

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de : Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Intérêt biotechnologique du genre *Rhodococcus* d'origine marine**

---

Présenté par : Harrak Ikram  
Bouhlassa Fatima  
Boufoula Doha

Le 20/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreuse : MERIANE Ilhem (MAA - UFM Constantine).

Examineur 1 : KITOUNI Mahmoud (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examinatrice 2 : ABDELAZIZ Wided (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire  
2021 - 2022



# Remerciements

# *Remerciements*

*Nous tenons à remercier en premier lieu ALLAH qui nous a donné la santé, la volonté, le courage et la patience tout au long de nos études.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Mme MERIANE ILHEM**, On la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Je remercie les membres du jury, qui ont bien voulu examiner ce travail.*

*Je remercie tous les enseignants de mon cursus universitaire qui ont contribué à ma formation.*

*Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui, de près ou loin, ont contribué à la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent dans ses quelques lignes l'expression de mes Sincères remerciements*

# *Dédicaces*

*Tout d'abord Je remercie Dieu avant tout, le Tout-Puissant, qui m'a aidé et guidé tout au long de mon parcours académique.*

*Aussi je dédie ce modeste travail*

*Mes très chères parent ma mère Fouzia et mon père **Ahmed***

*Qui ont toujours été pour moi des exemples des parents respectueux, honnêtes, qui n'ont épargnés aucun à effort pour me propulser toujours vers l'avant et m'encourager pour cette réussite, je tiens à les honoré. Grâce à vous j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais vous remercier pour votre amour, générosité et compréhension... Votre soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés pour mon éducation et ma formation. Je vous et j'implore le tout-puissant pour vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.*

*A mes sœurs **TAKWA, MALAK et RAYEN** sur lesquelles on peut compter,*

*A tous les moments d'enfance passés avec vous, en gage de ma profonde estime pour l'aide que vous m'avez apporté. Pour votre soutien soutenu, réconforté et encouragé.*

*Puissent nos liens se consolider et se pérenniser encore plus.*

*A petit cœur mon neveu adoré **IYED***

*Avoir un neveu est le plus beau cadeau qu'une sœur puisse vous faire. Tes petites mains, ton enthousiasme, tes sourires, tes yeux brillants sont incomparables. Tu as apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Je t'aime.*

*A ma chère tante affectueuse tante **Sabrina** que j'aime beaucoup et que je le dois que du respect.*

*A une très chère personne qui a été toujours à mes côtés. Merci pour le grand soutien que vous m'avez apporté, je prie Dieu de vous protéger avec plus de réussite et de brio.*

*A mes amies, **FATIMA et DOHA** Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur*

*qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A là. Famille **HARRAK ET BEGHLOUL***

*Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur*

***IKRAM***

# *Dédicaces*

*Du plus fond du cœur et avec l'intensité de mes émotions, je dédie ce travail :*

*A ma chère maman **BOUBA** Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon cher papa **ABDELHAFID** Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Votre chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.*

*Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation. Je souhaite que vous trouviez en moi source de fierté.*

*A mes chères sœurs , A mon cher petit frère Abderrahmane Pour toute l'affection qu'ils m'ont toujours témoignée, je leur souhaite une vie pleine de bonheur, de gloire, de triomphe et de succès. A Ma très chère petite princesse Maria Pour ton sourire qui fait ma joie dans les moments heureux et qui me donne le courage de continuer dans les moments difficiles. Merci d'être toujours à mes côtés. Que Dieu nous garde toujours unies. A ma grande famille qui sont nombreux et que je ne citerai pas ici volontairement de peur d'oublier l'un d'entre eux avec tout mon respect.*

*A tous mes amis et en particulier **Sofia et Djihad, Batoul, chahrazad ,Ikram, Fatima**, pour tous les moments que nous avons partagés durant ces années des plus difficiles aux meilleurs, en espérant pouvoir en partager encore tant d'autres.*

*A tous ceux qui ont une relation de près ou de loin ou de réseaux sociaux  
A tous mes enseignants depuis l'école primaire jusqu'à ce jour. A tous ceux que j'aime et qui m'aiment Que Dieu vous réserve bonne santé, bonheur et longue vie*

**DOHA**

# *Dédicaces*

*À mes chers parents : à mon père et à ma mère je dédie ce travail et je les remercie pour tous les sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*À mes très chères sœurs Ahlem et Hiba, pour leur encouragement permanent et leur soutien moral,*

*À mes chers frères, pour son appui et son conseil et son encouragement,*

*À tous les membres de ma famille pour leurs soutien toute au long de mon parcours universitaire,*

*À mes amies Doha et Ikram, pour leur aide, leur dévouement, et surtout leur amour,*

*À tous les étudiants de ma filière pour les bons moments passés ensemble,*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués et le fruit de votre soutien infallible,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

**FATIMA**

# Table des matières

<b>Remerciement</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Glossaire</b>	
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1 : Revue bibliographique</b>	
<b>Partie I : Généralité sur le genre <i>Rhodococcus</i></b>	
1. Historique.....	3
2. Classification et taxonomie.....	4
3. Habitat.....	6
4. Caractéristiques générales.....	6
4.1 Caractéristiques microscopiques.....	6
4.2 Caractéristiques biochimiques.....	6
4.3 Caractéristiques de la paroi.....	7
4.4 Caractéristiques culturelles.....	8
4.5 Caractéristiques génomiques.....	8
<b>Partie II : Les <i>Rhodococcus</i> de l'environnement marin</b>	
1. Habitat.....	8
2. Mécanisme d'adaptation dans milieu marins.....	10
2.1 Adaptation au froid.....	10
2.2 Adaptation à un PH.....	11
2.3 Adaptation aux sels (NaCl).....	11
2.4. Adaptation à d'autres conditions stressantes	12
2.4.1. Adaptation à la présence de solvants organique.....	12
2.4.2. Adaptation à la présence de métaux toxiques.....	12
3. Caractéristiques des espèces de <i>Rhodococcus</i> marins les plus importantes sur le plan biotechnologique	13
3.1 <i>Rhodococcus opacus</i> .....	13
3.2 <i>Rhodococcus rhodochrous</i> .....	13

3.3 <i>Rhodococcus fascians</i> .....	14
3.4 <i>Rhodococcus erythropolis</i> .....	14
3.4 <i>Rhodococcus ruber</i> .....	15

**Chapitre 2 : la méthodologie** **16**

**Chapitre 3 : résultats et discussion**

1. Production des enzymes	17
1.1 Estérase.....	17
1.2 Cholestérol oxydase.....	19
1.3 Diméthylsulfoniopropionate lyase.....	21
1.4 Endoglucanase.....	23
1.5 Phosphinothricine-acétyl-transférase.....	24
1.6 ADN photolyase.....	25
2. Production des nanoparticules métalliques.....	28
2. Production des molécules bioactives.....	30
4. Production de biodiesel.....	33
5. Production de pigments.....	38
6. production des biosurfactants .....	39
7. Dégradation des microplastiques.....	44
8. Dégradation des hydrocarbures.....	45
<b>conclusion</b> .....	<b>53</b>
<b>Références bibliographie</b> .....	<b>54</b>
<b>Résumés</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 1 : Arbre phylogénétique des espèces appartenant au genre <i>Rhodococcus</i> .....</b>	<b>5</b>
<b>Figure 2 : Paroi cellulaire du groupe des Mycolata.....</b>	<b>7</b>
<b>Figure 3 : Cycle du soufre médié par les bactéries marines. ....</b>	<b>22</b>
<b>Figure 4 : Mécanisme d'action de la photolyase.....</b>	<b>26</b>
<b>Figure 5: Réaction de transestérification des triglycérides avec l'alcool .....</b>	<b>33</b>
<b>Figure 6: Mécanisme de dégradation des alcanes par <i>Rhodococcus</i>.....</b>	<b>40</b>
<b>Figure 7 : Aspect visuel du microcosme .....</b>	<b>50</b>

## Liste des Abréviations

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**BET**: Bromure d'Ethidium

**C°**: Celsius

**CHO**: Cholestérol oxydase

**CMC**: Carboxyméthylcellulose

**CMCNA**: Carboxyméthylcellulose de sodium

**DMS**: Sulfure de diméthyle

**DMSP**: Diméthylsulfoniopropionate

**DTT**: Dithiothreitol

**EC**: Enzyme Commission

**EDTA**: Éthylénediaminetetraacetic acid

**HAP**: Hydrocarbures aromatiques polycycliques

**pH**: Potentiel d'hydrogène

**PPT**: Phosphinothricine

**PP**: Polypropylène

**TAG**: Triacylglycérol

**UV**: Ultraviolet

**UV-Vis**: Ultraviolet-visible

## **Liste des tableaux**

**Tableau 1: Tension de surface, indice d'émulsification et quantités des biosurfactants obtenus selon la source de carbone utilisée**

# **Glossaire**

## **Avicel**

Un polysaccharide avec des unités de glucose liées comme dans cellobiose. C'est le principal constituant des fibres végétales. Il constitue la base de nombreux dérivés utilisés en chromatographie, matériaux échangeurs d'ions, fabrication d'explosifs et préparations pharmaceutiques.

## **Éponges**

Les éponges marines sont des organismes sessiles qui contiennent des pores permettant à l'entrée d'eau et de nombreux nutriments en suspension et alimentent les bactéries symbiotiques

## **Génomique comparative**

La génomique comparative est l'étude comparative de la structure et fonction des génomes de différentes espèces. Elle permet d'identifier et de comprendre les effets de la sélection sur l'organisation et l'évolution des génomes.

## **Identité nucléotidique moyenne (INM)**

L'identité moyenne des nucléotides est une catégorie d'analyse informatique qui peut être utilisée pour définir les limites des espèces d'archaea et de bactéries.

## **Mangroves**

Les mangroves sont des écosystèmes intertidaux uniques des zones tropicales, où habitent diverses espèces microbiennes aquatiques et terrestres. Cet écosystème est situé à l'interphase entre un environnement terrestre et environnement marin.

## **Mer profonde**

La mer profonde est un environnement extrême caractérisée par une haute pression une basse température, absence de lumière et salinité et oxygénation.

## **Sédiments marins**

Les sédiments sont des dépôts continentaux ou marins, constitués de particules qui proviennent de la désagrégation des roches préexistantes et de la précipitation de matières en suspension qui transitent dans la colonne d'eau.

## **Récifs coralliens**

Les récifs coralliens sont confinés aux écosystèmes des eaux profondes, largement limité aux mers entre lat. 30°N et 30°S.

### **Concentration inhibitrice médiane (CI<sub>50</sub> ou IC<sub>50</sub> en anglais)**

Est une mesure de l'efficacité d'un composé donné pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique. Cette mesure quantitative indique quelle quantité d'un médicament ou d'une autre substance est nécessaire pour inhiber à moitié un processus biologique donné.

### **ARN ribosomique 16S**

L'ARN ribosomique 16S est l'ARN ribosomique constituant la petite sous-unité des ribosomes des procaryotes. Les gènes codant cet ARN sont appelés ADN<sub>r</sub> 16S, leur séquence est très utilisée en phylogénie pour reconstruire l'histoire évolutive des organismes. Ces gènes sont présents en plusieurs copies au sein de chaque organisme mais pas chez les virus.

### **Gène rpsA**

Le gène RPSA est un gène codant pour une protéine appelée Protéine ribosomique SA, qui est l'une des quelques 80 protéines ribosomiques différentes. Ces protéines se rassemblent pour former des structures appelées ribosomes, le rôle de la protéine ribosomique SA aider le ribosome à contrôler la production de certaines protéines dont beaucoup sont probablement important pour le développement avant la naissance.

### **Gène secY**

Le gène secY est un gène codant pour la protéine secY, qui est la principale sous-unité transmembranaire de la voie de sécrétion bactérienne sec ou type II et un complexe ATPase sécrétant des protéines également connu sous le nom de translocon secYEG.

# Introduction

## Introduction

---

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, à Gram positif avec une teneur élevée en guanines et cytosines (G+C%) dans leurs génomes. Ils ont été considérés comme formes de transition entre champignons et bactéries. En effet, comme les champignons filamenteux, de nombreux actinomycètes produisent un mycélium, et beaucoup se reproduisent par sporulation. Ces bactéries sont généralement aérobies et peuvent être hétérotrophes ou chimioautotrophes et sont capables d'utiliser une grande variété de sources nutritionnelles (**Anandan et al., 2016 ; Barka et al., 2016**).

Les actinomycètes sont largement distribués dans les écosystèmes terrestres et aquatiques. Ils se trouvent libres dans le sol, l'eau (douce ou marine) ou vivent en symbiose avec des plantes et des animaux et peuvent occuper des milieux extrêmes (**Anandan et al., 2016**).

Dans l'environnement marin, ils jouent un rôle important dans les processus de recyclage et de biodégradation de la matière organique et des éléments minéraux. Ils ont un grand pouvoir de transformation des substances organiques complexes difficilement ou non dégradables par d'autres microorganismes dans cet écosystème (**Manivasagan et al., 2013**).

Les actinomycètes marins ont été isolés et étudiés à partir de différentes niches marines. Ils ont été reconnus comme une source importante de composés et de métabolites dotés de multiples propriétés biologiques ainsi que d'enzymes (**Manivasagan et al., 2014; Zhao et al., 2016**).

Récemment, *Rhodococcus*, un genre appartenant aux actinomycètes, a reçu une attention considérable, et fait l'objet de diverses recherches à travers le monde (**Fahim et al., 2021**).

Dans ce contexte, notre mémoire de fin d'étude vise à analyser des articles scientifiques qui ont étudié les bactéries appartenant au genre *Rhodococcus* isolées de l'environnement marin et s'intéresse plus particulièrement à leur intérêt biotechnologique.

Il est composé de trois chapitres distincts :

Le premier chapitre est une étude bibliographique qui traite le genre *Rhodococcus* : historique, taxonomie, caractères microbiologiques (microscopiques, culturelles, biochimiques, physiologiques, moléculaires...etc), habitat (dans les différentes niches marines), mécanismes de résistance dans l'environnement marin, les espèces de *Rhodococcus* marines les plus importantes sur le plan biotechnologique.

Dans le deuxième chapitre, est présentée la méthodologie utilisée.

# Introduction

---

Le troisième chapitre est consacré à la présentation de l'analyse des articles réalisée et à la discussion des résultats obtenus.

Le mémoire se termine par une conclusion générale.

# **Chapitre 1 : Revue bibliographique**

## I. Généralité sur le genre *Rhodococcus*

### 1. Historique

L'histoire taxonomique du genre *Rhodococcus* est complexe. Le nom de genre « *Rhodococcus* » a été utilisé pour la première fois par Zopf en 1891. Il a proposé de former le genre *Rhodococcus* pour inclure deux espèces de couleur rouge nommée « *Micrococcus erythromyxa* » et « *Micrococcus rhodochrous* » précédemment classées dans le genre *Micrococcus* par Overbeck en 1891. Ce nom de genre a été également suggéré par Winslow et Rogers en 1906 et Molischn en 1907 pour d'autres coques rouges (Sangal *et al.*, 2019).

En 1959, Gordon et Mihm ont réintroduit l'épithète "*rhodochrous*" pour les membres de cette vaste diaspora taxonomique. Cette réintroduction a représenté une étape importante dans la systématique de genre *Rhodococcus* car les souches appartenant à ce taxon ont été considérées comme représentant une espèce définitive, quoi que celui qui a été provisoirement classé dans le genre *Mycobacterium*.

En 1974, Tsukamura a considéré *Rhodococcus rhodochrous* comme espèce type du genre.

En 1977, et suite à une vaste étude taxonomique numérique par Goodfellow et Alderson, le genre *Rhodococcus* a connu l'introduction de neuf espèces supplémentaires préalablement attribués au genre *Gordonia*.

En 1980, le genre *Rhodococcus* a été établi dans la liste approuvée des noms bactériens ainsi que dans la première édition du manuel de bactériologie systématique de Bergey, apparue en 1989 où 14 espèces ont été répertoriées.

En 2010, le genre contenait 32 espèces valides.

En 2012, Jones et Goodfellow ont attribué les 32 espèces de *Rhodococcus* à trois lignées : les *Rhodococcus equi*, *Rhodococcus erythropolis* et *Rhodococcus rhodochrous*. Les caractéristiques initiales examinées ont été la couleur de la colonie, la forme microscopique de la cellule, les conditions de culture (pH et température), les sources de carbones utilisées, les caractères chimiotaxonomiques notamment la structure de peptidoglycane, composition chimique de la paroi en sucres, lipides, d'acides gras et de la ménaquinone...etc.

L'analyse de la séquence du gène de l'ARNr 16S a joué un rôle important dans l'amélioration de la classification du genre *Rhodococcus* bien qu'il soit également clair

# Chapitre1 : Revu bibliographique

---

que cette analyse n'était pas une résolution suffisante pour faire la distinction entre des taxons apparentés (**Sangal et al., 2019**).

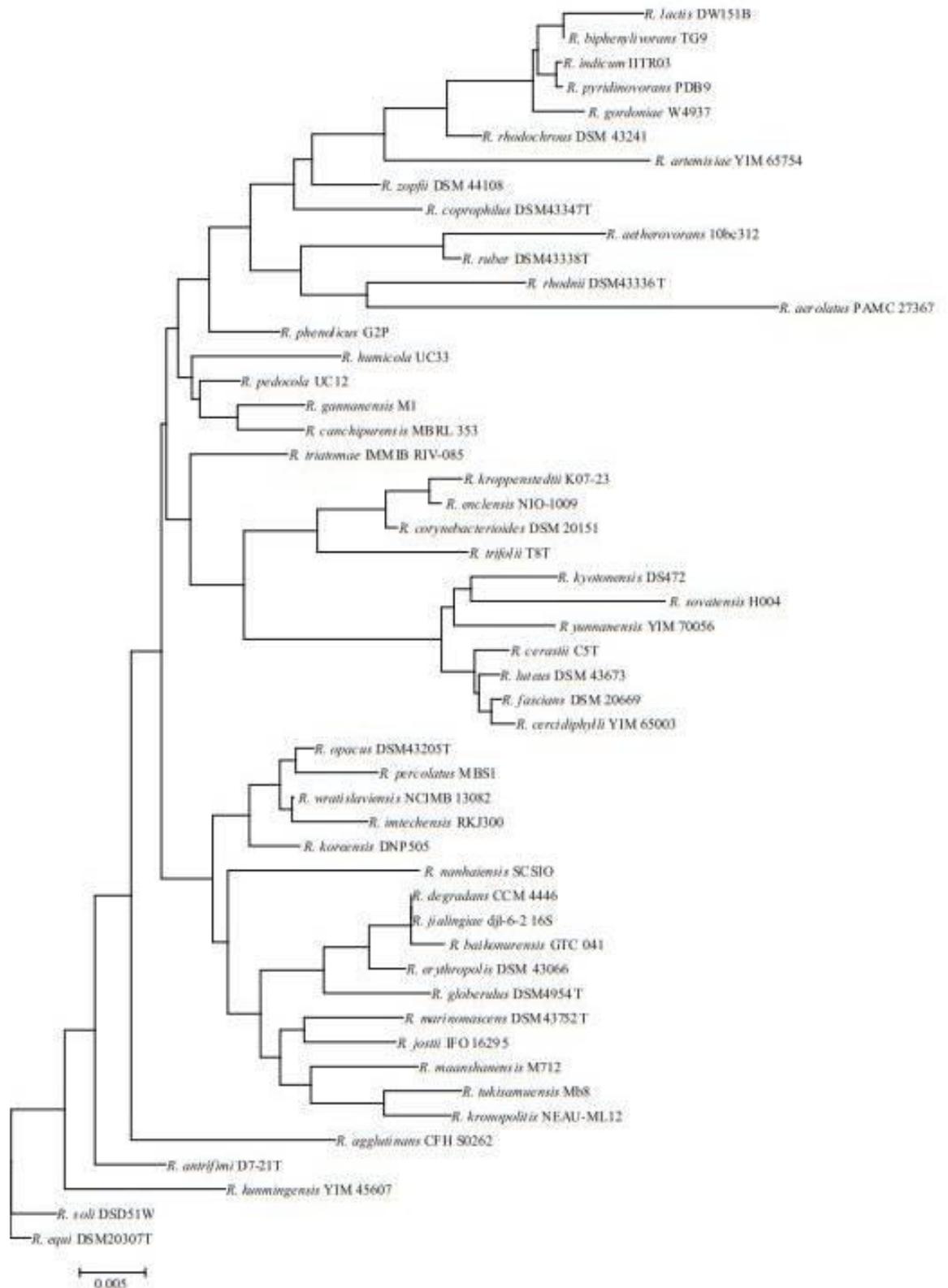
## 2. Classification et taxonomie

*Rhodococcus* est un genre appartenant au phylum Actinobacteria, à la classe des Actinobacteridae, ordre des Actinomycetales, sous-ordre des Corynebacterineae et à la famille des Nocardiaceae (**Majidzadeh et al., 2018**).

La taxonomie du genre *Rhodococcus* est en constante évolution, en raison de la description fréquente de nouvelles espèces. Certaines espèces ont été combinées ou transférées à d'autres genres établis d'autres reclassées dans de nouveaux genres. C'est l'exemple de l'espèce *Rhodococcus chlorophenicus* qui a été transférée à *Mycobacterium*, des espèces *Rhodococcus aichiensis* et *Rhodococcus chubuensis* qui ont été transférées à *Gordonia*. De nouvelles espèces ont été également découvertes, décrites et ajoutées au genre *Rhodococcus*, comme l'espèce *Rhodococcus roseus* (**Elsayed et al., 2017**).

