



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département : Microbiologie**

**قسم : ميكروبيولوجيا**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Ecologie microbienne**

Intitulé :

---

## **Mesure de l'activité protéolytique, polysaccharidique et lipidique des souches mycéliennes isolées d'un sol salé**

---

**Présenté et soutenu par :** *Beghoul Basma*

**Le :** 15/06/2016

*Hammoudi Imene*

**Jury d'évaluation :**

**Examineurs :** *Mr. HAMIDECHI Md Abdelhafid* (Professeur – UFM Constantine)

**Président du jury :** *Mr. BENHIZIA Yacine* (Professeur - UFM Constantine)

**Rapporteur :** *Mme ZEHIOUA BOUCHERIT Zeyneb*

**Année universitaire**

**2015 - 2016**

## *Remerciement*

*Nous exprimons nos remerciements et nos profondes gratitude avant tous au bon **Dieu** nous a donné la force et la volonté d'élaborer ce modeste travail.*

*Ce travail à été réalisé dans le laboratoire de l'environnement et microbiologie*

*Aux honorables membres de Jury*

*À notre Encadreur Madame **BOUCHRIT ZEYNEB**, maitre assistante*

*A la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Mentouri*

*De Constantine, pour son soutien et sa contribution à la réalisation*

*De ce travail et pour ses précieux conseils.*

*Nous remercions également :*

*Monsieur **HAMIDECHIA**, qu'il nous fait en président le jury Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur **BENHIZIA.Y** professeur a l'université Constantine 1 pour avoir Accepté d'examiner ce travail et de l'attribuer des remarques et des Corrections très intéressantes, et c'est honneur pour nous qu'il juge ce travail.*

*À ceux et celles qui nous a aidé d'une façon ou d'une autre de près ou de loin*

*Dans notre travail, nous les remercie de fond le cœur.*



*Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes chères Papa et Mama que j'adore que dieu vous garde pour moi,*

*A mes sœurs et frères,*

*A mes neveux et nièces,*

*Et a toutes mes amies.*

*Basma*

*Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à :*

*Ma mère, **FATIMA** qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour,  
son soutien, tous les Sacrifices consentis et ses précieux conseils,  
pour toute son assistance et sa Présence dans ma vie, reçois à travers*

*ce travail aussi modeste soit-il, l'expression  
de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon père, **MESSAOUDE** qui peut être fier et trouver ici le résultat  
de longues années de Sacrifices et de privations pour m'aider à avancer  
dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci  
pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi*

*Mon âme sœur **SARA***

*Mon cher fiancé **REDHA***

*Ma seule tante **MALIKA** et leur filles **ROMAYSSA, RIMA***

*Et spécialement **MARWA***

*Mes adorables copines : **FOUZIA, ITIDEL***

*À mon binôme on a passé des moments ensemble que Dieu garde*

*Notre amitié pour toujours*

*À toute ma famille et ceux qui sont proche de mon cœur et dont je n'ai*

*Pas cité le nom*

*À tous ceux que j'aime*

***IMENE***

## Table des matières

<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Introduction</b>	1
<b>Revue bibliographique</b>	
<b>Chapitre 1 : les moisissures</b>	
1-Généralité	3
2-Habitat	3
3-Structure cellulaire	3
4-Classification	4
4-1 Zygomycètes	4
4-2 Ascomycètes	4
4-3 Basidiomycètes	5
4-4 Deutéromycètes	5
5-Activités biologiques	5
5-1 Activité toxique	5
5-2 Activité antimicrobienne	5
5-3 Activité métabolique	6
<b>Chapitre 2 : Activités enzymatiques</b>	
1-Généralités sur les enzymes	7

2-Activité enzymatique	7
2-1 Activité protéolytique	7
2-1-1 Substrat	7
2-1-2 Enzyme	7
2-1-3 Mode d'action	8
2-2 Activité lipolytique	8
2-2-1 Substrat	8
2-2-2 Enzyme	8
2-2-3 Mode d'action	8
2-3 Activité amylolytique	9
2-3-1 Substrat	9
2-3-2 Enzyme	9
2-3-3 Mode d'action	9
2-4 Activité cellulolique	9
2-4-1 Substrat	9
2-4-2 Enzyme	10
2-4-3 Mode d'action	10
2-5 Activité pectinolytique	10
2-5-1 Substrat	10
2-5-2 Enzyme	11
2-5-3 Mode d'action	12
2-6 Activité lactosique	12
2-6-1 Substrat	12
2-6-2 Enzyme	12
2-6-3 Mode d'action	13

