
Mannitol	2 g
Rouge de phénol	40m g
Eau distillée	1000 ml
Agar	4 g
pH = 8,1	

- **Milieu Pour Les Tests Enzymatiques**

Milieu Gélose nutritive

Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure.....	2g
NaCl	5g
Agar	15g
Eau distillée	1L
pH= 7,5.	

Milieu ISP9

(NH ₄) ₂ SO ₄	2,64 g
KH ₂ PO ₄	2,38 g
K ₂ HPO ₄ 3H ₂ O	5,65 g
MgSO ₄ 2H ₂ O	1 g
Solution saline	1 ml (Annexe II)
Eau distillée	
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g
pH = 6,8-7,0	

Milieu de Sierra additionné de tween 80

Peptone	10 g
NaCl	5g
CaCl ₂ · 1H ₂ O	0.1g
Eau distillée	1000 ml
Agar	18 g
Tween 80	10 ml
pH = 7.4	

Milieu Pectine Agar

Pectine	5 g
Extrait de levure	5 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g

Milieu nammori

Extrait de levure	1g
KH ₂ PO ₄	4g
NaCl	2g
MgSO ₄ (7 H ₂ O)	1g
MnSO ₄	0.05g
FeSO ₄ (7 H ₂ O)	0.05g
CaCl ₂	2g
NH ₄ Cl	2g
H ₂ O distillée	1000ml

Bouillon nitrate « ISP 8 »

Bouillon nitrate	21g
Eau distillée.....	1000ml

- **Milieux pour la production des enzymes**

- ❖ **Amylase**

Maltose10,0g
K₂HPO₄.....0,4 g
K₂HPO₄.....0,1g
MgSO₄.....0,2g
NaCl0,1g

Extrait de levure.....0,4 g

7H₂O

- ❖ **Cellulase**

Glucose0.5 g
Peptone0.75 g

FeSO₄0.01 g

KH₂PO₄0.5 g

MgSO₄0.5 g

- ❖ **Kératinase**

NH₄Cl.....0,5g
NaCl.....0,5g

K₂HPO₄.....0,3g
KH₂PO₄.....0,4g

MgCl₂.....0,1g

Extrait de levure.....0,1g

6H₂O

Annexe II**Solutions et colorants****Solution d'oligo-éléments**

FeSO₄ 7H₂O0,1 g
MnCl₂ 4H₂O0,1 g
ZnSO₄ 7H₂O0,1 g
Eau distillée100 ml

Solution saline

CuSO₄ 5H₂O0,64 g
FeSO₄ 7H₂O0,11 g
MnCl₂ 4H₂O0,79 g
ZnSO₄ 7H₂O0,15 g
Eau distillée100 ml

La solution aqueuse de Rouge Congo

Rouge Congo1 g
Eau distillée100 ml

La solution de chlorure de mercure

HgCl₂15g
HCl concentré20 ml
Eau distillée100 ml

La solution d'acétate de cuivre

Acétate de cuivre10 g
Eau distillée100 ml

Violet de Gentiane

Violet de Gentiane1g
Ethanol10ml
Phénol2g
Eau distillée100 ml

La solution de lugol

Iodure de potassium	2g
Iode métalloïde I ₂	1g
Eau distillée	100ml

La solution de fuchsine

Fuchsine basique	10g
Phénol	50g
Ethanol	100 ml
Eau distillé	1 L

La Solution à base d'acide dinitrosalicylique (DNS)

Acide dinitrosalicylique.....	10g
Soude.....	16g
Tartrate de potassium sodique.....	300g
Eau distillée.....	1l

La solution est préparée dans l'obscurité puis filtrée et conservée dans un flacon Couvert d'aluminium.

Extrait de sol

Sol du jardin séché et tamisé	49 g
Eau de robinet	960 ml

*Stérilisation à 121°C pendant 1 heure

Après refroidissement le surnageant décanté est filtré, puis stériliser à 121°C pendant 20 minutes et conservé à température ambiante.

Carbolfuchsine de ziehl (solution A)

Fuchsine basique	3 g
Alcool éthylique à 95% jusqu'à	100 ml

* Colorant à filtrer avant utilisation

Décolorant de la coloration de Ziehl-Neelson modifiée

HCl concentré à 35% 3 ml

Alcool éthylique à 95% 97 ml

Décolorant de Ziehl-Neelson

Bleu de méthylène10 g

Alcool éthylique absolu300 ml

Acide sulfurique à 60° 200 ml

Eau distillée 500 ml

Solution aqueuse de phénol (solution B)

Phénol 5 g

Eau distillée jusqu'à 90 ml

Fuchsine phéniquée de ziehl

Solution A 10 ml

Solution B 90 ml

Annexe III

Protocole pour réaliser la courbe de calibration :

- A partir de glucose de concentration 4 g/L, on prépare des dilutions pour faire le patron de la courbe, et de l'eau comme étalon.
- Pour chaque dilution, on prend 50 µL et on ajoute 50 µL de DNS.
- Agiter tous les échantillons.
- Mettre à 100°C pendant 10 minutes.
- Refroidir dans un bain de glace.
- Lire l'absorbance avec un lecteur de plaques, à 550 nm.
- Réaliser la courbe d'absorbance en fonction de la concentration. Elle doit avoir un Coefficient de corrélation compris entre 0,991 et 0,999.

Calcul :

La quantité de sucres réducteurs obtenus se calcule de la manière suivante :

$$\text{Sucres réducteurs (g/L)} = \frac{\text{ABS mesurée} + c}{m}$$

Où m est la pente de la courbe et c son ordonnée à l'origine.