Actuellement, ce genre comprend 66 espèces valides (**Garrido-sanz et al., 2020**).

L'étude de la phylogénie du genre *Rhodococcus* est basée sur l'analyse de séquences multilocus (MLSA) en utilisant des gènes tels que l'ARNr 16S, le secY, le rpoC et le rpsA ou d'autres séquences protéiques universelles, pour étudier la relation phylétique au sein des souches de ce genre et pour identifier un nombre variable de groupes d'espèces (**figure 1**). Plusieurs génomes de bactéries appartenant au genre *Rhodococcus* sont maintenant séquencés et leur comparaison permet d'avoir une meilleure compréhension de leur parenté et de leur divergence. Dans ce sens, l'identité nucléotidique moyenne (INM) a été utilisée pour identifier sept clades de 59 isolats de *Rhodococcus*. La génomique comparative a été également réalisée pour évaluer la diversité fonctionnelle de plusieurs groupes de *Rhodococcus*. Cependant, ces analyses sont rares et limitées à quelques comparaisons de génomes. Par conséquent, une comparaison globale des génomes de *Rhodococcus* est nécessaire pour mieux comprendre les différences de leurs modes de vie et de leur potentiel catabolique et de leur diversité génétique (**Garrido-sanz et al., 2020**).



**Figure 3 : Arbre phylogénétique des espèces appartenant au genre *Rhodococcus* (Majidzadeh *et al.*, 2018)**

### 3. Habitat

Certaines espèces de genre *Rhodococcus* sont des agents pathogènes des plantes, des animaux et de l'être humain mais la plupart sont saprophytes et non-pathogènes (**Garrido-sanz et al., 2020**). Elles sont largement distribuées dans divers milieux naturels tels le sol, la rhizosphère, les forages, l'eau et les sédiments marins, les eaux douces, les eaux de surfaces et souterraines. Elles peuvent être isolées des déjections animales, des tripes d'insectes, des aliments sains, et peuvent former des associations mutualistes avec des vertébrés et invertébrés. Des espèces de *Rhodococcus* peuvent persister dans des écosystèmes tempérés et extrêmes tels que le sol antarctique, le sol semi-aride ou le sol hypersalin. D'autres espèces persistent dans des milieux contaminés (**Krivoruchko et al., 2019 ; Pàtek et al., 2021**).

### 4. Caractéristiques générales

#### 4.1. Caractéristiques microscopiques

Le genre *Rhodococcus* comprend des bactéries à Gram positif ou à Gram variable, partiellement acido-alcoolo-résistantes, immobiles et non sporulantes (**Pàtek et al., 2021**). Le cycle de leur croissance commence par le stade d'une coque ou d'un bâtonnet court, qui peut ensuite germer et se fragmenter et/ou former des filaments latéraux et présenter des ramifications élémentaires. Certaines espèces peuvent se différencier pour produire des hyphes aériens, largement ramifiés. D'autres peuvent produire des synnemata constitués de filaments non ramifiés et qui se fusionnent entre eux (**Jones et al., 2004 ; Jones et Goodfellow, 2012**).

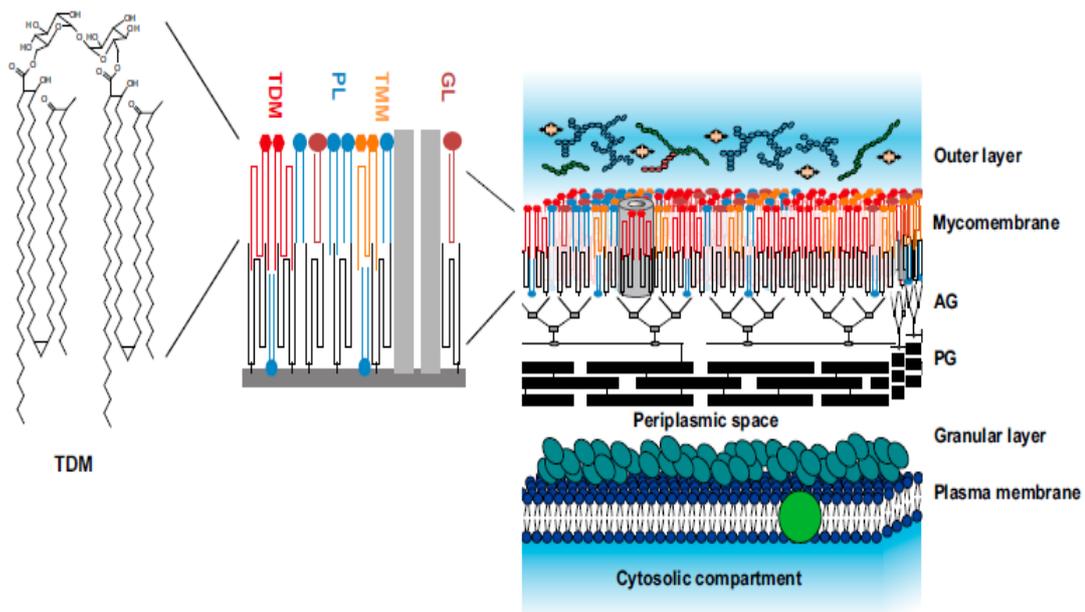
#### 4.2. Caractéristiques biochimiques

Les bactéries du genre *Rhodococcus* sont généralement chimiorganotrophes, ayant un métabolisme oxydatif, et sont capables d'utiliser une large gamme de composés organiques comme source d'énergie. Elles sont aérobies, à catalase positive, arylsulfatase négative et sensibles au lysozyme. Elles dégradent la tyrosine mais n'hydrolysent pas la caséine et la xanthine. Elles réduisent le nitrate en nitrite (**Jones et Goodfellow, 2012**).

## 4.3. Caractéristiques de la paroi

La plupart des espèces du genre *Rhodococcus* possèdent un peptidoglycane de type N-acétyl-glucosamine composé d'unités d'acide muramique glycolée et de l'acide méso-di-amino-pimélique. Leur paroi contient de l'arabinogalactane, une bicouche lipidique comprenant des acides mycoliques, ce qui place le genre *Rhodococcus* dans le groupe des Mycolata(**figure 2**).

Les principaux constituants phospholipidiques sont le di-phosphatidyl-glycérol, le phosphatidyl-éthanol-amine, le phosphatidyl-inositol et les mannosides de phosphatidyl-inositol. Les acides gras saturés sont à chaînes droites et les acides mono-insaturés sont ramifiés, composés de dix unités d'acide tuberculostéarique. La présence d'acides mycoliques d'une longueur de 30 à 54 atomes de carbone est caractéristique de la paroi cellulaire du genre *Rhodococcus* (Goodfellow *et al.*, 2012 ;Pàtek *et al.*, 2021).



**GL**: Glycolipides, **TMM** : Tréhalose-6-monomycolate, **PL** : Phospholipides, **TDM** : Tréhalose 6,6-dimycolate.

**Outer layer** : Couche externe, **Mycomembrane**, **AG**: Acide gras, **PG**: Peptidoglycane, **Granular layer** : Couche granulaire, **Plasma membrane** : Membrane plasmique.

**Figure 4 : Paroi cellulaire du groupe des Mycolata (Marrakchi *et al.*, 2013).**

## 4.4. Caractéristiques culturelles

Les espèces du *Rhodococcus* se développent sur des milieux standards et ordinaires à une température de croissance comprise généralement entre 15°C et 40 °C et un pH de 7 à 7,5 bien que certaines souches soient exigeantes et nécessitent la présence de la thiamine pour leur croissance.

La colonie peut avoir une surface lisse, rugueuse ou mucoïde et un diamètre compris entre 0.25 à 2 mm. Sa couleur est différente selon l'espèce et peut varier de l'incolore à l'opaque, chamois, crème, jaune, orange ou rouge (**Goodfellow et al., 1998 ; Jones et Goodfellow, 2012**).

## 4.5. Caractéristiques génomiques

Le génome de genre *Rhodococcus* est caractérisé par une teneur élevée en GC % (de 61 à 71 %) et une taille variable selon les espèces comprise entre 4 Mb et 10,4 Mb. Par exemple la taille du génome du *R. erythropolis* PR4 est de 6.9 Mb et celle du *R. wratislaviensis* NBRC 100605 est de 10.4 Mb.

Il code pour nombreuses activités métaboliques qu'elles soient anaboliques (production de diverses substances) ou cataboliques (dégradation de molécules complexes). *R. opacus* PD630, par exemple, est l'une des espèces les plus connues par son pouvoir de produire et accumuler des lipides à intérêt biotechnologique.

La cellule peut comporter aussi un ou plusieurs plasmides de différentes tailles qui codent pour diverses fonctions. Ceux de *R. erythropolis* PR4, au nombre de 3, assurent par exemple la dégradation des hydrocarbures et la résistance aux métaux lourds

L'ADN chromosomique et plasmidique des espèces appartenant au genre *Rhodococcus* peuvent être linéaires ou circulaires (**Cappelletti et al., 2019**).

## II. Les espèces de *Rhodococcus* de l'environnement marin

### 1. Habitat

Les bactéries appartenant au genre *Rhodococcus* sont largement distribuées dans diverses niches marines. En état libre, on peut les trouver dans l'eau marine (en surface ou en différentes profondeurs), le sol marin, les sédiments marins, les mangroves, et

## Chapitre1 : Revu bibliographique

---

dans de la glace. En état symbiotique, on peut les trouver en association avec des animaux invertébrés ou vertébrés et avec plusieurs plantes marines (**Das et al., 2006 ; Jagannathan et al., 2021**).

Dans l'eau et les sédiments marins, les espèces du genre *Rhodococcus* utilisent différentes molécules de carbones, d'azote, de soufre...etc, disponibles dans le milieu comme source pour leur croissance et génèrent d'autre molécules et substances qui peuvent être utilisée par d'autres microorganismes marins. De cette manière, elles contribuent dans différents cycles vitaux (cycle de carbone, d'azote, de soufre .... etc) (**Das et al., 2006**).

Dans les mangroves, elles effectuent diverses activités comme la fixation d'azote, la dégradation des feuilles et du bois des palétuviers et sont donc dotées d'activités cellulolytiques, pectinolytiques, amylolytiques, et protéolytiques (**Lang et al, 2016**).

Quant aux invertébrés marins tels que les éponges et les coraux, elles abritent plusieurs bactéries notamment celles appartenant au genre *Rhodococcus*. Elles sont généralement situées dans les espaces extra et intracellulaires des invertébrés (**Jagannathan et al., 2021**). Cette relation est symbiotique où les invertébrés procurent de la nourriture et de la protection contre divers facteurs dans l'environnement marin, les bactéries ; quant à elles ; profitent à l'éponge en fournissant des nutriments par les sécrétions et la protection contre d'autres microbes pathogènes, et en renforçant la structure spongieuse. Des vertébrés marins tels que les myxines (poissons sans mâchoire) et les tortues abritent aussi des bactéries du genre *Rhodococcus* (**De santi et al., 2014 ; Candan et Candan, 2020**).

Finalement, les espèces du genre *Rhodococcus* peuvent s'associer à des espèces végétales marines. Ces différentes interactions sont importantes pour la plante car le changement climatique (stress abiotique) peut abaisser les défenses d'une plante contre des microorganismes pathogènes. Les bactéries symbiotiques notamment celles appartenant au genre *Rhodococcus* peuvent sécréter alors des exotoxines ou des antibiotiques pour protéger la plante contre ces agents pathogènes (**Jagannathan et al., 2021**).

## 2. Mécanisme d'adaptation des bactéries du genre *Rhodococcus* aux conditions extrêmes de l'environnement marin

L'adaptation est un processus par lequel un organisme développe la capacité de vivre dans son habitat. Les changements environnementaux modifient l'équilibre des communautés microbiennes en favorisant certaines populations et restreignant autres (Gohel *et al.*, 2015).

Les bactéries appartenant au genre *Rhodococcus* sont des bactéries qui peuvent survivre dans diverses conditions extrêmes et sous différents types de stress car elles ont développé diverses stratégies pour maintenir leur structure et fonction cellulaire (Gontia-Mishra *et al.*, 2017).

### 2.1. Adaptation au froid

Les bactéries appartenant au genre *Rhodococcus* vivent dans des environnements marins froids (Raymond-Bouchard *et al.*, 2018).

Dans des conditions froides, multiples copies de gènes qui assurent plusieurs fonctions ont été détectées dans leurs génomes. Des protéines, de composition différente en acides aminés ont été codées par ces gènes et qui ont permis une adaptation au froid. Parmi ces protéines, l'enzyme: choline déshydrogénase qui oxyde la choline en bétaine aldéhyde qui sera ensuite oxydée en glycine bétaine. L'accumulation de ce dernier à été corrélée à une tolérance accrue au froid (Raymond-Bouchard *et al.*, 2018).

Ces bactéries produisent aussi un grand nombre de chaperons, des protéines régulatrices résistantes au froid importants pour maintenir la fonctionnalité des protéines. D'autres produisent des composées appelés solutés compatibles, qui s'accumulent à des concentrations élevées dans les cellules sans perturber les fonctions cellulaires, tels que la choline, la glycine, la bétaine et la sarcosine et qui permettent à la cellule de résister à la formation de glace intracellulaire et à l'augmentation de la pression osmotique due à une augmentation de la salinité à des températures inférieures à zéro. Le tréhalose, un autre soluté compatible, empêche la dénaturation et l'agrégation des protéines lors de la baisse soudaine de la température. Il peut également stabiliser les membranes cellulaires dont la fluidité diminue en raison d'un stress dû au froid (Elbein *et al.*, 2003).

### 2.2. Adaptation à un pH alcalin

Les bactéries appartenant au genre *Rhodococcus* ont développé diverses stratégies pour maintenir les conditions intracellulaires constantes dans des conditions d'alcalines de leur environnement.

Elles conservent la force motrice du proton, par la chaîne de transport d'électrons qui agit à la fois comme une pompe à électrons et une pompe à protons, pompant les électrons en sens inverse de celui des protons, qui maintient le gradient de pH à travers la cellule membrane pour empêcher l'afflux de protons. Elles provoquent une saturation accrue des acides gras membranaires lorsque le pH environnemental à l'extérieur devient extrêmement élevé ou faible. D'autres peuvent convertir certains acides aminés en amides alcalins pour neutraliser l'influx de protons (**Pàtek et al., 2021**).

### 2.3. Adaptation aux sels (NaCl)

La présence de fortes concentrations de sel dans un milieu peut inhiber et perturber la croissance bactérienne. Les bactéries s'adaptent au stress hyper-osmotique en ajustant les concentrations de leurs composés osmoprotecteurs intracellulaires (osmolytes) et produisant des solutés compatibles. *Rhodococcus. jostii* RHA1 a montré une forte tolérance au stress osmotique en synthétisant l'ectoïne et le tréhalose. Ces deux composés sont les osmoprotecteurs prédominants chez les actinomycètes et spécifiquement chez *Rhodococcus* (**Pàtek et al., 2021**).

La solutés compatibles produit par *R. aetherivorans* BCP1 et *R. opacus* R7 sont l'ectoïne, le tréhalose et le glycogène. Leur synthèse est déterminée par l'opéron ectABC (ectoïne), les gènes otsAB (tréhalose) et les gènes glg (glycogène). Le stress permet, chez ces deux espèces, l'activation des gènes codant pour des protéines protectrices contre le stress telles que les chaperons et les protéases (**Louesdon et al., 2014**).

*R. erythropolis* DSM 1069 est une autre souche capable de surmonter efficacement un stress osmotique causé par l'ajout de chlorure de sodium. Sa stratégie est de produire plusieurs types d'acides gras à entités hydroxyl substitués, à ramification méthyle ou à ramification cyclo-propylée et d'autres acides gras polyinsaturés en grandes quantités. Dans cette réponse adaptative, les groupes chargés négativement des acides gras entraînant une répulsion du NaCl (**Louesdon et al., 2014**).

*Rhodococcus* sp. HX-2 est capable aussi de se développer en présence de fortes concentrations de sel (jusqu'à 10 % de NaCl). Comme réponse au stress salin, cette

# Chapitre1 : Revu bibliographique

---

bactérie synthétise de la bétaine comme soluté compatible ou la transporte à partir de son milieu extérieur. Quand à *R. opacus* PD630, elle produit de substances polymériques extracellulaires (EPS) et trois osmolytes : le tréhalose, l'ectoïne et l'hydroxyectoïne (**Hu et al., 2020**).

## 2.4. Adaptation à d'autres conditions stressantes

### 2.4.1. Adaptation à la présence de solvants organiques

La grande hydrophobicité de la paroi des bactéries appartenant au genre *Rhodococcus* constitue un premier élément clé de résistance aux solvants organiques qui peuvent être présent dans le milieu marin (**Pàtek et al., 2021**).

Ces bactéries peuvent aussi tolérer la présence de divers solvants en utilisant plusieurs mécanismes. En effet, elles peuvent changer la composition des leurs parois cellulaires et leurs membranes, produire diverses enzymes pour dégrader ou convertir ces composés toxiques, synthétiser des composés tensioactifs, ou finalement produire des exopolymères pour se protéger contre l'action de ces solvants (**Pàtek et al., 2021**).

Dans une étude conduite sur 29 souches appartenant à six espèces du genre *Rhodococcus*, *R. erythropolis*, *R. fascians*, *R. longus*, *R. opacus*, *R. rhodochrous* et *R. ruber*, il a été constaté que ces souches ont répondu à la présence de solvants organiques en modifiant le degré de saturation, le pourcentage et la longueur des acides gras de leur membrane cellulaires. Des changements ont été aussi constaté dans la longueur des chaines des acides mycoliques (**De Carvalho, 2019**).

### 2.4.2. Adaptation à la présence de métaux toxiques

Les métaux lourds sont des composés toxiques ayant des effets néfastes sur les bactéries car ils peuvent inhiber l'activité des enzymes ou interférer directement avec la formation et les fonctions des acides nucléiques. Parmi ces métaux figure le chrome, le nickel, le cobalt, le zinc, le mercure et le plomb (**Pàtek et al., 2021**).

Le genre *Rhodococcus* a pu développer plusieurs mécanismes pour résister à des concentrations très élevées de ces composés toxiques (jusqu'à 250 Mm). Ils ont pu produire un certain nombre de gènes qui codent pour des chaperons, des protéines de résistance aux différents métaux, des oxydases, des protéines d'efflux magnésium ( $Mg^{+2}$ ) et monoxyde de carbone (Co), des Atpases de type P transloquant les métaux lourds (**Pàtek et al., 2021**).

### 3. Caractéristiques des espèces de *Rhodococcus* marines les plus importantes sur le plan biotechnologique

#### 3.1. *Rhodococcus opacus*

Les colonies de *R. opacus* ont une surface lisse à rugueuse, un contour régulier et une marge entière et sont colorées en gris crème sur la gélose au glucose et à l'extrait de levure. Elle se développe à une température de 20 à 40°C.

Sa paroi est composée des chaînes d'acides mycoliques de 48 à 54 atomes de carbone.

La bactérie est positive pour la catalase et le pNPphosphoryl-choline mais négative pour la 2-désoxythymidine-5 $\phi$ -pNP-phosphate, l'oxydase, le pNP-bd-xyloside.

Elle dégrade l'adénine, la L-tyrosine et l'acide urique mais pas l'arbutine, la caséine, la cellulose, l'élastine, la gélatine ou l'amidon.

Elle utilise plusieurs sources de carbones tels que le succinate, le citrate, le p-hydroxybenzoïque et plusieurs sources d'azote tels que l'aspartate, l'urée, la tyramine, l'acide urique (**Jones et Goodfellow, 2012**).

#### 3.2. *Rhodococcus rhodochrous*

Les colonies de *R. rhodochrous* sont colorées en orange à rouge sur la gélose au glucose et à l'extrait de levure et la gélose de Sauton. Sa température de croissance se situe entre 10 à 40°C.

Sa paroi est composée des chaînes d'acides mycoliques de 38 à 48 atomes de carbone.

La bactérie est positive pour la catalase, la 2-désoxythymidine-5 $\phi$ -pNP-phosphate, la  $\beta$ -estérase et le pNP-b-d-xyloside mais négative pour l'allantoïnase, l' $\alpha$ -estérase, le  $\beta$ -galactosidase, la nicotinamidase, le pNP-phosphoryl-choline, l'oxydase et la pyrazinamidase. Elle hydrolyse l'arbutine, réduit le nitrate en nitrite, mais ne produit pas de sulfure d'hydrogène.

Elle dégrade l'adénine, l'ADN et l'acide urique, mais pas la cellulose, la chitine, l'élastine, les tweens 20, 40, ou 60, ou le xylan.

Elle utilise plusieurs sources de carbones tels que le glycérol, l'inuline, le mannose, l'acide gamma-hydroxybutyrique, la lactate et la malate.

La L-alanine, la L-leucine, la dl-norleucine, la tyramine, la L-tyrosine et la valine comme sources d'azote (**Jones et Goodfellow, 2012**).

### 3.3. *Rhodococcus fascians*

Les colonies de *R. fascians* sont généralement convexes et orange sur gélose à l'extrait de levure et au glucose. La thiamine est nécessaire à sa croissance. Elle se développe à une température de 10 à 40°C.