<b>Chapitre 3 : Application des moisissures</b>	
3- Application des moisissures	14
3-1 Industrie alimentaire	14
3-2 Industrie pharmaceutique	14
3-3 Industrie chimique	15
3-4 Domaine phytosanitaire	15
3-5 Domaine environnemental	15
<b>Matériels et Méthodes</b>	
1-Souches mycéliennes	17
2-Recherche de l'activité hydrolytique	17
2-1 Activité protéolytique	17
2-2 Activité cellulolique	17
2-3 Activité pectinolytique	17
2-4 Activité lactosique	17
2-5 Activité amylolytique	17
2-6 Activité lipolytique	18
2-6-1 Activité lipolytique effective	18
2-6-2 Activité estérasique	18
<b>Résultats et discussions</b>	
1-Mise en évidence de l'activité hydrolytique	20
2-Mise en évidence de l'activité protéolytique	20
2-1- Mise en évidence de l'activité caséolytique	20
2-2- Mise en évidence de l'activité albuminolytique	22
2-3- Mise en évidence de l'activité gélatinolytique	22
3- Mise en évidence de l'activité glucidique	22

3-1- Mise en évidence de l'activité cellulolytique	22
3-2- Mise en évidence de l'activité pectinolytique	24
3-3- Mise en évidence de l'activité amylolytique	24
3-4- Mise en évidence de l'activité lactosique	24
4- Mise en évidence de l'activité lipolityque	24
5- potentiel hydrolytique des souches	31
5-1 Souches dégradantes tout les substrats	31
5-2- Souches dégradantes six substrats	31
5-3- Souches dégradantes cinq substrats	31
5-4- Souches dégradantes quatre substrats	33
5-5- Souches dégradantes trois substrats	33
5-6- Souches dégradantes moins de trois substrats	35
<b>Conclusion et perspectives</b>	41
<b>Annexes</b>	
<b>Références bibliographique</b>	
<b>Résumé</b>	



## Liste des abréviations

**A<sub>w</sub>** : Activité d'eau

**Alb** : Albumine

**C** : Colonie

**Cas** : Caséine

**Cel** : Cellulose

**EC** : Enzyme Commission

**Gél**: Gélatine

**H**: Halo

**HG**: Homo-Galacturonane

**Lac**: lactose

**PG**: Poly-Galacturonases

**PL**: Pectine-Lyase

**PAL**: Pectate-Lyase

**Pec**: Pectine

**R**: Ratio

**RG**: Rhamno-Galacturonane

**Trb**: Tributyrine

**Tw<sub>n</sub>**: Tween 80

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Effectifs des souches productrices d'enzyme hydrolytique.....	21
<b>Figure 2 :</b> Activité caséolytique.....	23
<b>Figure 3 :</b> Les proportions des souches ayant une activité caséolytique.....	23
<b>Figure 4:</b> Activité sur l'albumine.....	23
<b>Figure 5 :</b> Les proportions des souches qui dégradés l'albumine .....	23
<b>Figure 6 :</b> Activité sur gélatine.....	23
<b>Figure 7 :</b> Les proportions des souches qui dégradés la gélatine .....	23
<b>Figure 8 :</b> Activité pectinolytique.....	25
<b>Figure 9 :</b> Les proportions des souches ayant une activité pectinolytique.....	25
<b>Figure 10 :</b> Activité de l'amylolytique.....	25
<b>Figure 11 :</b> Les proportions des souches ayant une activité amylolytique .....	25
<b>Figure 12:</b> Activité sur tributyrine.....	25
<b>Figure 13 :</b> Les proportions des souches qui ont dégradés la tributyrine .....	25
<b>Figure 14 :</b> Activité sur Tween80.....	26
<b>Figure 15:</b> Les proportions des souches qui ont dégradés le tween 80 .....	26
<b>Figure 16:</b> Activité cellulolytique.....	26
<b>Figure 17 :</b> Activité lactosique.....	26
<b>Figure 18:</b> Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu caséine.....	27
<b>Figure 19 :</b> Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu d'Albumine.....	27
<b>Figure 20 :</b> Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu de Gélatine.....	27
<b>Figure 21 :</b> Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu de Cellulose.....	28
<b>Figure 22 :</b> Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu de pectine.....	28