Résumé

Le marché des enzymes industrielles est l'un des secteurs générant des revenus les plus rapides au monde. Seulement 20 enzymes sont actuellement utilisées au niveau industriel, ce qui indique la nécessité de poursuivre les recherches et le développement d'enzymes à faible coût et leur production. L'application d'enzymes dans diverses industries biotechnologiques indique une tendance positive qui doit être satisfaite du découvert de nouvelles enzymes. Notre travail s'est intéressé à l'isolement des nouvelles souches actinomycétales éventuellement productrices d'enzymes à intérêt technologique et médicale. Pour cela nous avons procédé à un isolement à partir des différents milieux naturels (sol salin, sol rhizosphérique, sol d'une grotte et l'eau thermale). L'isolement est réalisé sur trois milieux de culture différents (Bennet, GYM et ISP2). Un total de 154 isolats est obtenu sur les différents échantillons et sur les différents milieux de culture. Le taux le plus important des isolats (60) est obtenu dans l'échantillon de l'eau thermale de Sidi Aissa (Wilaya de Saida) sur le milieu Bennet. 20 isolats qui s'avèrent différentes sont purifiés et subit par la suite une identification morphologique macroscopique et microscopique ainsi qu'une mise en évidence de leur activité enzymatique. Nous avons procédé à la recherche des enzymes suivantes : amylase, cellulase, xynalase, pectinase, lipase, caséinase, gélatinase, nitrate réductase, catalase, kératinase. L'objectif tracé pour une deuxième partie de travail qu'on n'a pas pu réaliser malheureusement à cause du confinement, est la caractérisation des enzymes produit. A cet effet nous avons choisi 3 enzymes les plus importantes à l'échel industriel. Il s'agit de l'amylase, cellulases et kératinase.

Mots clés : souches actinomycétales, activité enzymatique, amylase, cellulase, kératinase.

Abstract

The industrial enzymes market is one of the fastest growing sectors in the world. Only 20enzymes are currently used industrially, indicating the need for further research and development of low cost enzymes and their production. The application of enzymes in various biotechnology industries indicates a positive trend which must be satisfied with the discovery of new enzymes. Our work has focused on the isolation of new actinomycetal strains that may produce enzymes of technological and medical interest. For this we proceeded to isolation from different natural environments (saline soil, rhizospheric soil, cave floor and thermal water). Isolation is performed on three different culture media (Bennet, GYM and ISP2). A total of 154 isolates are obtained on the different samples and on the different culture media. The highest rate of isolates (60) is obtained in the sample of thermal water from Sidi Aissa (Wilaya de Saida) on Bennet medium. 20 isolates which are found to be different are purified and subsequently undergo macroscopic and microscopic morphological identification as well as demonstration of their enzymatic activity. We searched for the following enzymes: amylase, cellulase, xynalase, pectinase, lipase, caseinase, gelatinase, nitrate reductase, catalase, keratinase. The objective set out for a second part of the work, which unfortunately could not be carried out due to the confinement, is the characterization of the enzymes produced. For this purpose we have chosen 3 enzymes that are the most impotent on an industrial scale. These are amylase, cellulases and keratinase.

Key words: actinomycetal strains, enzymatic activity, amylase, cellulase, keratinase.

ملخص

يعد سوق الإنزيمات الصناعية أحد أسرع القطاعات نموًا في العالم. يتم استخدام 20 إنزيمًا فقط في الصناعة حاليًا، مما يشير إلى الحاجة إلى مزيد من البحث والتطوير في مجال الإنزيمات منخفضة التكلفة وإنتاجها. يشير تطبيق الإنزيمات في صناعات التكنولوجيا الحيوية المختلفة إلى اتجاه إيجابي يجب أن يرضى باكتشاف إنزيمات جديدة. ركز عملنا على عزل سلالات جديدة من الأكتينوميستات التي قد تنتج إنزيمات ذات أهمية تقنية وطبية. من أجل ذلك، قمنا بالعزل من بيئات طبيعية مختلفة (التربة المالحة، تربة الجذور، أرضية الكهوف والمياه الحرارية). يتم إجراء العزل على ثلاث وسائط زرع مختلفة (Bennet و GYM و ISP2).

في عينة المياه الحرارية من سيدي Bennet. تم الحصول على 154 عزلة من العينات المختلفة وعلى أوساط زرع مختلفة. تم الحصول على أعلى معدل للعزلات (60) عيسى (ولاية سعيدة) على وسط

تم تنقية 20 عزلة مختلفة، ثم خضعت بعد ذلك لتحديد شكلها الخارجي والمجهري بالإضافة إلى توضيح نشاطها الأنزيمي. بحثنا عن الإنزيمات التالية: الأميلاز، السيليلاز، الإكسينالاز، البيكتيناز، الليباز، الكازيناز، الجيلاتيناز، النترات، الكاتالاز، الكيراتيناز. الهدف المحدد للجزء الثاني من العمل، والذي للأسف لا يمكن تنفيذه بسبب الحجر الصحي، هو توصيف الإنزيمات المنتجة. لهذا الغرض، اخترنا 3 إنزيمات هي الأكثر أهمية على المستوى الصناعي: الأميلاز، السيليلاز والكيراتيناز. **الكلمات المفتاحية:** الأكتينوميستات، النشاط الأنزيمي، الأميلاز، السيليلاز، الكيراتيناز.