Sa paroi est composée des chaînes d'acides mycoliques de 38 à 52 atomes de carbone. Elle est positive pour la phosphatase acide, l'allantoïnase, la naphтол-ASBI-phosphohydrolase, la pyrazinamidase, l'uréase et la valinearylamidase, mais négative pour la N-acétyl-b-glucosamine, la cystine arylamidase, le 2-désoxythymidine-5 $\phi$ -pNP-phosphate, l'estérase (C8), l' $\alpha$ - et le  $\beta$ -galactosidase, le  $\beta$ -glucosidase, le  $\beta$ -glucuronidase, l'oxydase, le pNP-phosphoryl-choline et le pNP-b-d-xyloside.

Elle dégrade l'adénine et la L-tyrosine, mais pas l'arbutine, la caséine, la cellulose, la chitine, l'élastine, l'amidon ou le xylane.

Elle utilise plusieurs sources de carbones tels que le xylitol, le N-acétyl-D-glucosamine et le citrate.

La D-alanine, la L-alanine, le bénomyle, le D-glucosamine, la L-proline, la putrescine, D-sérine, la L-tyrosine et la valine sont utilisées comme seules sources d'azote (**Jones et Goodfellow, 2012**).

### 3.4. *Rhodococcus erythropolis*

Les colonies de *R. erythropolis* sont généralement rugueuses, de couleur orange à rouge sur la gélose au glucose et à l'extrait de levure et la gélose de Sauton. Elle croit à une température de 4 à 40°C.

Sa paroi est composée des chaînes d'acides mycoliques de 36 à 48 atomes de carbone. Elle est positive pour le 2-désoxythymidine-5 $\phi$ -pNP-phosphate, le pNP-phosphorylcholine, le pNP-bd-xyloside et la phosphatase, mais négative pour l'allantoïnase et l'oxydase.

Elle dégrade l'adénine, l'arbutine, et la l-tyrosine, mais pas la caséine, la cellulose, la chitine, l'élastine, l'hypoxanthine, l'amidon, les tweens 20, 40 ou 60 ou le xylan.

Elle utilise plusieurs sources de carbones tels que le butane-1,3-diol, l'alcool cétylique, l'éthanol, le propylène glycol, la salicine, l'adipate et l'acétate.

L'acétamide, la D- et L-alanine, la L-asparagine, la D-glucosamine, la L-leucine, DL-norleucine, la L-phénylalanine, la L-proline, la putrescine, la L-sérine et la valine sont utilisées comme seules sources d'azote (**Jones et Goodfellow, 2012**).

### **3.5. *Rhodococcus ruber***

Les colonies de *R. ruber* sont généralement rugueuses, de couleur rose à rouge sur la gélose au glucose et à l'extrait de levure et la gélose de Sauton. Elle se développe à une température de 28 à 40°C.

Sa paroi est composée des chaînes d'acides mycoliques de 38 à 50 atomes de carbone. Elle est positive pour l'acétamidase, la catalase, le 2-désoxythymidine-5'-pNP-phosphate et le pNP-phosphoryl-choline, mais négative pour la phosphatase acide, l'allantoïnase, l' $\alpha$ - et la  $\beta$ -estérase, la  $\beta$ -galactosidase le pNPb-d-xyloside et l'oxydase. Elle dégrade l'adénine et l'acide urique, mais pas la cellulose, la chitine, l'ADN, l'élastine, les tweens 20, 40 et 60, ou le xylane.

Elle utilise plusieurs sources de carbones telles que laD- et L-arabitol, l'iso-butanol, le glycérol, le mannose, le propanol, le propylène-glycol et l'amidon.

La L-alanine, le D-glucosamine, la L-leucine, la putrescine, la tyramine, la L-tyrosine et la valine sont utilisées comme seules sources d'azote (**Jones et Goodfellow, 2012**).

# Chapitre1 : Revu bibliographique

---

## **Chapitre 2 : Méthodologie**

## Chapitre 2 : Méthodologie

---

Au cours de notre étude, 19 articles scientifiques ont été téléchargés à partir des moteurs de recherches scientifiques suivants: ScienceDirect, Google Scholar, SciELO et Europe PMC, puis analysés.

Dans la barre de recherche on a mis les mots clés suivants : *Rhodococcus*, actinomycètes, environnement marin, eau marine , édiments marins, application, biotechnologie, synthèse, dégradation, bioremédiation.

Lors de l'analyse de chaque article, nous nous sommes intéressées à :

- La bactérie (espèce, code de la nomenclature utilisée..etc).
- Le lieu de l'isolement de la bactérie (eau marine, sédiment marin, en association avec des vertébrés ou invertébrés marins ..etc ) ainsi que le pays où la recherche a été effectuée.
- L'intérêt biotechnologique de la bactérie.

Ensuite, on a classé ces articles selon l'intérêt biotechnologique en deux catégories. Des articles qui traitent la synthèse et la production des molécules intéressants tels des enzymes, des nanoparticules, des molécules bioactives, des pigments, des biodiesel et des biosurfactants. Et des articles qui traitent la dégradation des substances externes comme la dégradation de microplastiques et des hydrocarbures.

Une fois, l'analyse d un élément a été effectuée, elle a été discutée et comparée à d'autres études.

La langue de rédaction de ces articles était l'anglais, ce qui nous a conduits d'utiliser des sites de traduction comme Google traduction.

## Chapitre 2 : Méthodologie

---

## **Chapitre 3 : Résultats et discussion**

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

L'analyse de divers articles scientifiques a démontré que les espèces marines du genre *Rhodococcus* ont un intérêt biotechnologique important. Ces espèces peuvent être exploitées industriellement pour la production des enzymes, des pigments, des nanoparticules, des biosurfactants et des biomolécules actives ayant des propriétés extraordinaires.

### 1. Production des enzymes

Les enzymes sont des macromolécules protéiques, de haute masse moléculaire (de 10 à 1000 kilodaltons), qui catalysent diverses réactions chimiques en augmentant leurs vitesses d'au moins 10<sup>6</sup> fois, par rapport à la réaction en leur absence (**Granner, 2008**). Elles sont présentes dans les cellules de tous les organismes vivants où elles jouent un rôle essentiel dans plusieurs procédés métaboliques permettant aux nutriments d'être transformés en énergie et en matériaux cellulaires. De plus, les enzymes sont responsables de la dégradation des molécules complexes en molécules plus facilement assimilables (**Meunier, 1999**). Les enzymes microbiennes sont les enzymes préférées par rapport aux enzymes végétales et animales et sont les plus utilisées actuellement dans l'industrie en raison de leur propriétés diverses. Elles sont relativement plus stables et offrent une grande diversité d'activités catalytiques (**Barredo, 2005**).

Dans notre analyse, plusieurs bactéries du genre *Rhodococcus* isolées à partir de différentes niches marines ont pu produire plusieurs enzymes telles que des estérases, des oxydases, des endoglucanases, des lyases... etc (**De santi et al., 2014 ; Wu et al., 2014 ; Zeng et al., 2018 ; Wang et al., 2020 ; Hu et al., 2021**).

#### 1.1. Estérase

Les estérases (EC 3.1.1.1) sont des enzymes lipolytiques qui catalysent l'hydrolyse des esters en alcool et en acides selon la réaction suivante (**López-López et al., 2014**).



Elles appartiennent à la famille des "hydrolases" et possèdent une triade catalytique hautement conservée formée par une serine, une histidine et un aspartate. Elles sont

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

employées dans plusieurs industries comme l'industrie alimentaire (**Barone et al., 2014**).

Une actinobactérie psychrophile marine nommée *Rhodococcus* sp AW25M09 isolée de l'estomac d'une myxine de l'Atlantique (*Myxine glutinosa*), une espèce d'animaux marins agnathes (sans mâchoire) de la famille des Myxinidae, habitant le fond marin froid du Fjord Hadsel, Norvège, a pu produire une estérase extrêmement alcaliphile et adaptée au froid (**De santi et al., 2014**).

L'enzyme possédait plusieurs critères intéressants, elle avait une activité maximale à une température optimale de 30°C et était active dans des conditions de froid. En fait, 50% de l'activité a été retenue à 10°C.

La température optimale de l'activité maximale de l'estérase de *Rhodococcus* sp AW25M09 a été différente de d'autres estérases produites par d'autres bactéries marines tels que *Erythrobacter seohaensis* SW-135, *Serratia* sp, *Microbulbifer thermotolerans* DAU221, *Psychrobacter pacificensis* dont activité maximale de l'enzyme a été observée à 60°C, 10°C, 45°C, 25°C respectivement (**Wu et al., 2015 ; Lee, 2016 ; Jiang et al., 2016 ; Huo et al., 2017**).

Concernant le pH, l'activité de l'estérase de *Rhodococcus* sp AW25M09 a été maximale à un pH alcalin de 11. Celles de *Erythrobacter seohaensis* SW-135, *Serratia* sp, *Microbulbifer thermotolerans* DAU221, *Psychrobacter pacificensis* avaient une activité maximale dans intervalle de pH de 7,5, 8, 8,5 et 10 respectivement.

L'estérase de *Rhodococcus* sp AW25M09 a été active vis-à-vis plusieurs esters de p-nitrophényle à chaîne courte (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), et a montré une activité optimale avec l'ester butyrate (C<sub>4</sub>). Les estérases marines produites par *Erythrobacter seohaensis* SW-135, *Microbulbifer thermotolerans* DAU221 et *Psychrobacter pacificensis* ont également montré une activité optimale avec l'ester butyrate (C<sub>4</sub>). Quant à l'estérase produite par *Serratia* sp, elle a montré une activité optimale avec l'ester acétate (C<sub>2</sub>).

Concernant les solvants, l'estérase de *Rhodococcus* sp AW25M09 a montré une bonne tolérance à divers solvants tels que l'acétonitrile, l'éther di-éthylique, le di-méthylsulfoxyde, le di-méthyl-formamide. L'estérase produite par *Erythrobacter seohaensis* SW-135 est très résistante à l'acétonitrile et di-méthyl-formamide alors que l'activité de l'estérase produite par *Psychrobacter pacificensis* a été augmentée par la présence de l'acétonitrile.

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

L'estérase de *Rhodococcus sp* AW25M09 a montré une bonne tolérance au stress salin (1 M de NaCl). Celle produite par *Erythrobacter seohaensis* SW-135 a présenté une diminution de 95% de son activité en présence de 1 M NaCl, tandis que les estérases produites par *Serratia sp* et *Psychrobacter pacificensis* ont montré une activité élevée en présence de forte concentration en NaCl, 4 M NaCl et 5 M NaCl respectivement (Wu *et al.*, 2015 ; Jiang *et al.*, 2016 ; Huo *et al.*, 2017 ).

Finalement, en ce qui concerne les détergents, l'estérase de *Rhodococcus sp* AW25M09 a été très active en présence de Tween 20 alors que l'estérase produite par *Erythrobacter seohaensis* SW-135 conservait uniquement 2% de son activité en sa présence (De santi *et al.*, 2014 ; Huo *et al.*, 2017 ).

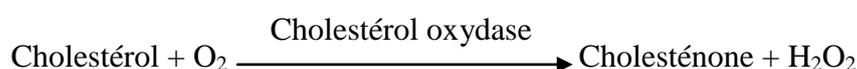
Les estérases ont des utilisations potentielles dans divers secteurs. L'industrie des détergents doit être mentionnée en premier lieu, où elles sont couramment utilisées comme additifs, principalement dans la blanchisserie et dans les lave-vaisselles ménagers.

L'alimentation animale peut également constituer un vaste champ d'application pour ces enzymes en termes d'amélioration de la digestibilité et de l'assimilation des nutriments. En effet, certains composés comme la cutine qui recouvre la surface des végétaux restent résistantes au processus de la digestion, d'où la nécessité d'usage des estérases qui ont la propriété d'hydrolyser la cutine.

Les estérases entrent aussi dans la synthèse de peptides, d'acides gras et de polysaccharides par mécanisme d'hydrolyse inverse et en présence de faibles quantités d'eau. Ce procédé a été utilisé dans les industries pharmaceutiques et chimiques pour la production de certains composés (Tutino *et al.*, 2009).

### 1.2. Cholestérol oxydase

La cholestérol oxydase (EC 1.1.3.6) est une enzyme strictement microbienne, non-synthétisée par les végétaux ou les animaux, et qui appartient à la famille des oxydoréductases (Ghosh *et al.*, 2018). C'est une flavoenzyme qui contient de la flavine adénine dinucléotide (FAD) et catalyse l'oxydation du cholestérol en cholesténone et réduisent l'oxygène en peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante (Ghosh *et al.*, 2018) :



## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

Une bactérie marine nommée *Rhodococcus erythropolis* PR 4 isolée de la mer profonde à Okinawa, au Japon, a pu produire deux cholestérol oxydases thermophiles de la famille des vanillyl-alcool-oxydase (VAO) appelées ChoRI et ChoRII (**Doukyu et Ishikawa, 2020**).

ChoRI avait une activité maximale à une température optimale de 45°C alors que ChoRII a montré une activité maximale à une température optimale de 55°C. ChoRI était stable à des températures de 30°C à 50°C alors que ChoRII était stable à des températures de 30°C à 60°C.

Concernant le pH, les deux enzymes ChoRI et ChoRII présentaient une activité maximale à un pH optimal de 7. ChoRII présentait une activité relativement élevée dans un intervalle de pH 6 à 8 et l'activité des deux enzymes a été stable dans un intervalle de pH 4,5 à 10,5.

En ce qui concerne la spécificité, ChoRI et ChoRII agissaient sur le cholestérol, le  $\beta$ -choléstanol et le  $\beta$ -sitostérol. Les activités de ChoRI vis-à-vis du  $\beta$ -choléstanol et du  $\beta$ -sitostérol étaient similaires à celles du cholestérol. Alors que ChoRII présentait des niveaux d'activité de 2,4, 2,1 et 1,7 fois plus élevés envers le  $\beta$ -choléstanol, le  $\beta$ -sitostérol et le stigmastérol consécutivement que le cholestérol.

L'ajout des cations de calcium ( $Ca^{+2}$ ), de magnésium ( $Mg^{+2}$ ), de fer ( $Fe^{+2}$ ), de nickel ( $Ni^{+2}$ ) et d'argent ( $Ag^{+2}$ ) n'avait aucun effet sur les activités des deux enzymes de *Rhodococcus erythropolis* PR 4.

Une cholestérol oxydase marine produite par la souche de *Streptomyces* sp AKHSS isolée du sol marin, dans la côte de l'Andhra Pradesh, en Inde a montré une activité maximale à une température optimale de 37°C et un pH alcalin de 9 et a été stable jusqu'à une température de 60°C et un pH de 11 (**Kavitha et Savithri, 2019**). Cette enzyme agissait seulement sur le cholestérol et son activité a augmenté jusqu'à 45% en présence des cations de magnésium ( $Mg^{+2}$ ).

La cholestérol oxydase possède une valeur commerciale importante et elle est largement utilisée aux laboratoires d'analyse alimentaire ou clinique pour la détermination de la concentration du cholestérol dans les aliments, le sérum et d'autres échantillons cliniques. En fait, des taux élevés de cholestérol dans les aliments tels que les viandes et

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

les œufs causent des taux élevés de cholestérol sérique qui sont associés à un risque accru de maladies cardiovasculaire et de nombreux types de cancers (**Li et al., 2019**).

De plus, la cholestérol oxydase possède une activité insecticide. Elle s'est révélée potentiellement létale contre des larves du charançon (**Doukyu et Ishikawa, 2020 ; Ghosh et al., 2018**).

La catalyse du cholestérol et d'autres stérols permet l'obtention de plusieurs molécules telles que la 4-cholesténe-3-one, l'androst-4-ène-3,17-dione et l'androsta-1,4-diène-3,17-dione qui sont des composés à intérêt pharmaceutique et constituent des composés intermédiaires pour la production industrielle de médicaments stéroïdiens (**Ghosh et al., 2018**).

### 1.3. Diméthylsulfoniopropionate lyase

Les diméthylsulfoniopropionate (DMSP) lyases sont des enzymes qui scindent le diméthylsulfoniopropionate (DMSP) en sulfure de diméthyle (DMS) et en acrylate (**Harada et al., 2004**).

Le diméthylsulfoniopropionate (DMSP) est un soufre organique important et un composé omniprésent dans le milieu marin produit principalement par les phytoplanctons (**Fernandez et al., 2021**).

Une bactérie marine nommée *Rhodococcus sp NJ 530* isolée de la glace flottante de l'Antarctique avait la capacité de produire du DMS à partir de DMSP grâce à l'action de l'enzyme dddD-Rh (**Wang et al., 2020**). Cette dddD-Rh, d'un poids moléculaire de 73,21 KDA, fût la première dddD fonctionnelle isolée à partir des bactéries à Gram positif du groupe actinobactéries.

Elle a été active en présence d'acétyl-CoA et à une température de 20°C.

D'autres bactéries marines avaient la capacité de produire la diméthylsulfoniopropionate lyase tels que *Ruegeria pomeroyi* DSS-3, *Shimia* SK013 isolées à partir de l'eau marine aux États-Unis et des sédiments marins du Skagerrak, situé entre le sud de la Norvège, le Bohuslän suédois et le nord-ouest du Jutland danois (**Kanukollu et al., 2016 ; Zeng, 2019**).

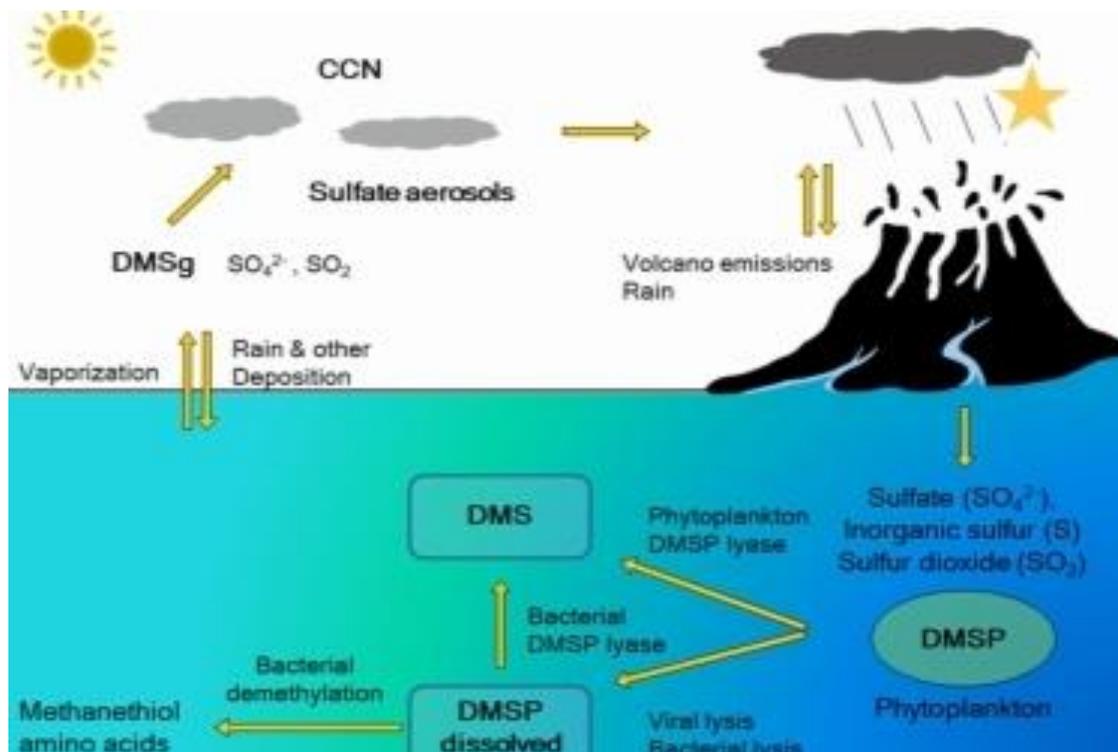
Le sulfure de diméthyle (DMS) est un composé soufré volatil qui contribue de manière significative au cycle du soufre. Plus précisément, le DMS passe dans l'atmosphère et forme moins de 1% de la totalité des gaz atmosphérique. Néanmoins, Il

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

a une influence sur les climats. En effet, il est oxydé en dioxyde ( $\text{SO}_2$ ), puis en sulfate ( $\text{SO}_4$ ) qui condense en minuscules particules d'aérosols. Ces particules se constituent en noyaux autour desquels se forment les gouttes de pluie et les nuages. Cet ensemble réfléchit une partie du rayonnement solaire et tempère donc le réchauffement de la planète, mais ils vont aussi éventuellement contribuer à des précipitations acides du fait de l'interaction des aérosols, de la vapeur d'eau et des radiations solaires (**figure 3**) (**Do et al., 2021**).

En outre, le DMS peut être impliqué dans le réseau trophique. Le DMS dissout dans l'océan ainsi que sa forme gazeuse peuvent être utilisés par les animaux marins tels les crustacés, les phytoplanctons et les macroalgues comme nutriment (**Kien et al., 2000 ; Do et al., 2021**).

De plus, les DMS et ses précurseurs DMS (P, O) sont dotés d'une propriété antioxydante (**Royer et al., 2021**).



**Figure 3 : Cycle du soufre médié par les bactéries marines.**  
**(Do et al., 2021).**

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

### 1.4. Endoglucanase

L'endoglucanase (EC 3.2.1.4) est une cellulase indispensable pour la dégradation de la cellulose en glucose en présence d'actions synergiques de deux autres types de cellulases appelées la cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91) et la  $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.21) (**Lin et al., 2019**).