<b>Figure 23</b> : Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu de lactose.....	28
<b>Figure 24</b> : Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu d'amidon.....	29
<b>Figure 25</b> : Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu de Tributyrine...	29
<b>Figure 26</b> : Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu de Tween80.....	29
<b>Figure 27</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs1.....	30
<b>Figure 28</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs2.....	30
<b>Figure 29</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs3.....	30
<b>Figure 30</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs4.....	32
<b>Figure 31</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs5.....	32
<b>Figure 32</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs6.....	32
<b>Figure 33</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs8.....	34
<b>Figure 34</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs9.....	34
<b>Figure 35</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs10.....	34
<b>Figure 36</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs11.....	36
<b>Figure 37</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs12.....	36
<b>Figure 38</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs14.....	36
<b>Figure 39</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs16.....	37
<b>Figure 40</b> : L'activité hydrolytique de la souche Gs17.....	37
<b>Figure 41</b> : L'activité hydrolytique de la souche E1s3.....	37
<b>Figure 42</b> : L'activité hydrolytique de la souche E1s1.....	38
<b>Figure 43</b> : L'activité hydrolytique de la souche E2s4.....	38
<b>Figure 44</b> : L'activité hydrolytique de la souche Es25.....	38
<b>Figure 45</b> : L'activité hydrolytique de la souche E2s3.....	39

<b>Figure 46 :</b> L'activité hydrolytique de la souche E2s6.....	39
<b>Figure 47 :</b> L'activité hydrolytique de la souche Vs1.....	39
<b>Figure 48 :</b> L'activité hydrolytique de la souche Vs2.....	39

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau 1</b> : Caractérisations des pectinases.....	11
<b>Tableau 2</b> : Activité hydrolytique des souches testées.....	21

# Introduction

## Introduction

La pollution de l'eau, de l'air et des sols par les rejets issus des différentes industries tels que pharmaceutiques, chimiques, agroalimentaires...etc. est très importante d'où la nécessité de disposer de solutions fiables permettant un traitement efficace et pas très coûteux des rejets et éventuellement les valoriser. Ces rejets se caractérisent par leur forte charge en matières organiques et en grasses, ces derniers sont facilement dégradés par des microorganismes dont les moisissures qui disposent de potentialité d'applications biotechnologiques très étendus grâce à leur grande capacité à produire une diversité de molécules (Larpend-Gourgaud et Sanglier, 1992) et leur arsenal enzymatique intra et extracellulaire très développé (Leveau et Bouis, 1993).

L'objectif de ce travail est d'étudier la dégradation de certains polymères organiques (protéines, polysaccharides et lipides) considéré comme source potentielle de pollution environnementale, par les moisissures. Pour cela on a effectué des tests sur milieu solide préparé à base du substrat visé selon le protocole suivant.

- La préparation des milieux de cultures solides contenant des substrats cibles comme une seule source de carbone et d'énergie ; neuf substrats de différentes natures ont été utilisés : protéique (caséine à 5%, albumine 1%, et gélatine à 5%), glucidique (pectine à 2%, cellulose à 3%, lactose à 5% et amidon à 1%), lipolytique (tween 80 à 5%, tributyrine à 1%).
- Mise en évidence des activités hydrolytiques extracellulaires où la formation d'une zone d'hydrolyse autour des colonies indique la production de ces enzymes.

# Revue Bibliographique



## Chapitre 1 : les moisissures

### 1- Généralités

Les moisissures sont définies comme l'ensemble des champignons microscopiques saprophytes (Leyral et Vierling, 2001). Ce sont des eucaryotes, hétérotrophes (Marie, 1997) exigeant la présence des éléments nutritifs tel que le Carbone (Glucose, Saccharose...), l'Azote sous forme de sels d'Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et des ions minéraux en quantités faibles (Sulfate, Magnésium, Potassium...) (Davet, 1996).