Une bactérie marine *Rhodococcus sp* isolée à partir de sédiments marins en Chine a pu produire une endoglucanase adaptée au froid. Son activité s'est montrée maximale à une température de 40°C et un pH de 5. Cette enzyme a montré une bonne tolérance au butanol à 5 %. En sa présence, l'activité de l'endoglucanase était 1,18 fois plus élevée qu'en son absence. Cette enzyme a pu hydrolyser le carboxyméthylcellulose de sodium (CMCNA), l'avicel et le coton, mais n'avait aucune action sur le cellobiose et la laminarine (**Zeng et al., 2018**).

L'endoglucanase produite par *Rhodococcus sp* a également présenté une meilleure tolérance à différents ions métalliques tels que l'acide éthylène-diamine-tétracétique (EDTA) et le di-thio-threitol (DTT).

Concernant les ions métalliques, l'activité de l'endoglucanase de *Rhodococcus sp* a été favorisée par la présence des ions de potassium ( $K^+$ ), de sodium ( $Na^+$ ), de fer ( $Fe^{2+}$ ), de cuivre ( $Cu^{2+}$ ), de cadmium ( $Cd^{2+}$ ), de calcium ( $Ca^{2+}$ ) et de magnésium ( $Mg^{2+}$ ) par contre elle a été diminuée en présence des ions de zinc ( $Zn^{2+}$ ) et de plomb ( $Pb^{2+}$ ). Son activité est restée supérieure à 95% dans des solutions qui contiennent des ions de potassium ( $K^+$ ), du sodium ( $Na^+$ ) ou du fer ( $Fe^{2+}$ ). Les ions de calcium ( $Ca^{2+}$ ) et de magnésium ( $Mg^{2+}$ ) ont pu augmenter l'activité de l'endoglucanase et ont été nécessaires pour augmenter l'affinité de liaison au substrat de l'endoglucanase et pour stabiliser la conformation du site catalytique (**Zeng et al., 2018**).

Plusieurs bactéries marines avaient la capacité de produire l'endoglucanase telles que *Paenibacillus sp* BME-14 isolée de la mer profonde de Xiamen en Chine, *Hahella chejuensis* isolée des sédiments marins en Corée et *Photobacterium panuliri* LBS5T isolée à partir des œufs de langouste femelle, à Andaman en Inde (**Fu et al., 2010 ; Ghatge et al., 2014 ; Deep et al., 2016**).

Concernant la température, la température optimale de l'activité de l'endoglucanase produite par *Paenibacillus sp* BME-14 et *Photobacterium panuliri* LBS5T a été de 35 C° et 40 C° respectivement qui sont des conditions proches ou identiques aux

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

conditions thermales de *Rhodococcus* sp tandis que l'endoglucanase produite par la bactérie marine *Hahella chejuensis* a été thermophile puisque son activité optimale se situait à 65 C°.

Ces endoglucanases ont été aussi produites dans des conditions acides. Le pH de l'activité maximale a été de 4, 6.5 et 6.5 pour *Photobacterium panuliri* LBS5T, *Paenibacillus* sp BME-14 et *Hahella chejuensis* consécutivement.

Concernant les ions, l'activité de l'endoglucanase produite par *Paenibacillus* sp BME-14 a été stimulée par la présence de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), de plomb ( $\text{Pb}^{2+}$ ) et du magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) mais a été inhibée par la présence de cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) et de l'acide éthylène-diamine-tétracétique (EDTA). L'activité de l'endoglucanase produite par *Hahella chejuensis* a été augmentée par la présence de potassium ( $\text{K}^+$ ), de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), de magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) et de l'acide éthylène-diamine-tétracétique (EDTA). L'endoglucanase de *Photobacterium panuliri* LBS5T a été actif en présence de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) par contre, elle a été inhibée par la présence de cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) et de zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ ) (Fu et al., 2010 ; Ghatge et al., 2014 ; Deep et al., 2016 ).

Le carboxy-méthyl-cellulose (CMC) a été dégradé par *Hahella chejuensis* et *Photobacterium panuliri* LBS5T. *Paenibacillus* sp BME-14 a pu hydrolyser le carboxy-méthyl-cellulose de sodium (CMCNA) et le glucane d'orge mais n'a pas pu dégrader l'amidon, la chitine, l'avicel, la laminarine, la gomme de caroube, et le xylane de bouleau (Fu et al., 2010 ; Ghatge et al., 2014 ; Deep et al., 2016 ).

L'endoglucanase est une enzyme très intéressante et peut être utilisée dans différents secteurs industriels tels que l'industrie alimentaire et de boissons, l'industrie des textiles, des détergents et de la bioénergie (production de biocarburants).

Cette enzyme est également intéressante dans la production du bioéthanol et d'autres produits chimiques. En fait l'obtention de bioéthanol à partir de la biomasse cellulosique comporte nombreuses étapes parmi lesquelles l'hydrolyse enzymatique de la cellulose en unités de sucres, une étape effectuée par l'intermédiaire des endoglucanases (Lin et al., 2019 ; Wu et Wu, 2020).

### 1.5. Phosphinothricine-acétyl-transférase

La phosphinothricine (PPT), connue sous le nom de glufosinate, est un herbicide qui inhibe spécifiquement l'activité de la glutamine synthétase des plantes, une enzyme qui

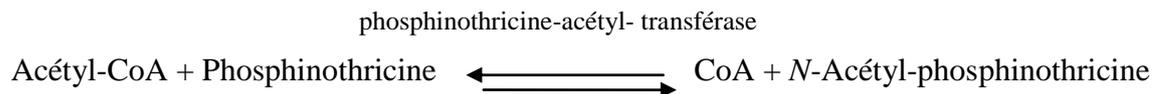
## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

joue un rôle important dans l'assimilation de l'ammoniac et la régulation du métabolisme de l'azote ( **Zhou et al., 2020**).

phosphinothricine-acétyl-transférase

La phosphinothricine-acétyl-transférase (EC.2.3.1.183) est une enzyme qui catalyse l'acétylation de la L-phosphinothricine selon la réaction suivante (**Eck, 2013**) :



L'insertion du gène codant pour cet enzyme permet donc la résistance des plantes transgéniques à l'action des herbicides à base de phosphinothricine (**Eck, 2013 ; Wu et al., 2014**).

Une bactérie marine ***Rhodococcus sp. YM12*** isolée de la boue marine, en Chine a été la meilleure bactérie parmi une centaine de bactéries marines capables de produire cette enzyme et résister à l'action de l'herbicide phosphinothricine (**Wu et al., 2014**).

L'activité maximale de l'enzyme se situait à un pH de 8 et à une température de 35°C alors que 50% de son activité a été stable dans un intervalle de température compris entre 0 C° et 10 C°, indiquant que l'enzyme rhodococcique est une enzyme adaptée au froid.

La phosphinothricine-acétyl-transférase a été principalement produite par *Streptomyces hygroscopicus* et *Streptomyces viridochromogenes* mais dont l'origine n'est pas marine d'où ***Rhodococcus sp. YM12*** constitue la première bactérie et actinobactérie marine à synthétiser cette enzyme (**Wu et al., 2014**). ( **mettre cette info dans le résumé**).

L'utilisation de cette enzyme est essentielle dans le domaine de la biotechnologie agricole et la phytothérapie pour la protection de cultures végétales contre la glufosinate (**Wu et al., 2014**).

### 1.6. ADN photolyase

L'ADN photolyase (EC 4.1.99.3) est une enzyme qui appartient à la famille des cryptochrome/photolyases et qui répare certains dommages causés par les ultraviolets (UV) au niveau des dimères de thymine ou plus généralement de pyrimidine de l'ADN (**figure 4**).



## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

**He et ses collaborateurs, 2021** ont isolé une actinobactérie nommée *Rhodococcus sp NJ-530* d'une eau marine glaciale en Antarctique, Chine, qui a pu produire une ADN photolyase dont son rôle a été important dans les mécanismes d'adaptation physiologique de cette bactérie au rayonnement UV de haute intensité dans son milieu naturel.

Ces chercheurs ont souligné l'intérêt médical important de cette enzyme. En effet, elle peut protéger contre le cancer de la peau causé par les radiations et contre certaines maladies génétiques mortelles.

Les dimères cyclobutaniques de pyrimidines (DCP) appartiennent à trois classes: classe I, celle des organismes unicellulaires, classe II, celle des organismes unicellulaires et multicellulaires et la classe III, celle des plantes. D'où la RPH de *Rhodococcus sp NJ-530* appartenait à la classe I de DCP (**He et al., 2021**).

Dans leur expérience les cellules de *Rhodococcus sp NJ-530* en phase de croissance exponentielle ont subi une irradiation par des UV-B à des intensités de 0.30 et 90  $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$  pendant différentes durées de culture (après 0,10, 20, 40, 90 et 150 min). L'expression du gène de la photolyase a été induite par un rayonnement intense d'UV-B de haute intensité (90  $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ ). En particulier, à 40 minutes, le niveau d'expression relatif du gène a été jusqu'à 149.17 fois plus élevé. Le changement dans l'activité de photoréparation est régulé par ce gène d'où il peut jouer un rôle important dans la minimisation de l'inhibition de la croissance due à l'irradiation UV-B (**He et al., 2021**).

Des photolyases marines ont été isolées à partir des genres *Pseudomonas*, *Hymenobacter*, *Sphingomonas* et *Photobacterium angustum*. Les photolyases des trois premières bactéries ont été produites suite à des irradiations UV-C et celle du *Photobacterium angustum*, après une exposition à des UV-B (**Matallana-surget et al., 2009** ; **Marizcurrena et al., 2017**). En fait, les cellules de la bactérie marine *Photobacterium angustum* ont montré un niveau de survie à 10 % pour des doses d'UV-B allant de 2.16 à 8.64  $\text{KJ m}^{-2}$  (**Matallana-surget et al., 2009**).

L'ADN photolyase peut être exploitée dans le domaine médical, plus particulièrement dermatologique, où elle jouerait un rôle important dans la prévention du cancer de la peau et de la kératose actinique (**Marizcurrena et al., 2018**).

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

### 2. Production des nanoparticules métalliques

Le terme « nanoparticule » est utilisé lorsque la particule a une dimension inférieure à 100 nm sachant qu'un nanomètre est équivalent à milliardième ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ) (**Zhang et al., 2010 ; Patil, 2018**). Les nanoparticules sont divisées en trois principales classes : les nanoparticules organiques (constituées majoritairement de polymères), les nanoparticules métalliques (telles les nanoparticules d'or et d'argent) et les nanoparticules d'oxydes métalliques (telles les nanoparticules d'oxyde de fer et de dioxyde de titane) (**Asmathunisha et Kathiresan, 2013**).

Les nanoparticules métalliques représentent les nanomatériaux les plus couramment utilisés dans divers secteurs tels le secteur sanitaire, le secteur des électroniques, des textiles, etc en raison de leur propriétés biologiques, électriques, thermiques et optiques uniques (**Shanmuganathan et al., 2018**).

Les actinobactéries marines, y compris le genre *Rhodococcus*, représentent une riche source microbienne de nanoparticules dotés de diverses activités biologiques (antimicrobienne, antioxydante, antipaludéenne....etc) (**John et al., 2021 ; Alam et al., 2021**).

***Rhodococcus ef1*** isolée à partir d'un consortium antarctique associé à un cilié marin psychrophile, a pu produire des nanoparticules de cuivre à une température de 22°C. L'analyse microscopique électronique de ces particules a révélé qu'il s'agissait de nanoparticules de forme sphérique à ovoïde, mono-dispersées et ayant une dimension de 30 nm (**John et al., 2021**).

Ces nanoparticules possédaient un intérêt médical très important. En fait, elles ont montré une activité antimicrobienne contre des bactéries pathogènes à Gram positif comme *Staphylococcus aureus* et à Gram négatif comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter koseri*, *Acinetobacter baumannii* ainsi qu'une activité antifongique contre *Candida albicans* et *Candida parapsilosis*.

D'autres bactéries d'origine marine avaient la capacité de produire des nanoparticules de cuivre tels que *Kocuria flava* M-7 et *Alcaligenis faecalis* HCB2. Ces nanoparticules avaient une forme sphérique comme celles de *Rhodococcus ef1* mais étaient de taille différentes comprise entre 5 et 30 nm pour les nanoparticules de *Kocuria flava* M-7 et

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

53 nm pour les nanoparticules de *Alcaligenis faecalis* HCB2 (**Dlamini et al, 2019 ; kaur et al, 2015**).

Les nanoparticules de cuivre peuvent être utilisées dans de nombreux domaines biotechnologiques par exemple en tant qu'additifs dans l'industrie des lubrifiants afin d'améliorer certaines de leurs propriétés. Leur résistance à la corrosion permet également leur utilisation dans la plomberie, la fabrication des pièces de monnaie et certains bijoux. Des applications biomédicales peuvent être envisagées dans le cadre de traitements cibles (tumeurs et ostéoporose) et pour de biosenseurs et biomarqueurs pour le diagnostic de certaines maladies (**Midander et al, 2009 ; Manna et al, 2012 ; Triboulet, 2013**).

Dans une autre étude, une bactérie marine *Rhodococcus rhodochrous* isolée des sédiments marins à Karachi, Pakistan a pu produire des nanoparticules d'argent. L'analyse microscopique électronique de ces particules a révélé qu'il s'agissait de nanoparticules de forme sphérique, de nature cristalline, ayant une dimension de 5,52 nm et un spectre d'absorption dans l'UV-vis de 412 nm (**Alam et al, 2021**).

Ces nanoparticules d'argent possédaient une activité antibactérienne contre *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, une activité antivirale contre poliovirus, une activité anticancéreuse et une activité antioxydante très marquées.

Cette étude expérimentale a révélé aussi pour la première fois une activité anti-leishmanienne contre *Leishmania tropica*, un agent pathogène responsable de la leishmaniose (**Alam et al., 2021**).

Plusieurs autres bactéries d'origine marines avaient la capacité de produire des nanoparticules d'argent tels que *Streptomyces sp* .LK3, *Nocardiopsis sp*.MBRC-1 et *Streptomyces sp*, qui avaient la même forme et la même nature que les nanoparticules produites par *Rhodococcus rhodochrous* mais elles différaient dans la taille qui a été estimé de 5 nm, 35nm et 45nm consécutivement pour *Streptomyces sp* .LK3, *Nocardiopsis sp*.MBRC-1 et *Streptomyces sp*. Le spectre d'absorption dans l'UV-VIS n'était pas identique et a été estimé de 420 nm, 415 nm et 430 nm respectivement (**Manivasagan et al., 2013 ; Karthik et al., 2014 ; Alam et al, 2021**).

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

Les nanoparticules d'argent sont des nanomatériaux très fascinants. Elles sont employées dans la fabrication des pansements, des masques et des gants chirurgicaux, des composites dentaires et autres instruments utilisés dans le domaine médical. Elles sont aussi utilisées dans la fabrication de certains emballages alimentaires, permettant d'augmenter alors leur efficacité bactéricide et leur durée de conservation (**Muhammad et al., 2016 ; Nasrullahzadeh et al., 2016 ; Chauvel, 2018**).

### 3. Production de molécules bioactives

Les molécules bioactives sont des substances antimicrobiennes naturelles d'origine biologique élaborées par divers microorganismes. Ces molécules bioactives se différencient les unes des autres selon leur mode de synthèse et leur spectre d'activité (**Taale, 2016**).

Plusieurs bactéries du genre *Rhodococcus* isolées à partir de différentes niches marines ont pu produire plusieurs molécules bioactives (**Yellamanda et al., 2016 ; Elsayed et al., 2020 ; Alhadrami et al., 2021**). Parmi lesquelles *Rhodococcus* sp VLD 10 isolée de la plage de Bheemunipatnam, Visakhapatnam, en Inde, qui a pu produire cinq composés bioactifs: l'acide benzoïque, le 2-nitrobenzaldéhyde, le 4-chlorobenzaldéhyde, l'acide nonadécanoïque et le 3-isopropyl hexahydro-1H-pyrido-5(1,2-a) pyrazine-1,4(6H)-dione (**Yellamanda et al., 2016**). Ces composés ont démontré une activité antimicrobienne contre des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif et contre des champignons (des levures et des moisissures). Le 3-isopropyl hexahydro-1H-pyrido-5(1,2-a)pyrazine-1,4(6H)-dion inhibait spécifiquement la croissance de *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Corynebacterium diphtheriae* et *Esherichia coli*. Cette molécule active a été synthétisée pour la première fois par *Rhodococcus*.

L'acide benzoïque inhibait la croissance de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Xanthomonas campestris* et *Botrytis cinerea*.

Le 4-chlorobenzaldéhyde et le 2-nitrobenzaldéhyde, se sont montrés actifs contre *Bacillus subtilis*, *Shigella flexneri* et *Staphylococcus aureus*.

Enfin, l'acide nonadécanoïque s'est montré actif contre *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Xanthomonas campestris* (**Yellamanda et al., 2016**).

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

En outre leur intérêt médical et pharmaceutique, ces substances trouvent une large application dans d'autres secteurs. L'acide benzoïque, est un conservateur alimentaire très connu, largement utilisé pour conserver les aliments acides (Luo et coll, 2015). Le 4-chlorobenzaldéhyde et le 2-nitrobenzaldéhyde, très utilisés dans la fabrication des produits pharmaceutiques et agrochimiques et appliqués comme colorants dans les industries alimentaires et du textile (Yellamanda et al., 2016).

Dans une autre recherche, *Rhodococcus sp. UA13* isolée de l'éponge marine *Callyspongia aff. implexa* dans la mer Rouge en Egypte, a pu produire un alcaloïde indole qui a été nommé le rhodindohyde (Fahim, et al., 2021).

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles hétérocycliques contenant de l'azote, synthétisés à partir d'acides aminés ou de leurs dérivés et qui sont dotés de diverses activités biologiques et pharmacologiques intéressantes telles que des activités antivirales, antitumorales, antibiotiques, antifongiques, antileucémiques, immunomodulatrices, antidépressives et anti-inflammatoires (Djama et Karour, 2020 ; Souza et al., 2020).

Le rhodindohyde du *Rhodococcus sp. UA13* possédait une activité antibactérienne et antitrypanosomienne contre *Staphylococcus aureus* NCTC 8325 et *Trypanosoma brucei brucei* TC221 consécutivement avec des valeurs  $IC_{50}$  supérieures à 100  $\mu\text{g/mL}$ . Cet alcaloïde a montré une activité anti-inflammatoire et un pouvoir analgésique importants et serait intéressant pour le traitement des douleurs. Son activité antipyrétique le rend un alcaloïde de choix pour traiter la pyrexie, une maladie caractérisée par une fièvre marquée (Fahim, et al., 2021). D'après notre connaissance, le rhodindohyde produit par la bactérie marine *Rhodococcus sp. UA13* est l'unique rhodindohyde synthétisé jusqu'à nos jours.

Une co-culture mixte de deux actinobactéries marines *Actinokineo sporasphaciospongiae* EG49 et *Rhodococcus sp UR59* symbiotiques des éponges marines de la mer Rouge en Egypte, a permis une production de 34 métabolites secondaires dont 25 ont été synthétisés par *Rhodococcus sp. UR59* notamment des angucyclines, des actinosporines E, H, G, un tétragulol et un anthraquinone capillasterquinone B (Alhadarmi et al., 2021).

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

La synthèse des actinosporines était initialement induite lorsque la culture de la souche *Actinokineospora sphaeospongiae* EG49 a été traitée avec la molécule de signalisation N-acétyl-D-glucosamine (GluNAc), puis une induction similaire a été constatée lorsque la souche *Actinokineospora sphaeospongiae* EG49 a été co-cultivée avec ***Rhodococcus* sp.UR59** ce qui a montré que le genre ***Rhodococcus* sp.UR59** a dirigé la biosynthèse des actinosporines de manière similaire au N-acétyl-D-glucosamine (**Alhadarmi et al., 2021**).

Les angucyclines sont particulièrement intéressantes. Ce sont des composés aromatiques ayant une structure centrale caractérisée par la présence d'un cycle benz[a]anthracène tétracyclique. Ces métabolites secondaires possèdent des effets antimicrobiens, anticancéreux, antiparasitaires et antipaludiques prometteurs (**Zhu et al., 2021**).

Les angucyclines et les anthraquinones produits par la co-culture mixte d'*Actinokineospora sphaeospongiae* EG49 et ***Rhodococcus* sp UR59** inhibaient la lysyl-ARN<sub>T</sub> synthétase du *Plasmodium falciparum*, un parasite protozoaire qui cause le paludisme chez l'homme (à une valeur IC<sub>50</sub> de 0.13 ug/ml) (**Maier et al., 2019 ; Alhadarmi et al., 2021**).

La production des angucyclines a été rapporté également par d'autres actinobactéries marines tels que : *Streptomyces* DSD011, *Saccharothrix espanaensis* An 113, *Gephyromycinifex aptenodytis* NJES (**Kalinovskaya et al., 2010 ; Sabido et al., 2020 ; Zhu et al., 2021**). *Streptomyces* DSD011 isolé de sédiments marins collectés près de la côte des Islas de Gigantes, Iloilo a pu synthétiser deux angucyclines: la fridamycine A et la fridamycine D qui présentaient une activité antibactérienne élevée contre *Staphylococcus aureus* multirésistant avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 500 µg/mL et 62.5 µg/mL respectivement ( **Sabido et al., 2020** ).

*Saccharothrix espanaensis* An 113 a pu produire deux angucyclines, la saccharothrixmicine A et la saccharothrixmicine B, ainsi que trois dicétopipérazines. Les saccharothrixmicines ont montré une activité contre *Candida albicans* et *Xanthomonas* sp. pv. *badrii* alors que les dicétopipérazines ont montré des activités antibactériennes contre *Vibrio alginolyticus* et *Vibrio parahaemolyticus* ( **Kalinovsky et al., 2010** ).

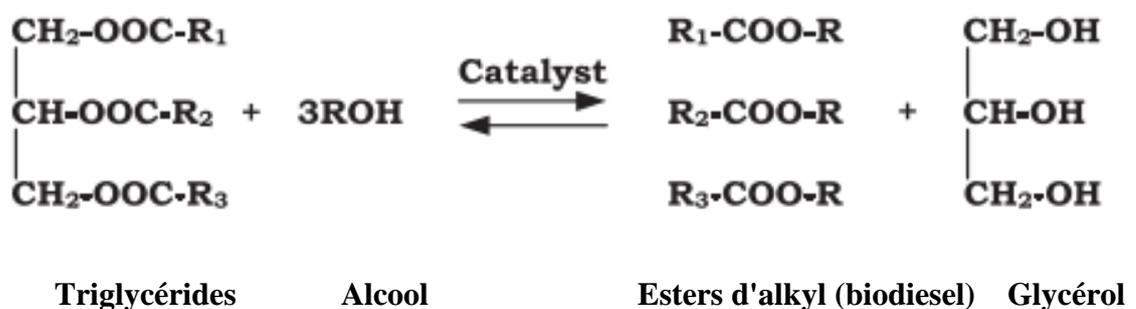
*Gephyromycinifex aptenodytis* NJES isolée du microbiote intestinal de Manchot empereur antarctique avait la capacité de synthétiser plusieurs métabolites actifs dérivés

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

de l'angucycline tels que la 2-hydroxy-frigocyclinone, la 2-hydroxy- tétrangomycine et la géphyromycine. Ces métabolites possédaient des activités inhibitrice contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans* (à des valeurs IC50 inférieures à 10 µm) (Zhu *et al.*, 2021).

### 4. Production de biodiesel

Le biodiesel est un biocarburant alternatif, durable, renouvelable et non-nocif pour l'environnement produit à partir de matériaux organiques renouvelables et non-fossiles. Plusieurs matières premières comme l'huile végétale et les graisses animales ont été utilisées par diverses bactéries comme substrats pour la production de biodiesel, un ester gras d'alcool léger (Faruque *et al.*, 2020). La transestérification, nommée aussi alcoololyse, est le processus le plus utilisé par les bactéries pour la production du biodiesel. C'est une réaction entre un ester et un alcool conduisant à la production d'un ester différent. La transestérification des huiles végétales est une réaction entre le triglycéride contenu dans une huile végétale avec un alcool pour former le glycérol et un mélange de monoesters utilisés comme biocarburant selon la réaction suivante :



**Figure 5: Réaction de transestérification des triglycérides avec l'alcool (Mohd Noor *et al.*, 2018).**

Le biodiesel possède des caractéristiques uniques par rapport aux autres carburants. Il n'est pas dangereux, il possède un pouvoir lubrifiant élevé et surtout une qualité excellente. Sa faible volatilité et inflammabilité permettent son transport et son stockage en toute sécurité (Faruque *et al.*, 2020).

Une bactérie nommée *Rhodococcus sp.*YHY01 isolée à partir de l'eau marine en Corée du Sud, avait une capacité de produire du biodiesel. Elle a été cultivée sur un

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

milieu liquide minimum appelé M9 contenant 1% de glucose comme source de carbone pour produire des esters méthyliques d'acide gras. La souche a été préalablement cultivée sur le milieu liquide *Luria-Bertani* (LB) puis inoculée dans 10 mL de milieu minimum M9 en tube en verre à raison de 0.1% (v/v). La fermentation s'est ensuite effectuée à une température de 30°C avec une agitation de 200 rpm pendant 72h (**Bahatia et al., 2017**).

L'effet de quelques substrats tels le furfural, l'hydroxy-méthyl-furfural (HMF), la vanilline, l'acétate et le 4-hydroxy-benzaldéhyde (4-HB) comme inhibiteurs de croissance de la bactérie et de la production des acides gras, à des concentrations allant de 0-4 mM a été étudié sur le même milieu liquide M9 à 1% de glucose et dans les mêmes conditions de fermentation. La valeur de la concentration inhibitrice (IC<sub>50</sub>) de chaque substrat a été calculée.

L'utilisation de chaque inhibiteur comme unique source de carbone a été également évaluée en cultivant la bactérie marine *Rhodococcus sp. YHY01* dans le milieu M9 contenant du furfural, du HMF, de la vanilline, du 4-HB et de l'acétate à leurs concentrations IC<sub>50</sub>.

L'effet d'autres substrats comme sources de carbone et d'azote sur la croissance de la bactérie et de la production des acides gras a été également évalué en utilisant toujours le milieu M9 comme milieu liquide de production et après 72h de croissance. La source de carbone testée a été l'hydrolysate de grappes de fruit vides de palmier à huile, contenant du glucose, du xylose et quelques traces de sucres tels l'arabinose et le xylitol. Des variations de concentrations en glucose et en xylose ont été effectuées (de 1 à 5%). La source d'azote testée a été le NH<sub>4</sub>Cl, à des concentrations comprises entre 0.1 et 0.9%.

L'effet du NaCl a été également testé à des concentrations comprises entre 0 et 6% en utilisant le milieu M9, contenant des valeurs optimisées de glucose et de NH<sub>4</sub>Cl, comme milieu liquide de production, à une température de 30°C et après 72h de croissance.

Finalement, La production de biodiesel par *Rhodococcus sp. YHY01* (un volume de 100 ml) a été réalisé en utilisant le glucose et l'hydrolysate de grappes de fruit vides de palmier à huile comme sources de carbone. La bactérie marine *Rhodococcus sp. YHY01* a été alors cultivée dans deux milieux minimum liquides, le premier à base de glucose, du NH<sub>4</sub>Cl et du NaCl ( avec des pourcentages de 2,5% ,0.5% et 0.9% consécutivement alors que le second était a base d' hydrolysate de grappes de fruit vides

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

de palmier à huile du  $\text{NH}_4\text{Cl}$  et du  $\text{NaCl}$  ( avec des quantités de 2,5%, 0,5% et 0,9%, à une température de 30°C pendant 120 heures. La quantité de biomasse produite ainsi que le pourcentage de la productivité et l'accumulation des acides gras ont été mesurées.

Il s'est avéré que l'addition du furfural, du HMF et de l'acétate au milieu de culture à des faibles concentrations a causé une augmentation de la production de la biomasse. Une concentration supérieure à 1 mM a provoqué une diminution de cette production. À une concentration de 4 mM de furfural, du HMF et de l'acétate, la croissance de *Rhodococcus* sp.YHY01 s'est réduite de 61%, 56% et 15% respectivement, comparée au témoin.

Une accumulation importante d'acides gras a été notée après l'ajout de 3 mM de furfural, 3 mM de HMF et 4 mM d'acétate au milieu de culture avec un pourcentage de 39%, 57% et 15% respectivement, par comparaison au témoin.

À 4 mM de furfural et de HMF, la production des acides gras a été diminuée de 52% et 45% respectivement. À 4 mM d'acétate, la production a été augmenté de 27%.

Une diminution importante de la production de la biomasse ainsi que de la production et l'accumulation des acides gras a été remarquée après l'ajout de 4 mM de vanilline et de 4-HB, avec des pourcentages de 85%, 96% et 38% respectivement pour la vanilline et 90%, 94% and 11% respectivement pour le 4-HB.

La valeur de la concentration inhibitrice ( $\text{IC}_{50}$ ) a été de 2 mM, 2,7 mM, 3,1 mM, 3,2 mM et de 3,7 mM pour la vanilline, le 4-HB, le furfural, le HMF et l'acétate consécutivement.

À ces valeurs, plusieurs types d'acides gras, principalement l'acide palmitique (C16:0), l'acide palmitoléique (C 16:1), l'acide stéarique (C18:0) et l'acide oléique (C18:1), ont été produits par la bactérie marine *Rhodococcus* sp.YHY01 dans le milieu minimum M9, contenant le glucose comme source de carbone.

L'utilisation de ces cinq substrats, chacun comme unique source de carbone dans le milieu minimum M9 et à leur concentration inhibitrice a démontré que *Rhodococcus* sp.YHY01 a pu les utiliser à des pourcentages différents. Ces pourcentages ont été par ordre décroissant : 100% pour l'acétate, 69% pour la vanilline, 53% pour le 4-HB, 42% pour le HMF et finalement 40% pour le furfural.

Concernant les sources de carbone, la bactérie n'a pas pu utiliser le xylose comme source de carbone, et aucune croissance n'a été observée. Dans le cas du glucose, la

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

croissance de la bactérie a augmenté avec la concentration de glucose. Les valeurs maximales ont été enregistrées à 3 % de glucose : une production de biomasse de 3,27 g dcw/L, une productivité des acides gras de 1,54 g/L et une accumulation des acides gras de 47 %.

Quant à la source d'azote, la production et l'accumulation maximale d'acides gras , de 1,9 g/L et 54,3% respectivement ont été enregistrées à une concentration de 0,3% de NH<sub>4</sub>Cl.

En ce qui concerne le NaCl, la production maximale de la biomasse (3,0 g dcw/L) et celle des acide gras (1,8 g/L) ont été observées à 2% de NaCl. L'accumulation d'acides gras a continué à augmenter jusqu'à une concentration de 4% de NaCl (69,9%), puis a diminué à une valeur inférieure à 2% NaCl.

À une concentration de NaCl de 6%, une augmentation des acides gras insaturés (14,5%) a été observée par rapport au témoin.

Il a été remarqué que la présence du NaCl a causé une diminution de pourcentage d'accumulation de l'acide stéarique (C18:0) et une augmentation du pourcentage d'acide oléique (C 18:1).

Finalement, la quantité maximale de la biomasse produite, le pourcentage de la productivité et de l'accumulation des acides gras mesurées étaient comme suit:

Dans le cas du premier milieu à base du glucose, du NH<sub>4</sub>Cl et de NaCl, la quantité maximale de la biomasse, de 4,08 g dcw/L, a été observée après 72 heures, avec une productivité d'acides gras de 2,52 g/L et une teneur de 61,7 %. La quantité maximale de glucose et d'azote a été utilisé dans cette même période (72h). Après 120 heures, la concentration résiduelle de glucose et d'azote a été de 15% et 5% consécutivement.

Dans le cas du second milieu à base du l'hydrolysate de grappes de fruit vides de palmier à huile, du NH<sub>4</sub>Cl et du NaCl, la quantité maximale de la biomasse, de 4,96 g/L, avec une productivité d'acides gras de 3,45 g/L et une teneur de 69% ont été enregistrés après 72 heures. Le glucose et l'azote ont été utilisés presque complètement en 120 heures, en fait, leur concentration résiduelle ont été de 7,7% et 3% respectivement.

L'hydrolysate de grappes de fruit vides de palmier à huile s'est avéré être milieu excellent pour l'accumulation d'acides gras pour ***Rhodococcus sp. YHY01*** avec une valeur de 4.96 g/l.

La productivité d'acides gras sur ce même milieu, estimée de 3,45 g/L après 72 heures, a été plus élevée que celle du *R. opacus* PD630 et *R. opacus* DSM 1069, qui ont été

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

rapportées pour produire des acides gras à partir d'autohydrolysats de pin détoxifié et d'autohydrolysats de mélèze détoxifié avec des valeurs de 0.25 g/L et 0.31 g/L après 56h et 32h respectivement, mais ont été inférieures à celle de *R. opacus* PD630 Xsp8 et de *R. opacus* MITXM-61 qui ont pu produire des quantités plus élevées d'acides gras en utilisant l'hydrolysats de canne de maïs et la pâte de bois Kraft, avec des valeurs de 11 g/L et 15.9 g/L après 168h et 120h respectivement.

**Bahatia et al., 2017**, ont finalement souligné que le biodiesel produit par *Rhodococcus* sp. **YHY01** présentait des propriétés intéressantes telles que sa meilleure qualité par comparaison à celui produit par des algues marines et au pétrodiesel, de nature chimique. Sa stabilité à l'oxydation permet son stockage pendant de longues périodes.

La production du biodiesel a été rarement rapportée des actinomycètes marins d'après nos recherches mais elle a été mentionnée des actinomycètes d'origine terrestre. C'est l'exemple de l'étude effectuée par **Röttig et al., 2016** où ils ont isolé des bactéries appartenant au genres *Rhodococcus*, *Nocardia* et *Streptomyces* à partir du sol aride (sable) dans les deux régions Taïf et Djeddah au Royaume de l'Arabie Saoudite, qui ont pu produire des acides gras pour produire du biodiesel.

Ces souches au nombre de six ont été cultivées sur un milieu nommé MSM additionné de 0.05 % (p/v) de NH<sub>4</sub>Cl et 1% de fructose (pour *Nocardia* sp. A3, *Streptomyces* sp. G25 et *Rhodococcus* sp. A27) ou 1% de glycérol (pour *Streptomyces* sp. G12, *Streptomyces* sp. G49 et *Streptomyces* sp. G116) pendant 03 jours. Les 04 souches de *Streptomyces* ont pu accumuler des triacylglycérol (TAG) alors que *Nocardia* et *Rhodococcus* ont pu, en plus de TAG, accumuler des esters de cire. Le pourcentage d'accumulation des acides gras totaux a été de 9% pour *Nocardia* sp. A3 et de 7 et 8% pour *Streptomyces* G12 et *Streptomyces* G116. *Streptomyces* G25, *Streptomyces* G49 et *Rhodococcus* sp. A27 ont montré une importante accumulation de 20 à 30%.

Les principaux acides gras produits par le genre *Nocardia* étaient l'acide palmitique (C16) et l'acide stéarique (C18) tandis que pour le genre *Rhodococcus* étaient l'acide palmitique (C16) et l'acide oléique (C18:1). Les acides gras produits par les souches de *Streptomyces* ont été principalement composés d'acides iso et antéiso-gras à chaîne ramifiée et de palmitate (**Röttig et al., 2016**).

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

### 5. Production de pigments

Les pigments sont des substances insolubles dans l'eau, pouvant absorber la lumière dans la région de spectre visible ou en UV. Ils se présentent sous forme organique, métallique ou minérale et sont constitués par un oxyde, un sel métallique ou un métal complexe (Bohic, 2007 ; Nguyen, 2018).

Les pigments naturels sont largement utilisés dans divers secteurs industriels tels l'industrie agricole, du textile, des cosmétiques, pharmaceutique et surtout dans l'alimentation où ils sont utilisés comme additifs alimentaires (colorants) (Paillié-Jiménez *et al.*, 2020).

Les bactéries marines peuvent produire divers types de pigments comme les caroténoïdes, la mélanine, la phénazine, le pyrrole, la violacéine et les quinones (Velmurugan *et al.*, 2020).

Les bactéries appartenant au genre *Rhodococcus* d'origine marine ont été connues par leur capacité de produire plus particulièrement des caroténoïdes (Ortega-Cabello *et al.*, 2017 ; Chen *et al.*, 2018), qui sont des pigments liposolubles, de couleur jaune ou rouge. Ces composés sont des dérivés d'isoprène insaturés appartenant à la classe des tétraterpénoïdes et sont constitués de 8 unités isoprène. Ils possèdent des propriétés biologiques importantes en raison de leur activité pro-vitaminée et leur forte activité antioxydante (Sharma et Ghoshal 2020 ; Velmurugan *et al.*, 2020).

Une bactérie marine désignée *Rhodococcus* sp isolée à partir des sédiments marins du Golfe du Mexique a produit des caroténoïdes, plus précisément des xanthophylles. La production de ces pigments a été effectuée dans des conditions défavorables. En fait, la bactérie a montré une bonne tolérance et résistance aux métaux lourds (sulfates de fer (FeSO<sub>4</sub>)) lors de sa culture sur la gélose au glucose et à l'extrait de levure et en présence de 0.025 % de sulfates de fer (FeSO<sub>4</sub>) (Ortega-Cabello *et al.*, 2017). Deux types de caroténoïdes ont été synthétisés, un 8'-apo-astaxanthinale et un astaxanthine-di-rhamnoside. Ce dernier très connu par son activité antibiotique et son rôle comme biosurfactant (Ortega-Cabello *et al.*, 2017).

Des complexes caroténoïdes-fer ont été également détectés dans les spectres ultraviolet-visible (UV-Vis). Ces complexes possédaient une activité antioxydante très élevée. Une propriété qui joue un rôle important dans la photoprotection, et dans l'amélioration du système immunitaire (Ortega-Cabello *et al.*, 2017).

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

Une autre bactérie *Rhodococcus* sp B7740 isolée à partir de l'eau marine de l'Arctique, à une profondeur de 25 mètres, a pu produire des énormes quantités de caroténoïdes. Il s'agissait de quinones isoprénoïdes, de l'ubiquinone-4, treize types de ménaquinones et trois caroténoïdes aromatiques rares (Chen *et al.*, 2018).

Ces composés peuvent être appliqués dans divers secteurs notamment le secteur médical, alimentaire et des cosmétiques. Leur rôle bénéfique pour la santé humaine est non-négligeable : ils assurent une protection contre les dommages photo-oxydants de la peau et les maladies liées à l'âge, et sont utilisés comme modulateurs immunitaires et précurseurs de la vitamine A. Plus particulièrement, la ménaquinone peut guérir les maladies hémorragiques chez les nouveau-nés et les personnes âgées, vu son action contre l'oxydation, le stress et l'inflammation (Chen *et al.*, 2018).

Les caroténoïdes ont été également rapportés par d'autres bactéries marines telles que *Streptomyces* AQBMM35, *Formosa* sp. KMW, et *Gordonia terrae* TWRH01 (Dharmaraj *et al.*, 2009 ; Sowmya et Sachindra, 2015 ; Carmen Loh *et al.*, 2020).

### 6. Production de biosurfactants

Les biosurfactants sont des composés amphiphiles tensioactifs produits par divers microorganismes y compris les bactéries, les champignons et les levures (Lima *et al.*, 2011). Ces composés d'origine microbienne sont classés selon leurs poids moléculaires, leurs propriétés, et leur mode d'action. Parmi les biosurfactants les plus connus figurent les glycolipides, les lipopeptides et les acides gras (Mouffok *et al.*, 2016 ; Khalfalah et Madjral, 2021).

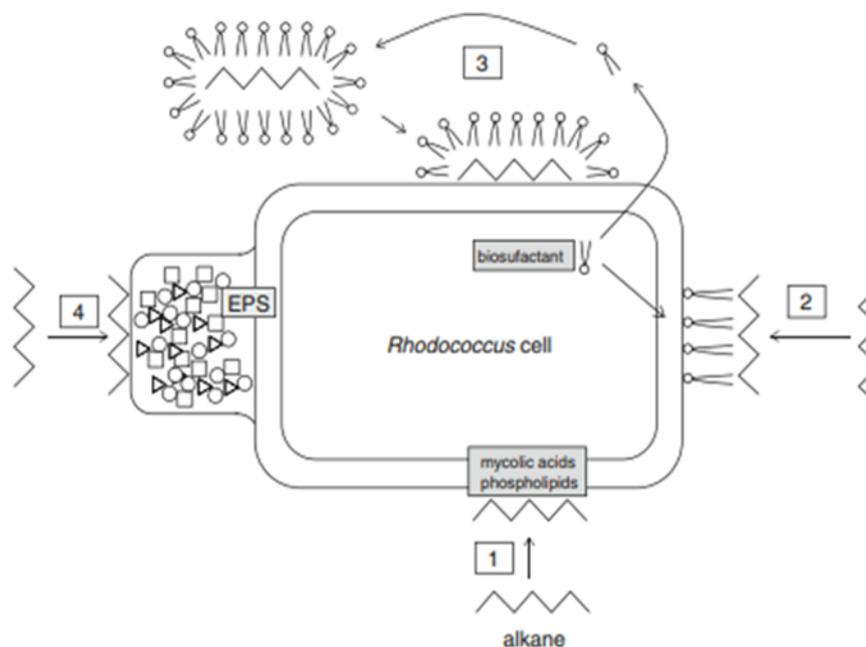
Les surfactants d'origine microbienne sont une alternative prometteuse et attrayante pour la bioremédiation des sites pollués par rapport aux tensioactifs synthétiques en raison de leur faible toxicité, leur biodégradabilité et leur grande stabilité dans une large gamme de salinité, de valeurs de pH et de température (Muthusamy *et al.*, 2008 ; Kim *et al.*, 2019).

Le genre *Rhodococcus* d'origine marine a été largement étudié au cours de ces dernières années en raison de sa capacité à dégrader et à transformer un grand nombre de contaminants persistants, tels que les hydrocarbures aliphatiques et les hydrocarbures

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

aromatiques en produisant divers biosurfactants et des substances polymériques extracellulaires (EPS) (Huang *et al.*, 2008 ; Yang *et al.*, 2014 ; Kotake *et al.*, 2016).

Le mécanisme d'action comporte plusieurs étapes ( figure 6 ) :



**Figure 6: Mécanisme de dégradation des alcanes par *Rhodococcus* (Cappelletti *et al.*, 2019)**

1. Le contaminant, par exemple des chaînes d'alcanes, entre en contact avec la cellule bactérienne, ce qui conduit à une augmentation de l'hydrophobicité de la membrane cellulaire due au changement de la composition des acides mycoliques et des phospholipides.
2. Le contact est médité par des biosurfactants qui après avoir été produits restent associés aux parois cellulaires.
3. Les biosurfactants sont excrétés de la cellule et permettent l'émulsification des molécules d'alcanes.
4. La production de substances polymériques extracellulaires (EPS) améliore le contact contaminant-cellule bactérienne.

Hassanshahian *et al.*, 2012 ont isolé une espèce nommée *Rhodococcus wratislaviensis* FPA1 à partir de l'eau et des sédiments marins contaminés par le pétrole dans le Gulf persique en Iran, qui possédait un potentiel élevé de dégradation du pétrole brut et des

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

hydrocarbures aromatiques polycycliques. Cette bactérie a été cultivée sur deux milieux additionnés de 1% (v/v) de pétrole brut comme seule source de carbone : le milieu de Bushnell Hass aux sels minéraux (BHSM) et le milieu ONR7. L'incubation a été réalisée à une température de 30°C et pendant 15 jours.

L'estimation de la croissance de la bactérie *Rhodococcus wratislaviensis* FPA1 après une semaine de culture en milieu liquide a été estimée à 0.46 à une densité optique (DO) de 600, avec un pourcentage de dégradation de pétrole brut égal à 48%.

*Rhodococcus wratislaviensis* FPA1 a pu dégrader différentes chaînes n-alcanes présent dans le pétrole brute allant de C<sub>9</sub> au C<sub>25</sub> à l'exception de C<sub>10</sub>.

Les différents pourcentages par ordre croissant sont comme suit :

C<sub>9</sub>(4%), C<sub>25</sub>(28%), C<sub>21</sub>etC<sub>23</sub>(31%), C<sub>22</sub>(34%), C<sub>18</sub>etC<sub>20</sub>(35%), C<sub>17</sub>etC<sub>19</sub>(39%), C<sub>15</sub>(42%), C<sub>16</sub>(43%), C<sub>11</sub>(46%), C<sub>14</sub>(49%), C<sub>13</sub>(52%), C<sub>12</sub>(55%) et enfin C<sub>24</sub>(60%).

Son activité d'émulsification a été estimée de E24%=12, l'hydrophobicité de surface à 20 et la tension de surface à 43 (mNm<sup>-1</sup>).

Dans cette recherche, les auteurs ont mentionné l'intérêt de ces souches pour la bioremédiation des écosystèmes marins de Gulf persique en Iran contaminées par les hydrocarbures.

Dans une autre étude, 14 souches de *Rhodococcus* nommées *Rhodococcus* sp.174, *Rhodococcus* sp.176, *Rhodococcus* sp.179, *Rhodococcus* sp. 180, *Rhodococcus* sp. 181, *Rhodococcus* sp. 187, *Rhodococcus* sp. 188, *Rhodococcus* sp. 190, *Rhodococcus* sp.191, *Rhodococcus* sp.192, *Rhodococcus* sp. 224, *Rhodococcus* sp.225, *Rhodococcus* sp.227 et *Rhodococcus* sp.231 isolées des sédiments marins et de l'eau marine côtière des îles Shetlands, à l'Antarctique, ont été capable de produire des biosurfactants (Malavenda *et al.*, 2015)

En premier lieu, les 14 souches se sont développées en aérobiose dans le milieu BH à 3% NaCl en présence de 2% (v/v) de pétrole brut ou du biodiésel pendant un mois à une température 4°C. Ensuite, elles ont été cultivées sur le milieu BH additionné soit du tétradécane ou d'huile de tournesol pour tester leur capacité à produire des biosurfactants.

Huit souches : *Rhodococcus* spp 174, 176, 179, 180, 181, 188, 225 et 231 ont montré une production élevée des biosurfactants dans le milieu qui contenait de tétradécane comme unique source de carbone, tandis que quatre souches : *Rhodococcus* spp. 187,

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

**190, 191, 227** ont démontré une bonne production des biosurfactants dans le milieu qui contenait l'huile de tournesol comme unique source de carbone. *Rhodococcus sp 224* a pu produire les biosurfactants efficacement dans les deux milieux. Par contre *Rhodococcus sp 192* a pu produire les biosurfactants uniquement dans un milieu contenant l'huile de tournesol comme unique source de carbone.

*Rhodococcus sp 176* était la souche qui possédait le plus grand potentiel d'émulsification en présence de l'huile de tournesol avec un pourcentage de 67% à une température de 4°C et un pourcentage de 60% à une température de 15°C. Elle a été dotée aussi d'une bonne activité émulsifiante en présence de tétradécane avec une valeur de tension de surface (28.3mN/m). Les biosurfactants produits par les souches *Rhodococcus spp. 174, 176, 181, 187, 190, 224* présentaient une activité  $\beta$ -hémolytique quand elles ont été cultivées sur les géloses au sang. Ces souches ont produit des halos dans les deux milieux de gélose au sang, contenant soit du tétradécane ou de l'huile de tournesol.

*Rhodococcus sp 191* était aussi une bonne souche productrice de biosurfactants qui possédait un potentiel d'émulsification d'environ 60% dans un milieu additionné de tétradécane, et à température 15°C. *Rhodococcus sp 176* possédait un potentiel d'émulsification de 58% en présence de tétradécane et à une température de 4°C.

Dans une autre étude, une bactérie nommée *Rhodococcus fascians SDRBG7* isolée à partir des sédiments marins de la plage de Sinduri, Taean au Corée du Sud, contaminés par du pétrole brut a été considérée comme meilleure productrice de biosurfactants rhamnolipidique parmi 20 bactéries isolées avec une activité de réduction de tension superficielle importante (24,38mN/m)(Kim *et al.*,2019).

Le milieu utilisé pour déceler la production de biosurfactant était nommé CTAB (bromure de cetyl tri-ammonium) alors que la température et le pH de production ont été de 30°C et 8 consécutivement.

Plusieurs substrats, à savoir le glycérol, le glucose, l'huile d'olive, le mannitol et L'EFB ont été testés comme seules sources de carbone pour détecter le meilleur substrat qui donne des quantités importantes de biosurfactant.

Un test d'émulsification a été également réalisé en rajoutant 6 ml de 3 substrats hydrophobes le benzène, l'huile minérale et le N-hexane à 6 ml des surnageant de la

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

bactérie *Rhodococcus fascians* SDRB G7 (La méthode détaillée n'était pas mentionnée) et l'indice d'émulsification a été ensuite calculé comme suit:

$$IE = \text{hauteur de la couche d'émulsion (cm)} \times 100 / \text{hauteur totale (cm)}$$

Il s'est avéré que l'huile d'olive a donné le meilleur rendement de biosurfactant, de 2441g/L avec une tension superficielle de 43.36mN/m (tableau n°1)

Les autres rendements ont été de 0.297 g/L, 0.007 g/L, 0.004 g/L et 0.001 g/L avec une tension superficielle pour 50.67 mN/m, 68.08 mN/m, 63.79 mN/m et 71.20 mN/m pour l'EFB, le mannitol, le glycérol et le glucose consécutivement.

Les meilleures valeurs de l'indice d'émulsification ont été obtenues en utilisant l'huile d'olive comme substrat, et ont été de  $94.40 \pm 1.86$  pour le benzène,  $52.69 \pm 0.93$  pour l'huile minérale et  $87.23 \pm 1.14$  pour le N-hexane.

Les autres valeurs sont mentionnées dans le tableau ci-dessous .

**Tableau 1: tension de surface, indice d'émulsification et quantités des biosurfactants obtenus selon la source de carbone utilisé**

Substrat utilisé	Tension de surface (mN/m)	L'indice d'émulsion : EI (%)			Quantité de production du biosurfactant (g/L)
		Benzène	Huile minérale	N-hexane	
Huile d'olive	43.36	$91.40 \pm 1.86$	$52.69 \pm 0.093$	$78.23 \pm 1.14$	2.441
EFB	50.67	$57.53 \pm 0.93$	$51.61 \pm 0.00$	$54.30 \pm 0.93$	0.279
Glycérol	63.79	$50.83 \pm 1.18$	$42.50 \pm 1.18$	$20.50 \pm 3.47$	0.004
Mannitol	68.08	$24.29 \pm 0.12$	$20.90 \pm 1.05$	$05.65 \pm 0.15$	0.007
Glucose	71.20	$01.98 \pm 0.03$	$01.69 \pm 0.00$	$02.82 \pm 0.03$	0.001

Le biosurfactant produit par *Rhodococcus fascians* SDRB G7 a été stable dans une large gamme de pH, de 2 à 12, atteignant son optimum à pH 4 avec une activité de réduction de tension superficielle de 42.66 mN/m et un EI de 70.01%.

Concernant la concentration en NaCl, le biosurfactants a été stable dans une variété de concentration en NaCl allant de 2 à 20%, atteignant son optimum à 2% avec une activité de réduction de tension superficielle de 54.68 mN/m et un EI de 89.23%.

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

Finalement, en ce qui concerne la solubilisation, le biosurfactant rhamnolipidique pur a pu solubiliser 66% d'anthracène initial et 81% d'anthracène cristallin, en 9 jours seulement.

Selon **Kim et al., 2019**, *Rhodococcus fascians* SDRB G7 peut constituer un agent efficace dans la bioremédiation, et pourrait être utilisé pour la désorption des huiles et l'élimination des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sédiments marins.

Plusieurs bactéries d'origine marines avait la capacité de produire des biosurfactants, y compris des rhamnolipides telles que : *Streptomyces* VITSSB2, *Ochrobactrum* sp. *Brevibacillus* sp, *Streptomyces* sp.B3, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Cobetia*, *Halomonas*, *Alcanivorax*, *Marinobacter* et *Microbacterium*, *Bacillus megaterium*, *Corynebacterium kutscheri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Nocardia otitidiscaviarum*, *Serratia marcescens*, *Brevibacterium casei* MSA19, *Nocardiopsis lucentensis* MSA04X ( **Kiran et al., 2015**).

Les biosurfactants marins ont une importance écologique et sont utilisés dans la bioremédiation des hydrocarbures, l'élimination des métaux lourds et de biofilms (**Kiran et al., 2015**).

### 7. Dégradation des microplastiques

Les microplastiques sont des minuscules particules de plastique dont la taille est inférieure à 5 mm. Ils atteignent l'environnement marin à travers les systèmes de drainage domestiques et industriels et des stations de traitement des eaux usées et contribuent à sa pollution (**Auta et al., 2018**).

Parmi ces matières plastiques synthétiques figure le polypropylène (PP), un polymère composé d'un squelette carbone-carbone. Ce matériau dur entre dans la fabrication industrielle de certains emballages, composants et équipements de laboratoire (**Helen et al., 2017**).

Une bactérie marine *Rhodococcus* sp 36 isolée à partir des sédiments marins de la mangrove de Cherating Pahang en Malaisie a pu dégrader le polypropylène en formant un biofilm à Sa surface et en produisant des enzymes spécifiques. Elle a utilisé le PP comme une source de carbone pour sa croissance conduisant à une dégradation de 6,4% de la masse du polymère (**Auta et al., 2018**).

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

Plusieurs autres bactéries d'origine marine avaient la capacité de dégrader le polypropylène (PP) tels que *Bacillus cereus*, *Sporosarcina globispora* et *Bacillus* sp 27 isolées à partir de sédiment de mangrove dans la péninsule malaise, de la rivière Vaigai, Madurai, Inde et des sédiments marins de Cherating Pahang en Malaisie (**Helen et al., 2017 ; Auta et al., 2018 ; Devi et al., 2021**).

Le pourcentage de biodégradation de pp par *Bacillus cereus* et *Sporosarcina globispora* a été estimé de 11% et 12% de la masse de polymère consécutivement, des pourcentages plus élevés que celui de *Rhodococcus* sp 36, tandis que *Bacillus* sp 27 présentait le plus faible pourcentage de dégradation du pp, avec seulement 4% (**Helen et al., 2017 ; Auta et al., 2018 ; Devi et al., 2021**).

L'accumulation de grandes quantités de plastiques dans la mer représentent une menace très dangereuse pour l'environnement. Ainsi, pour réduire leur effet néfaste plusieurs espèces de *Rhodococcus*, y compris l'espèce marine *Rhodococcus* sp 36, peuvent être utilisées dans le processus de bioremédiation marine de plastique (**Auta et al., 2018 ; Behl et al., 2020**).

### 8. Dégradation des hydrocarbures

Les hydrocarbures (pétrole brut et gaz naturels) sont des molécules organiques contenant exclusivement des atomes de carbones et d'hydrogène. Ils se forment à partir de débris d'algues, de résidus de la faune marine et du plancton transformés biogéochimiquement sur de très longues périodes. Cette transformation se fait sous l'influence de la température et de très longues périodes. Cette transformation se fait sous l'influence de la température de la pression (**Head et al., 2003**). en distingue trois principaux groupes : les alcanes ,les hydrocarbures aromatiques et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)(**Adedosu et al.,2018 ;Hentati.,2018**).

Des bactéries du genre *Rhodococcus* isolées à partir de différentes niches marines avaient la capacité de dégrader des hydrocarbures aromatiques polycycliques. une classe importante de composés organiques à deux ou plusieurs cycles aromatiques fusionnés (**Marini et al., 2013**). Cette classe de polluants environnementaux toxiques est générée par des processus de combustion naturelle ainsi que par des activités humaines. Généralement, les apports anthropiques provenant des dépôts atmosphériques, des émissions de cheminées industrielles, des déversements d'hydrocarbures, du trafic maritime, du ruissellement urbain et du rejet illégal

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

d'effluents industriels conduisent à une accumulation importante de HAP dans le biotope marin (Luan *et al.*, 2006 ; Lang *et al.*, 2016).

Dans une étude menée par Perdigão *et al.*, 2021, deux souches de *Rhodococcus* : *Rhodococcus erythropolis* CPN2 et *Rhodococcus erythropolis* CPN3, isolées de l'eau et des sédiments marins de Cabo do Mundo, au Portugal avaient un potentiel énorme de dégradation de pétrole.

- **Optimisation de la croissance des bactéries dégradantes d'hydrocarbure (pour le processus de lyophilisation)**

Tout d'abord les deux bactéries *Rhodococcus erythropolis* CPN2 et *Rhodococcus erythropolis* CPN3 ont été cultivées dans 50 ml de milieu liquide appelé Bushnell-Haas (BH) à 2% NaCl et 10 g/L d'une des sources de carbones suivantes : l'acétate, le sodium, le glycérol, le glucose et la peptone. La concentration de la biomasse d'inoculation était au départ de 0.05 à une densité optique de 600 nm.

- **Réalisation de processus de lyophilisation**

Au départ, les deux bactéries *Rhodococcus erythropolis* CPN2 et *Rhodococcus erythropolis* CPN3 ont été cultivées dans 25 mL du bouillon nutritif additionné de 10g/l d'acétate de sodium d'une concentration initiale de 0.1 mesurée à une densité optique (DO) de 600 nm. L'agitation a été réalisée à 150 rpm et à une température de 30°C. Les cultures ont été ensuite centrifugées (9000 rpm, 10 min, 25°C) et le culot obtenu a été suspendu dans 30 mL du milieu de cryoconservation appelé CP01 (composée de 13g/l de bouillon nutritif et 100g/l sucrose).

Les tubes ont été laissés à une température ambiante pendant 1 h puis conservés à -80°C.

Finalement, les cellules ont été lyophilisées pendant 63.5 heures à -50°C et à 3 bars, puis conservés dans des tubes clos à une température de 5°C.

- **Évaluation de la viabilité, l'abondance et le potentiel de biodégradation du pétrole par les souches lyophilisées**

Après le processus de lyophilisation, la viabilité, l'abondance et le potentiel de dégradation des hydrocarbures des deux souches de *Rhodococcus erythropolis* CPN2 et

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

*Rhodococcus erythropolis* CPN3 ont été évalués individuellement ou comme consortium dans de l'eau marine stérile.

Ceci a été testé dans des Erlenmeyers de capacité de 100 ml contenant des milieux liquides additionnées d'un volume précis de pétrole stérile filtré, et a été nommé "traitement". Trois principaux traitements ont été réalisés comme suit :

- Traitement SPI, composé d'eau marine stérile, pétrole et inoculum lyophilisée.
- Traitement SPN, composée d'eau marine stérile ,pétrole ,inoculum lyophilisé et deux nutriments le  $\text{KNO}_3$ (40mM) et le  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (8 mM)
- Traitement NBPI, composé de bouillon nutritif, pétrole et inoculum lyophilisé.

Deux témoins nommés SP, composé d'eau marine stérile et de pétrole et SPN, composée d'eau marine stérile, de pétrole et de nutriments.

3 essais ont été réalisé pour chaque traitements.

L'inoculum lyophilisé a été préparée en suspendant 0.05g de bactéries lyophilisées et un volume de 30 ml d'eau marine mis dans des Erlenmeyers de capacité de 250 ml (ratio de milieu de culture /bactérie lyophilisée de 30 : 0.5 (v/p)).

Le consortium a été préparé en suspendant 0.05g de chaque bactérie lyophilisée dans un volume de 90 ml des différents milieux SPI, SPNI, NBPI mis dans des Erlenmeyers de capacité de 250 mL.

En ce qui concerne le pétrole, un volume de 0.25 mL de pétrole a été filtré avec une membrane filtrante de 0.02  $\mu\text{m}$  puis additionné.

Après 1 h d'hydratation, 10 ml de la suspension a été transféré 100 m des Erlens capacité de 100ml et les nutriments ont été additionnés à SPN et SPNI

En parallèle, chaque bactérie lyophilisée (individuellement ou en consortium) a été suspendu à raison de 0.05g dans 30mL milieu liquide BH à 2% NaCl (v/v) et directement évalué pour la biodégradation du pétrole par la méthode du NPP (aucune hydratation effectuée).

Tous les Erlens ont été bien fermés puis inoculés dans un agitateur sous une agitation de 100rpm, dans l'obscurité et à une température ambiante de 25°C et pour 24 h.

L'abondance de la bactérie dégradante du pétrole a été évaluée pour chaque condition, après 1 h (T0) et 24 h (T1) d'incubation en présence de pétrole, par la méthode de nombre le plus probable 'NPP'.

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

Différentes concentrations de consortium (composée de bactéries lyophilisées) ont été testées en utilisant l'eau marine naturelle de plage comme liquide de dilution (salinité : 36, pH : 8).

Pour la suspension mère, 0.05g de chaque bactérie lyophilisée a été suspendue dans 90 mL d'eau marine naturelle ce qui correspondait à une concentration de  $1.7\text{gL}^{-1}$ . Deux dilutions décimales successives ont été réalisés ce qui correspondaient aux concentrations  $1.7\text{gL}^{-1}$  et  $1.7\times 10^{-2}\text{gL}^{-1}$ . Ces dilutions ont servit pour inoculer les différents traitements

Les traitements SPI et SPNI ainsi que et les deux témoins SP et SPN ont été additionnés avec l'eau marine et de 0.25 mL de pétrole stérile. Les Erlen ont été fermés incubés dans un agitateur avec une agitation de 100 rpm, en obscurité et à une température de  $25^{\circ}\text{C}$  pour 24 h.

- **Mise en évidence du processus de la bioremédiation par l'expérimentation des microcosmes**

Pour évaluer l'efficacité de la biodégradation de la concentration optimale du consortium lyophilisé dans de l'eau marine naturelle, une expérimentation de microcosme a été réalisée.

10 mL d'eau marine naturelle et un ratio de 20 :0,5 (v/v) de pétrole stérile ont été mis dans un Erlen de 100 mL. Trois différents traitements été testés :

- Atténuation naturelle (AN) : eau marine, pétrole.
- Biostimulation (BS) : eau marine, pétrole, nutriments (éléments nutritifs).
- Combinaison de biostimulation et de bioaugmentation (BA) : eau marine, pétrole, nutriments , consortium lyophilisé (à une concentration de  $1.7.10^{-1}\text{gL}^{-1}$ ).

Tous les Erlen ont été fermés, incubés pour 15 jours, sous une agitation de 100 rpm, en obscurité et à une température ambiante.

2 mL ont été collectes des solutions précédentes pour évaluer l'abondance des bactéries dégradantes d'hydrocarbures. La mesure a été effectuée par la méthode du nombre le plus probable (NPP) après 24h ( $T_0$ ), 7 jours ( $T_7$ ) et 15 jours ( $T_{15}$ ) d'incubation en présence de pétrole stérile.

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

Cette technique d'estimation par le NPP a été effectuée par la méthode des puits (96 puits). Bref, 20 µl de l'échantillon a été inoculé dans 180 µl du milieu stérile BH à 2% NaCl contenant 10 µl de pétrole stérile. Des dilutions décimales ont été également effectuées à partir de l'échantillon mère.

Après une incubation à 25°C pendant 15 jours, 50 µl de solution d'iodo-nitro-tétrazolium stérile a été ajoutée à chaque puits. Un résultat positif se traduit par une coloration violette du puits après 24 h d'incubation.

- **Analyse des hydrocarbures pétroliers totaux (HPT)**

Les différentes solutions contenues dans les Erlenmeyers dans de l'expérience du microsome ont été jetées. 20 µl de tétra-chloro-éthylène ont été ajoutées dans chaque Erlenmeyer. Ces derniers ont été agités vigoureusement pour détacher le pétrole de leur paroi et pendant 15 min dans un bain à ultrasons et traités pendant 15 min pour extraire les Hydrocarbures.

L'analyse des Hydrocarbures pétroliers totaux dans l'extrait obtenu a été effectuée par spectrophotométrie.

Il s'est avéré que l'acétate de sodium, le glucose et la peptone ont été de bons substrats pour la croissance de la biomasse des deux souches *R erythropolis* CPN2 et *R erythropolis* CPN3 avec l'acétate de sodium comme meilleure source de carbone (résultat de la mesure de la biomasse n'était pas mentionné).

En ce qui concerne la viabilité et l'abondance, les bactéries lyophilisées *R erythropolis* CPN2 et *R erythropolis* CPN3 ont été très abondantes dans les trois traitements SPI, SPNI et NBPI en présence du pétrole après 1 heure d'incubation ( $T_0$ ). Leur concentration a été comprise entre  $10^7$  NPP/ml et  $10^{11}$  NPP/ml. Après 24 h d'incubation ( $T_1$ ), les valeurs de concentrations ont pu dépasser  $10^{11}$  NPP/ml. Ces bactéries lyophilisées ont été aussi très abondantes dans le milieu BH (qui ne contient pas de pétrole). Ce qui signifie que les bactéries lyophilisées ont été viables même en présence de pétrole (molécule toxique) et ont pu le dégrader.

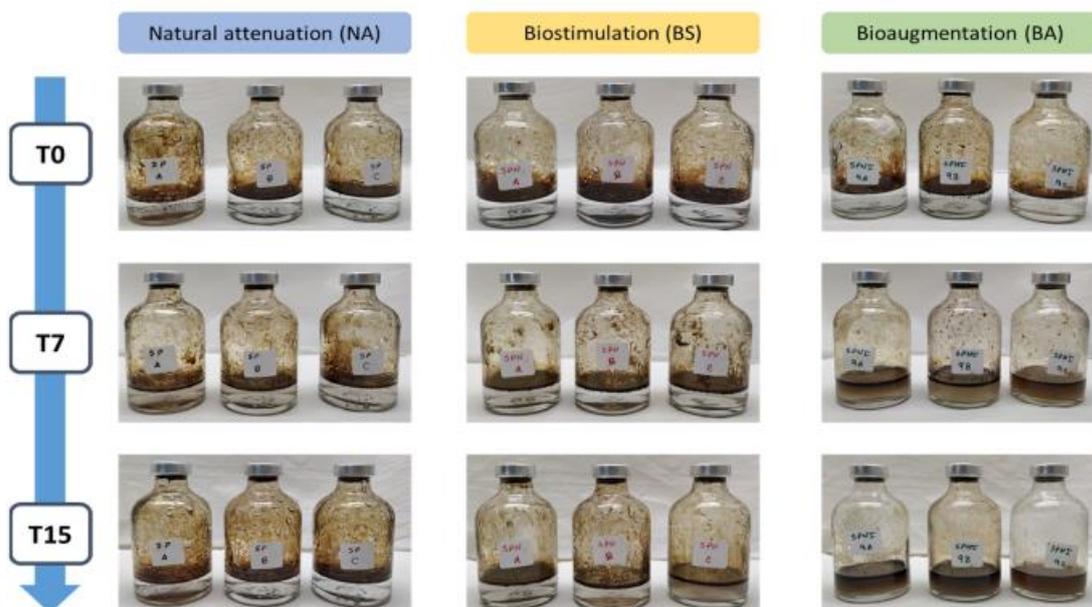
En ce qui concerne les deux témoins, aucune croissance bactérienne n'a été observée après 1 heure ( $T_0$ ) et 24 h ( $T_1$ ) d'incubation ce qui confirme la stérilité des milieux utilisés.

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

En ce qui concerne le potentiel de dégradation des hydrocarbures du consortium réalisées à différentes concentrations :  $1.7 \text{ gL}^{-1}$ ,  $1.7 \cdot 10^{-1} \text{ gL}^{-1}$  et  $1.7 \cdot 10^{-2} \text{ gL}^{-1}$ , les résultats ont montré que :

- Les deux témoins SP et SPN contenait une faible concentration de consortium lyophilisé estimé à  $10^1 \text{ NPP/ml}$  dans les 2 temps d'incubation ( $T_0$ ,  $T_1$ ).
- Les valeurs maximales ont été observées dans les traitements. En fait, dans les deux traitements SPI et SPNI la valeur NPP de consortium lyophilisé été faible et a corrélé avec les valeurs NPP à  $T_0$  mais après 24 h ( $T_1$ ) la concentration de l'échantillon mère de consortium été estimées la plus élevée et a conduit à l'obtention de valeurs NPP de plus de  $10^{11} \text{ NPP/ml}$  et avec les deux concentrations :  $1.7 \text{ gL}^{-1}$  et  $1.7 \cdot 10^{-1} \text{ gL}^{-1}$ . D'où le choix de la concentration  $1.7 \cdot 10^{-1} \text{ gL}^{-1}$  pour réaliser l'expérience du microcosme.

Les résultats de l'évaluation de l'efficacité de la biodégradation du pétrole par le consortium (expérience de microcosme) en effectuant 3 types de traitements : atténuation naturelle (AN), biostimulation (BS) et combinaison de biostimulation et de bioaugmentation (BA) sont mentionnés dans la figure suivante.



**Figure 7 : Aspect visuel du microcosme : au départ de l'expérience  $T_0$ , après 7 jours  $T_7$  et après 15 jours  $T_{15}$ , pour les différents traitements : atténuation naturelle (AN), biostimulation (BS) et combinaison de biostimulation et de bioaugmentation (BA), avec un inoculum de consortium lyophilisé.**

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

À  $T_0$  et pour les 3 traitements, une séparation (espace vide claire) entre le pétrole et le milieu.

Après 7 jours, une séparation claire a été toujours observée pour l'atténuation (AN) et la biostimulation (BS) (espace vide) mais pour la bioaugmentation un mélange un mélange clair entre le pétrole et le milieu a été observé.

Après 15 jours, la séparation claire a été observée pour l'AN et le mélange clair entre le pétrole et le milieu a commencé à se fermer pour le BS

- Après 24 h ( $T_1$ ) les plus hautes valeurs de consortium dégradants les hydrocarbures été observés dans le processus BA ( $10^5$ NPP/ml), suivi par le processus BS ( $10^1$ NPP/ml)
- Après 7 jours ( $T_7$ ), la valeur de consortium était de plus de  $10^{11}$ NPP/ml pour le traitement BA tandis qu'elles ont été de  $10^{15}$ NPP/ml pour le traitement NA et BS.
- Entre le 7<sup>ième</sup> jours ( $T_7$ ) et le 15<sup>ième</sup> jours ( $T_{15}$ ) la valeur était toujours de  $10^5$  NPP/ml pour le traitement NA mais pour le processus BS la valeur a atteint  $10^{10}$  NPP/ml.
- Après 15 jours ( $T_{15}$ ), les deux traitements BA et BS ne présentaient aucune différence significative en termes d'abondance de bactérie dégradante.

Après 15 jours ( $T_{15}$ ), le pourcentage d'élimination de l'expérience de microcosme du pétrole a été de 47%, 37% et 24% pour le traitement BA, NA et BS consécutivement.

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

---

# Conclusion

## Conclusion

---

Notre analyse de 19 articles scientifiques qui ont concentré sur l'intérêt biotechnologique des espèces de *Rhodococcus* d'origine marine nous a permis de conclure que ces espèces isolées de différentes niches marines avaient la capacité de synthétiser diverses substances telles des enzymes, des nanoparticules, des pigments, des biomolécules actives, du biodiesel, des pigments et des biosurfactant dans des conditions extrêmes et parfois défavorables pour d'autres bactéries (présence des concentrations élevées en NaCl, présence de molécules toxiques tels que les métaux lourds...etc), et de dégrader divers polymères tels les polypropylène, des hydrocarbures et des alcanes qui constituent une réelle menace de la vie de différents organismes marin. Par conséquent, elles peuvent être exploitées dans différents secteurs comme le secteur alimentaire, environnemental, médical, industriel..etc.

Dans d'autres études, certaines espèces étaient des meilleures candidates parmi d'autres bactéries, c'est l'exemple de *Rhodococcus sp. 191* qui était la meilleure bactérie productrice de biosurfactant selon l'étude menée par **Malevenda et al.,2015**.

Il est intéressant de mentionner aussi que certains métabolites étaient isolés pour la première fois du genre *Rhodococcus*, c'est l'exemple du rhodindohyde, du 3-isopropyl hexahydro-1H-pyrido-5(1,2-a) pyrazine-1,4(6H)-dione et du phosphinothricine-acétyl-transférase produits par *Rhodococcus sp.UA13*, *Rhodococcus sp VLD 10* et *Rhodococcus sp. YM12* selon l'étude menée par **Wu et al., 2014 ; Yellamanda et al., 2016 ; Fahim, et al., 2021**.

## **Références bibliographiques**

## A

- Alhadrami, H. A., Thissera, B., Behery, F. A., Hassan, H. M., Pardel, G., Abdlmohsen, U. R., and Rateb, M. E. (2021). Bio-guided isolation of antimalarial metabolites from the coculture of two red sea sponge-derived *Actinokineospora* and *Rhodococcus* spp. *marine drugs*, 19 (2), 109.
- Alam, A., Tanveer, F., Khalil, A. T., Zohra, T., Khamlich, S., Alam, M. M., Salman, M., Ali, M., Ikram, A., Shinwari, Z. K and Maaza, M. (2021). Silver nanoparticles biosynthesized from secondary metabolite producing marine actinobacteria and evaluation of their biomedical potential. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 114 (10), 1497-1516.
- Anandan, R., Dharumadurai, D and Manogaran, G. P. (2016). An introduction to actinobacteria. In *actinobacteria-basics and biotechnological applications*. Intech open. 3-37.
- Asmathunisha, N., Kathiresan, K. (2013). A review on biosynthesis of nanoparticles by marine organisms. *Colloids and surfaces b: biointerfaces*, 103, 283-287.
- Auta, H. S., Emenike, C. U., Jayanthi, B and Fauziah, S. H. (2018). Growth Kinetics and biodeterioration of polypropylene microplastics by *Bacillus* sp. and *Rhodococcus* sp. isolated from mangrove sediment. *Marine pollution bulletin*, 127, 15-21.

## B

- Barredo J. L. (2005). *Microbial enzymes and biotransformation, part of methods in biotechnology, humana press, (mibt, vol 17). P 1-319.*
- Barone, R., De Santi, C., Palma Esposito, F and Tedesco Federica, P. (2014). Marine metagenomics, a valuable tool for enzymes and bioactive compounds discovery. *Frontiers in marine science* 1, 38.
- Bhatia, S. K., Kim, J., Song, H. S., Kim, H. J., Jeon, J. M., Sathiyarayanan, G., Yoon, J. J., Park, K., Kim, Y. G., and Yang, Y. H. (2017). Microbial biodiesel production from oil palm biomass hydrolysate using marine *Rhodococcus* sp. YHY01. *Bioresource technology*, 233, 99-109.
- Bohic, M. (2007). *Caractérisation de la surface de pigments traités par des polyesters acryliques. Thèse de doctorat en science et génie des matériaux. Paris : école Nationale supérieure des mines de Paris, 179P.*

## C

- Carmen Loh, W. L., Huang, K. C., Ng, H. S., and Lan, J. C. (2018). Exploring the fermentation of a newly isolated marine bacteria strain, *Gordonia terrae* TWRH01 for carotenoids production. *Journal of bioscience and bioengineering*, 130 (2), 187-194.
- Candan, O., Candan, E. D. (2020). Bacterial diversity of the green turtle (*Chelonia mydas*) nest environment. *Science of The Total Environment*, 720, 137717.
- Cappelletti, M., Zampolli, J., Gennarro, P. D., and Zannoni, D. (2019). Genomic of *Rhodococcus*. In: *biology of Rhodococcus*. Argentine: Alexander steinbuichel, pp 24-52.
- Cappelletti., Fedi, S., and Zannoni, D.(2019). Degradation of alkanes in *Rhodococcus*. In: *biology of Rhodococcus* .pp.138-163.
- Chauvel, R. (2018). Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie université claud bernard lyon 1, 105p.
- Chen Y., Xie B., Yang J. and Sun Z. (2018). Identification of microbial carotenoids and isoprenoid quinones from *Rhodococcus* sp. B7740 and its stability in the presence of iron in model gastric conditions. *Food chemistry*, 240, 204-211.

## D

- Das, S., Lyla, P. S and Ajmal Khan, S. (2006). Marine microbial diversity and ecology: importance and future perspectives. *Current science*, 90 (10), 1325-1335.
- Devi, K. N., Raju, P., Santhanam, P., Kumar, S. D., Krishnaveni, N, Roopavathy, J and Perumal, P. (2021). Biodegradation of low-density polyethylene and polypropylene by microbe isolated from Vaigai river, Madurai, India. *Archives of microbiology*, 203 (10), 6253-6265.
- Deep, K., Poddar, A and Das SK. (2016). Cloning, Over expression, and characterization of halostable, solvent-tolerant novel  $\beta$ -endoglucanase from a marine bacterium *Photobacterium panuliri* LBS5T (DSM 27646T). *Appl biochem biotechnol*, 178 (4), 695-709.
- De santi, C., Tedesco P., Ambrosino, L., Altermark, B., Willassen, N. P and De Pascale D. (2014). A New alkaliphilic cold-active Esterase from the Psychrophilic marine bacterium *Rhodococcus* sp.: functional and structural studies and biotechnological potential. *Appl biochem biotechnol*, 172, 3054-3068.

- Djama, S., Karour, T. (2020). Les alcaloïdes: classification, extraction, criblage et activités biologiques. Mémoire master recherche en biochimie de la nutrition. Université de Tizi-Ouzou : Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 55p.
- Dharmaraj, S., Ashokkumar, B., and Dhevendaran, K. (2009). Fermentative production of carotenoids from marine actinomycetes. Iranian journal of microbiology, 1 (4), 36-41.
- Dlamini, N. G., Basson, A. K and Pullabhotla, V. S. R. (2019). Biosynthesis and characterization of copper nanoparticles using a bioflocculant extracted from *alcaligenis faecalis* HCB2. Advanced science, engineering and medicine pullabhotla, 11 (11), 1064-1070.
- Do, H., Hwang, J., Lee, S. G and Lee, J. H. (2021). Enzymes and their reaction mechanisms in dimethylsulfoniopropionate cleavage and biosynthesis of dimethylsulfide by marine bacteria. Journal of marine life science, 6 (1), 1-8.

## E

- Eck, P. (2013). Recombinant DNA technologies in food. In: Biochemistry of foods. Canada: N. A. Michael eskin and Fereidoon shahidi, pp 504-543.

## F

- Faruque, M. O., Razzak, S. M., and Hossain, M. M. (2020). Application of heterogeneous catalysts for biodiesel production from microalgal oil—A Review. *Catalysts*, 10 (9), 1025.
- Fahim, J. R., Elsayed, Y., Abdelmohsen, U. R and Fouad, M. A. (2021). Chemical and biological investigation of the marine bacterium *Rhodococcus sp.* UA13. Journal of advanced biomedical and pharmaceutical sciences, 4(1), 1-6.
- Fernandez, E., Ostrowski, M., Siboni, N., Seymour, J. R and Petrou, K. (2021). Uptake of Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) by natural microbial communities of the great barrier Reef (GBR), australia. *Microorganisms*, 9 (9), 1891.
- Fu, X., Liu, P., Lin, L., Hong, Y., Huang, X., Meng, X., and Liu, Z. (2010). A novel endoglucanases (Cel9P) from a marine bacterium *Paenibacillus sp.* BME-14. *Appl biochem biotechnol*, 160 (6), 1627-1636.

## G

- Garrido-Sanz, D., Redondo-Nieto, M., Martín, M., and Rivilla, R. (2020). Comparative genomics the *Rhodococcus* genus shows wide distribution of biodegradation traits. *Microorganisms*, 8 (5), 744.
- Ghatge, S. S., Telke, A. A., Kang, S. H., Arulalapperumal, V., Lee, K. W., Govindwar, S. P., Um, Y., Oh, D. B., Shin, H. D., and Kim, S. W. (2014). Characterization of modular bifunctional processive endoglucanase Cel5 from *Hahella chejuensis* KCTC 2396. *Appl Microbiol Biotechnol*, 98( 10), 4421-4435.
- Goodfellow, M., Alderson, G., and Chun, J. (1998). Rhodococcal systematics: problems and developments. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 74, 3–20.
- Granner D. K., Murray R. K., Rodwell V.W. (2008) *Biochimie de HARPER*. 3ème édition. De boeck. bruxelle., 47.pp. 49-51, 483.

## H

- Hassanshahian, M., Emtiazi, G, and Cappello, S. (2012). Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian sea. *Marine pollution bulletin*, (64), 7-12.
- Hassanshahian, M., Amirinejad, N and Behzadi, M. A. (2020). Crude oil pollution and biodegradation at the Persian Gulf: a comprehensive and review study. *Journal of environmental health science and engineering* (18), 1415-1435.
- Harada, H., Rouse, M. A., Sunda, W and Kiene, R. P. (2004). Latitudinal and vertical distributions of particle-associated dimethylsulfoniopropionate (DMSP) lyase activity in the western north Atlantic ocean. *Canadian journal of fisheries and aquatic science*, 61 (5), 700-711.
- He, Y., Qu, C., Zhang L., and Miao, J. (2021). DNA photolyase from Antarctic marine bacterium *Rhodococcus* sp. NJ 530 can repair DNA damage caused by ultraviolet. *3 biotech*, 11(2), 1-9.
- Helen, A. S., Uche, E. C and Hamid, F. S. (2017). Screening for polypropylene degradation potential of bacteria isolated from mangrove ecosystems in peninsular Malaysia. *Int j biosci biochem bioinform*, 7, 245-251.

- Hentati, D. (2018). Isolement et caractérisation des bactéries marines hydrocarbonoclastes, production des biosurfactants et étude de la biodiversité microbienne au sein de trois ports de sfax, tunisie. Thèse de doctorat : microbiologie et parasitologie. Université montpellier; université de sfax (Tunisie), 274.
- Huo, Y. Y., Rong, Z., Jian, S. L., Xu, C. D., Li, J and Xu, X. W. (2017). A novel halotolerant thermo alkaliphilic esterase from marine Bacterium *erythrobacter seohaensis* SW-135. *Frontiers in microbiology*, 8, 2315.
- Hu, X., Li, D., Qiao, Y., Song, Q., Guan, Z., Qiu, K., Cao, J and Huang, L. (2020). Salt tolerance mechanism of a hydrocarbon-degrading strain: salt tolerance mediated by accumulated betaine in cells. *J. Hazard. Mater.* 392, 122326.

## I

- Ismail, N. A., Kasmuri, N., and Hamza, N (2022). Microbial bioremediation techniques for polycyclic aromatic hydrocarbon ( PAHs) a review. *Water, air, & soil pollution*, 233 (4), 1-27.

## J

- Jagannathan, S. V., Manemann, E. M., Roue, S. E., Callender, M. C and Soto, W. (2021). Marine Actinomycetes, new sources of biotechnological products. *marin drugs*, 19, 365.
- Jiang, H., Zhang, S., Gao, H and Hu, N.(2016). Characterization of a cold-active esterase from *serratia* sp. and improvement of thermostability by directed evolution. *BMC biotechnology*, 16 (1), 1-11.
- John, M. S., Nagoth, J. A., Zannotti, M., Giovannetti, R., Mancini, A., Ramasamy, K. P., Miceli, C and Pucciarelli, S. (2021). Biogenic synthesis of copper nanoparticles using bacterial strains isolated from an antarctic consortium associated to a psychrophilic marine ciliate characterization and potential application as antimicrobial Agents. *Marine drugs*, 19 (5), 263.
- Jones, A. L., Brown, J. M., Mishra, V., Perrv, J. D., Steigerwalt, A. G., and Goodfellow, M. (2004). *Rhodococcus Gordonia* sp. Nov., an actinomycet isolated from clinical material and phenol- contaminated soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54 (2), 407-411.

## K

- Kalinovskaya, N. I., Kalinovsky, A. I., Romanenko, L. A., and Dmitrenok, P. S. (2010). New angucyclines and antimicrobial diketopiperazines from the marine mollusk-derived actinomycete *Saccharothrix espanaensis* An 113. *Natural product communications*, 5(4), 597-602.
- Kanukollu, S., Voget, S., Pohlner, M., Vandieken, V., Petersen, J., Kyrpides, N. C., Woyke, T., Shapiro, N., Goker, M., Klenk, H. P., Cypionka, H and Engelen, B. (2016). Genome sequence of shimia str. The *Roseobacter* group isolated from marine sediment. *Standards in genomic sciences*, 11 (1), 1-10.
- Karthik L, Kumar G., Kirthi A. V., Rahuman, A. A and Bhaskara Rao, K. V. (2014). *Streptomyces* sp. LK3 mediated synthesis of silver nanoparticles and its biomedical application. *Bioprocess and biosystems engineering*, 37 (2), 261–267.
- Kaur, H., Dolma, K., Kaur, N., Malhotra, A., Kumar, N., Dixit, P., Sharma, D., Mayilraj, S and Choudhury, A. R. (2015). Marine microbe as nano-factories for copper biomineralization. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 20 (1), 51-57.
- Kavakli, I. H., Ozturk, N., and Gul, S. (2021). DNA repair by photolyases. *Advances in Protein Chemistry and structural biology*, 115, 1-9.
- Khalfalah, Y., Madjrli, H. (2021). Caractérisation, production de biosurfactants : application pour la récupération du pétrole. Mémoire master recherche : Biochimie appliqué. Université de LARBI BEN M'HIDI Oum Elbouaghi, 57.
- Kim, C. H., Lee, D. W., Heo, Y. M., Lee, H., Yoo, Y., Kim, C. H and Kim., J. J. (2019). Desorption and solubilization of anthracene by a rhamnolipid biosurfactant from *Rhodococcus fascians*. *Water environment research*, (91),739–747.
- Kiran,GS.,Ninawe,AS,Lipton,AN,Pandian,V.AndSelvin,J.(2015).Rhamnolipid biosurfactants : evolutionary implications, applications and future prospects from untapped marine resource. *Crit rev biotechnol*, early online ,1–17.
- Kiene, R. P., Linn, L. J., Bruton, J. A. (2000). New and important roles for DMSP in marine microbial communities. *Journal of sea research*, 43, 209-224.
- Kotake, T., Matsuzawa, J., Suzuki-Minakuchi, C., Okada, K., Nojiri, H., and Iwata, K.(2016). Purification et caractérisation partielle de l'extradiol dioxygénase, 2'-carboxy-2,3dihydroxybiphényl 1,2-dioxygénase, dans la dégradation du fluorène voie de *Rhodococcus* sp. souche DFA3. *Biosci. biotechnologies. Bioch.*, (80), 1-7.

## L

- **Lang, F. S., Destain, J., Delvigné, F., Druart, P., Ongena, M., and Thonart, P. (2016). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangrove Sediments Under Different Strategies: Natural Attenuation, Biostimulation, and bioaugmentation with *Rhodococcus erythropolis* T902.1, water air soil pollut, 227-297.**
- **Lafouissi, J. (2016). Les effets de rayonnement UV sur la santé : enquête sur l'exposition au soleil au Maroc. Thèse de doctorat : pharmacie. Maroc: université mohammedV – rabat, 152p**
- **Lee, Y. S. (2016). Isolation and characterization of a novel cold-adapted esterase, MtEst45, from *Microbulbifer thermotolerans* DAU221. *Frontiers in microbiology*, 7, 2018.**
- **Lima, T.M., Procópio, L.C., Brandão, F.D., Carvalho, A.M., Tótola, M. R. and Borges, A. C. (2011). Biodegradability of bacterial surfactants. *Biodegradation*, (22), 585-592.**
- **Lin, L., Qin, N., and Guan L. (2019). A novel cold-adapted endoglucanase (M6A) from microbacterium kitamiense S12 isolated from qinghai-tibetan plateau. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 24 (3), 544-551.**
- **López-López, O., Cerdan, M. E and Gonzalez Siso, M. I. (2014). New extremophilic lipases and esterases from metagenomics. *Current protein and peptide science*, 15 (5), 445-455.**
- **Louesdon, S., Charlot-Rougé, S., Juillard, V., Tourdot-Maréchal, R and Béal, C. (2014). Osmotic stress affects the stability of freeze-dried *Lactobacillus buchneri* R1102 as a result of intercellular betaine accumulation and membrane characteristics. *J. Appl. Microbiol*, 117, 196-207.**

## M

- **Malavenda, R., Rizzo, C., Michaud, L., Gerc, B., Bruni, V., Sylatk, C., Hausmann, R., and Lo Giudice, A. (2015). Biosurfactant production by arctic and antarctic bacteria growing on hydrocarbons. *Polar biol*, (18), 1565–157.**

- Maier, G., Matuschewski, M., Zhang, M., and Rug M. (2019). *Plasmodium falciparum*. Trends in parasitology, 35 (6), 481-482.
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K and Kim, S. K. (2014). Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. Microbiological research, 169 (4), 262-278.
- Manivasagan, P., Venkatesan, J and Kim, S. K. (2013). Introduction to marine Actinobacteria. Marine Microbiology: bioactive compounds and biotechnological applications. Singapore: Wiley, pp 1-19
- Manna, P., Ghosh, M ., Ghosh, J., Das, J and Sil, P. C. (2012). Contribution of nanoparticles to in vivo liver dysfunction and cellular damage: role of IkBa/NF- $\kappa$ B, MAPKs and mitochondrial signal. Nanotoxicology, 6 (1), 1-21.
- Marini, M., and Frapiccini, E. (2013). Persistance des polycycliques hydrocarbures aromatiques dans les sédiments de la zone plus profonde de la mer Adriatique septentrionale (mer méditerranée). Chimiosphère, (90), 1839–1846.
- Marizcurrena, J. J., Morei, M. A., Braña, V., Morales, D., Martinez-Lopez Lopez, W., and Castro-Lopez, S. (2017). Searching for novel photolyases in UVC-resistant antarctic bacteria. Extremophiles, 21 (2), 409–418.
- Matallana-Surget, S., Douki, T., Cavicchioli, R., and Joux. (2009). Remarkable resistance to UVB of the marine bacterium *Photobacterium angustum* explained by an unexpected role of photolyase. Photochemical & Photobiological sciences, 8 (9), 1313-1320.
- Meunier, N. (1999). Evaluation du potentiel de production de protéases bactériennes à partir de boues d'épuration municipales. Mémoire pour l'obtention du grade de maître ès sciences, INRSETE-eau, Université du Québec. Canada. p 1-168.
- Midander, K., Cronholm, P., Karlsson, H. L., Elihn, K and Moller, L. (2009). Surface characteristics, copper release, and toxicity of nano- and micrometer-sized copper and copper (II) oxide particles: a cross-disciplinary study. Small 5(3), 389-399.
- Mohd Noor, C.W., Noor, M. M., and Mamata, R. (2018). Biodiesel as alternative fuel for marine diesel engine applications: A review. Renewable and sustainable energy reviews, 95, 127-142.
- Muhammad, R., Sadaf, I., Rafique, M. S and Tahir, M. (2017). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 45 (7), 1272-1291.

## N

- Nasrollahzadeh, M., Mahmoudi-Gom, Y., MMotahharifaar, N and Goorab, M, G. (2019). Recent developments in the plant-meddiated grreen synthessis of ag-based Nanoparticles for Environmenttal and catalytic Application. The chemical record, 19 (12), 2436-2479.
- Nguyen, T. (2018). Éco-extraction et encapsulation de pigments caroténoïdes et anthocyanes à par- tir de plantes tropicales. Thèse de doctorat : biotechnologie agro-alimentaire. France-comté : Université Bourgogne France-comté, 128.

## O

- Ortega-Cabello, L., Pérez-Méndez, H. I., Manjarrez-Alvarez, N., Sol´Oba, A., and Lopez-Luna, A. (2016). Effect of irons salts on *Rhodococcus* sp. and *Gordonia* sp. On caroténoide production. Revista Mexicana de ciencias Farmacéuticas, 16 (1), 1-10.

## P

- Paillè-Jiménez, M. E., Stincone, P and Brandelli A. (2020). Natural pigments of microbial origin. Front in sustainable food systems, 4, 590-439.
- Pàtek, M., Grulich, M., and Nešvera, J. (2021). Stress response in *Rhodococcus*. Biotechnology advances, 53, 107-698.
- Patil, M. P .,and Kim., G. D. (2018). Marine microorganisms for synthesis of metallic nanoparticles and their biomedical applications. Colloids ans surfaces B: biointerfaces, 172, 487-495.
- Perdigão, R. R. Almeida, C. M., Magalhães, C., Ramos, S.L. Carolas, A. S., Ferreira, S. F. Carvalho, M and Ana P. M. (2021). Bioremediation of petroleum hydrocarbons in sea water: prospects of using lyophilized native hydrocarbon-degrading bacteria. Microorganisms, 9, 2285.

## R

- Röttig, A., Hauschild, P., Madkour, M. H., Al-Ansari, A. M., Almakishah, N. H., and Steinbüchel, A. (2016). Analysis and optimization of triacylglycerol synthesis in novel oleaginous *Rhodococcus* and *Streptomyces* strains isolated from desert soil. Journal of Biotechnology, 225, 48–56.

## S

- Sabido, E. M., Tenebro , C. P., Suarez , A. L., Ong, S. C., Trono, D. L., Amago, D. S., Evangelista, J. E., Q. Reynoso, A. Q., Saludes, J. Pand Dalisay, D. S. (2020). Marine sediment-derived *Streptomyces* strain against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* harboring SCCmec type 1 gene. *Journal of marine science and engineering*, 8 (10), 734.
- Sabido, E. M., Tenebro , C. P., Suarez , A. L., Ong, S. C., Trono, D. L., Amago, D. S., Evangelista, J. E., Q. Reynoso, A. Q., Saludes, J. P., and Dalisay, D. S. (2020). marine sediment-derived *Streptomyces* strain against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* harboring SCCmec type 1 gene. *Journal of marine science and engineering*, 8 (10), 734.
- Sangal, V., Goodfellow, M., Jones, A. L., Seviour, R. J and Sutcliffe, L. C. (2019). Refined systematics of the genus *Rhodococcus* based on whole genome Analyses. *biology of Rhodococcus*, 1-21.
- Shanmuganathan, R., Mubarak A. D., Prabakar, D., Muthu Kumar H, Thajuddin, N., Kumar, S. S and Pugazhendhi, A. (2018). An enhancement of antimicrobial efficacy of biogenic and ceftriaxone-conjugated silver nanoparticles: green approach. *environ sci pollut res*, 25 (11), 10362–10370.
- Sharma, R and Ghoshal G. (2020). Optimization of carotenoids production by *Rhodotorula mucilaginosa* (MTCC-1403) using agro-industrial waste in bioreactor: A statistical approach. *Biotechnology reports*, 25, 407.
- Souza, C. R., Bezerra, W. P., and Souto, J. T. (2020). Marine alkaloids with anti-inflammatory activity: Current knowledge and future perspectives. *marine drugs*, 18 (3), 147.
- Sowmya, R and Sachindra, N. M. (2015). Carotenoid production by *Formosa* sp. KMW, a marine bacterium of Flavobacteriaceae family: Influence of culture conditions and nutrient. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 4 (4), 559-567.

## T

- Taale, E. (2016). Recherche de molécules bioactives d'origine microbienne : caractérisation biochimique et moléculaire des souches de bactéries isolées du soubala, du bikalga et de certains yaourts consommés au Burkina Faso, productrices de bactériocines. Thèse de doctorat : microbiologie-Biologie Moléculaire. Burkina Faso : Université Ouaga IPr Joseph KI-ZERBO, 206p.

- Triboulet S. (2013). Etude des effets de deux types de nanoparticules métalliques sur des macrophages murins par une approche protéomique. Thèse doctorat : Biotechnologie. Grenoble : université de Strasbourg 7178. 342p.
- Tutino, M. L., Prisco, G. D., Marino, G and de Pascale, D. (2009). Cold-adapted esterases and lipases: from fundamentals to application. *Protein & Peptide Letters*, 16, 1172-1180

## V

- Velmurugan, P., Venil, C.K., Ravi, A.V., and Dufossé, L. (2016). Marine Bacteria is the cell factory to produce bioactive pigments: a prospective pigment source in the ocean. *Front in sustainable food systems*, 4, 589-655.

## W

- Wang, W., Qu, C., Wang, X., Gao, X, Zhang, H., Miao, J. (2020). Identification of a functional dddD-Rh for dimethyl sulfide production in the antarctic *Rhodococcus* sp.NJ-530. *Journal of basic microbiology*, 60 (7), 639-648.
- Wu, S., and Wu, S. (2020). Processivity and the mechanisms of processive endoglucanases. *Applied biochemistry and biotechnology*, 190 (2), 448-463.
- Wu, G., Yuan, M., Wei, L., Zhang, Y., Lin, Y., Zhang, L., and Lui, Z. (2014). Characterization of a novel cold-adapted diphosphothriane N-acetyltransferase from the marine bacterium *Rhodococcus* sp. Strain YM 12. *Journal of molecular catalysis B : enzymatic*, 104, 23-28.
- Wu, G., Zhang, X., Wei, L., Wu, G., Kumar, A., Mao, T and Liu, Z. (2015). A cold-adapted, solvent and salt tolerant esterase from marine bacterium *Psychrobacter pacificensis*. *International journal of biological macromolecules*, 81, 180-187.

## Y

- Yellamanda, B., Vijayalakshmi, M., Kavitha, Reddy, D. K., Venkateswarlu, Y.( 2016). Extraction and bioactive profile of the compounds produced by *Rhodococcus* sp. VLD-10. *3 Biotech*, 6 (2), 1-9.

## Z

- **Zeng, X., and Xue, D. (2018). Increasing of activity and thermostability of cold active butanol tolerant endoglucanase from marine *Rhodococcus* sp. Under high concentration of butanol under high concentration of butanol condition. 3 Biotech, 8 (6), 1-8.**
- **Zhu, W. Z., Wang, S. H., Gao, H. M., Ge, Y. M., Dai, J., Zhang, X. L., and Yang, Q. (2021). Characterization of bioactivities and biosynthesis of angucycline/angucyclin one derivatives derived from *Gephyromycinifex aptenodytis* gen. nov., sp. nov. *marine drugs*, 20 (1), 34.**
- **Zhou, H., Meng, L., Yin, X., Liu, Y., Wu, J., Xu, G., Wu, M., and Yang, L. (2020). Biocatalytic asymmetric synthesis of L-phosphinothricin using a one-pot three enzyme system and a continuous substrate fed-batch strategy. *Catalysis applied, A, general*, 589, 117- 239.**
- **Zhao, X. Q., Xu, X. N and Chen, L. Y. (2016). Production of enzymes from marine actinobacteria. *Advances in food and nutrition research*, 78, 137-151.**
- **Zeng, Y. (2019). Phylogenetic diversity of diméthylsulfoniopropionate dependent demethylase gene *dmdA* in distantly related bacteria isolated from arctic and antarctic marine environments. *Acta oceanologica sinica*, 38(6), 64-71.**
- **Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Daskalakis, N., Jeuken, L and Povey, M. (2010). Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. *Journal of nanoparticle research*. 12 (5), 1625-36..**

# Résumés

## Résumé

---

Dans notre étude, 19 articles scientifiques qui ont concentré sur l'intérêt biotechnologique des espèces de *Rhodococcus* d'origine marine (eau, sol, sédiments...etc) ont été analysés.

Nous avons utilisé comme mots-clés : *Rhodococcus*, actinomycètes, marin, eau marine, sédiment marin, biotechnologie, application, synthèse, dégradation, bioremédiation.

Notre étude analytique a révélé que les espèces marines de *Rhodococcus* représentent des candidats prometteurs pour diverses applications biotechnologiques en raison de leur potentiel à produire plusieurs composés et molécules tels que des enzymes, des nanoparticules, des molécules bioactives, du biodiesel, des pigments et des biosurfactant...etc. Certains composés ont été produits pour la première fois à partir de Rhodococci marins tels que le rhodindohyde produit par *Rhodococcus* sp. UA13, le 3-isopropyl-hexahydro-1H-pyrido-5(1,2-a) pyrazine-1,4(6H)-dione produit par *Rhodococcus* sp VLD 10 et La phosphinothricine-acétyl-transférase produit par *Rhodococcus* sp. YM12. D'autres composés possédaient des propriétés extraordinaires, ils étaient, par exemple, produits dans des conditions extrêmes (présence de fortes concentrations de métaux lourds ou des concentrations élevées en NaCl...) tels les caroténoïdes produits par *Rhodococcus* sp.

La capacité des espèces marines de *Rhodococcus* à dégrader certains polluants tels que les microplastiques, les huiles, le pétrole brut...etc permet leur utilisation dans des processus de bioremédiation de sites pollués.

**Mots-clés:** *Rhodococcus*, actinomycètes, marin, eau marine, sédiment marin, biotechnologie, application, synthèse, dégradation, bioremédiation.

## Abstract

---

In our study, 19 scientific papers focusing on the biotechnological interest of *Rhodococcus* from marine origin (water, soil, sediments...etc) were analyzed.

As keywords we used: *Rhodococcus*, actinomycetes, marine, marine water, marine sediment, biotechnology, application, synthesis, degradation, bioremediation.

Our analytical study revealed that the marine *Rhodococcus* species represent promising candidates for diverse biotechnological applications due to their potential to produce several compounds and molecules such as enzymes, nanoparticles, bioactive molecules, biodiesel, pigments and biosurfactant...etc. Some compounds were produced for the first time from marine Rhodococci such rhodindohyde from *Rhodococcus* sp.UA13, 3-isopropylhexahydro-1H-pyrido-5(1,2-a)pyrazine-1,4(6H)-dione from *Rhodococcus* sp VLD 10 and phosphinothricine-acetyl-transferase from *Rhodococcus* sp. YM12 . Other compounds possessed extraordinary properties, they were produced for example under extremes conditions (presence of high concentrations of heavy metals, high concentrations of NaCl...) such carotenoids from *Rhodococcus* sp. .

The ability of marine *Rhodococcus* species to degrade some pollutants such microplastics, oils, crude oil... etc allow their use in bioremediation of polluted sites.

**Keywords:** *Rhodococcus*, actinomycetes, marine, marine water, marine sediment, biotechnology, application, synthesis, degradation, bioremediation.

## ملخص

خلال دراستنا تم تحليل 19 مقالاً علمياً حول الفائدة التكنولوجية الحيوية لبكتيريا *Rhodococcus* المعزولة من الوسط البحري ( الماء ، التربة ، الرواسب ... إلخ).

كلمات مفتاحية استخدمنا : *Rhodococcus* ، *Actinomycetes* ، بحري ، المياه البحرية ، الرواسب البحرية ، التكنولوجيا الحيوية ، تطبيق ، إنتاج ، تحليل ، المعالجة الحيوية.

أظهرت دراستنا التحليلية أن مختلف أنواع *Rhodococci* المعزولة من الوسط البحري تمثل بكتيريا واعدة لتطبيقات التكنولوجيا الحيوية المتنوعة نظراً لقدرتها على إنتاج العديد من المركبات والجزئيات مثل الإنزيمات والجسيمات النانوية والجزئيات النشطة بيولوجياً والديزل الحيوي والأصبغ والمواد الخافضة للتوتر السطحي ... إلخ.

تم إنتاج بعض المركبات لأول مرة من هاته البكتيريا مثل le rhodindohyde الذي تم إنتاجه من طرف *sp. UA13* و *Rhodococcus* le 3-isopropyl-hexahydro-1H-pyrido-5(1,2-a) pyrazine-1,4(6H)-dione الذي تم إنتاجه من طرف *Rhodococcus sp VLD 10* و phosphinothricine-acétyl-transférase الذي تم إنتاجه من طرف *Rhodococcus sp. YM12*

أما المركبات الأخرى فكانت لها خصائص غير عادية ، تم إنتاجها مثلاً في ظل ظروف قاسية (وجود تراكيز عالية من المعادن الثقيلة أو تراكيز عالية من الأملاح ... ) مثل الكاروتينات الذي تم إنتاجه من طرف *Rhodococcus sp* أثبتت بكتيريا *Rhodococcus* المعزولة من الوسط البحري القدرة على تحليل بعض الملوثات مثل الجسيمات البلاستيكية والزيوت و النفط الخام ... إلخ، مما يسمح إستخدامها لأغراض المعالجة الحيوية للأوساط الملوثة.

**كلمات مفتاحية:** *Rhodococcus* ، *Actinomycetes* ، بحري ، المياه البحرية ، الرواسب البحرية ، التكنولوجيا الحيوية ، التطبيق ، إنتاج ، تحليل ، المعالجة الحيوية



Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : Harrak Ikram  
Bouhlassa Fatima  
Boufoula Doha

## Intérêt biotechnologique du genre *Rhodococcus* d'origine marine

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes

### **Résumé**

Dans notre étude, 19 articles scientifiques qui ont concentré sur l'intérêt biotechnologique des espèces de *Rhodococcus* d'origine marine (eau, sol, sédiments...etc) ont été analysés.

Nous avons utilisé comme mots-clés : *Rhodococcus*, actinomycètes, marin, eau marine, sédiment marin, biotechnologie, application, synthèse, dégradation, bioremédiation.

Notre étude analytique a révélé que les espèces marines de *Rhodococcus* représentent des candidats prometteurs pour diverses applications biotechnologiques en raison de leur potentiel à produire plusieurs composés et molécules tels que des enzymes, des nanoparticules, des molécules bioactives, du biodiesel, des pigments et des biosurfactant...etc. Certains composés ont été produits pour la première fois à partir de Rhodococci marins tels que le rhodindohyde produit par *Rhodococcus* sp. UA13, le 3-isopropyl-hexahydro-1H-pyrido-5(1,2-a) pyrazine-1,4(6H)-dione produit par *Rhodococcus* sp VLD 10 et La phosphinothricine-acétyl-transférase produit par *Rhodococcus* sp. YM12. D'autres composés possédaient des propriétés extraordinaires, ils étaient, par exemple, produits dans des conditions extrêmes (présence de fortes concentrations de métaux lourds ou des concentrations élevées en NaCl...) tels les caroténoïdes produits par *Rhodococcus* sp.

La capacité des espèces marines de *Rhodococcus* à dégrader certains polluants tels que les microplastiques, les huiles, le pétrole brut...etc permet leur utilisation dans des processus de bioremédiation de sites pollués.

**Mots-clés: *Rhodococcus*, actinomycètes, marin, eau marine, sédiment marin, biotechnologie, application, synthèse, dégradation, bioremédiation**

**Encadreur : MERIANE Ilhem (MAA - UFM Constantine).**

**Examineur 1 : KITOUNI Mahmoud (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).**

**Examinatrice 2 : ABDELAZIZ Wided (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).**