Ce sont des microorganismes aérobies, supportant un faible besoin en eau par rapport à d'autres micro organismes ( $A_w = 0.65$ ) (Boiron, 1996), acidophiles (pH de croissance compris entre 3 et 7) (Nicklin et al., 2000) et mésophiles (Température optimale de croissance 20-30°C) (Botton et al., 1990) ; Cependant, certaines espèces sont psychrophiles (Température inférieure à 5° C ou même parfois inférieure à 0°C) comme *Cephalosporium Acremoniun* et d'autres sont thermophiles comme *Myceliophora Thermophila*

### 2- Habitat

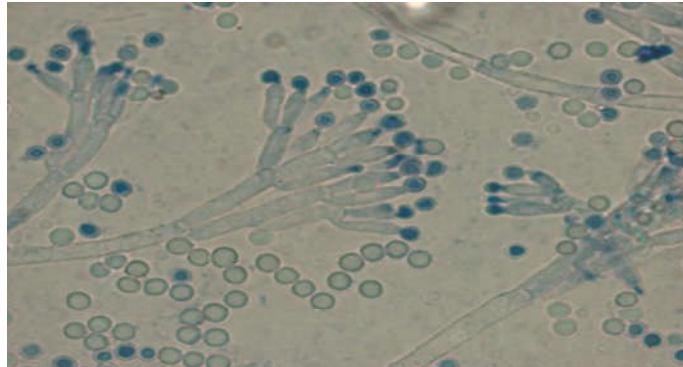
Les moisissures se développent lorsque les conditions environnementales (Humidité, température et disponibilité des substrats organiques) sont favorables (Isaac et al., 1993).

Ce sont des organismes ubiquitaires, On les rencontre dans les forêts (particulièrement au sol), dans les salles de bain, les cuisines, sur les tapisseries mais aussi sur les céréales, les fruits, les légumes, le fromage, le pain.....etc. (Nafees, 2009). Beaucoup d'espèces vivent dans les habitats froids, chauds, arides, hyper-salés ou autres habitats inhospitaliers (Isaac et al., 1993).

### 3- Structure cellulaire

Les champignons sont des microorganismes vivants constitués en grande partie de filaments de structure simple et de quelques cellules plus spécialisées qui donneront naissance à des spores. Les champignons ont un matériel génétique confiné dans un noyau au même titre que les plantes et les animaux mais ils possèdent un certain nombre de caractéristiques qui en font un groupe à part : parois contenant la chitine, absence de Chlorophylle et de mobilité.

L'ensemble de ces caractéristiques fait sorte que les taxonomistes classent les champignons dans un règne distinct : Les mycètes (Kendrick, 1999 ; Malloch, 1997).



#### 4- Classification

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématique homogène mais se situent en divers familles de champignons microscopiques. Leur classification est basée sur des caractères morphologiques (structure du mycélium) et le mode de reproduction (Davet, 1996). Les Eumycètes (les vrais champignons) forment un groupe très vaste incluant les classes principales des moisissures (Bourgeois, 1989) à savoir les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deutéromycètes.

##### 4-1 Zygomycètes

Ce sont des champignons possédant un thalle mycélien non cloisonné et des organes de reproduction sexués (Guirad, 1998) ; la plupart sont des saprophytes vivant surtout dans les sols mais certains sont parasites (Bousseboua, 2005). La famille la plus importante dans cette classe est celle des mucorales (Leveau et Bouix, 1993 ; Boiron, 1996).

##### 4-2 Ascomycètes

Les ascomycètes sont définis comme des champignons à thalle mycélien cloisonné, dont le mode de reproduction est sexué avec des spores endogènes (ascospores). Cette classe regroupe de nombreux parasites des végétaux et des moisissures (Guiraud, 1998). Elles sont cependant plus particulièrement nombreuses dont les ordres les plus connus sont *Endothia* et *Neurospora* (Bourgeois, 1998).

### 4-3 Basidiomycètes

Elles sont caractérisées par un thalle à mycélium septé et une reproduction sexuée avec la formation de spores endogènes (Basidiospores). Cette classe regroupe seulement certaines moisissures parasites ; C'est le cas de *Agaricus* et *Copinus* (Botton et al., 1999).

### 4-4 Deutéromycètes

Egalement appelés champignons imparfaits, les deutéromycètes sont caractérisés par un mycélium cloisonné et une reproduction végétative réalisée par des spores asexuées ou par simple fragmentation du mycélium (Boiron, 1996).

Ils contiennent un grand nombre de contaminants de végétaux et de produits alimentaires et regroupent les genres suivants. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Fusarium* et *Geotrichum* (Frazier, 1967 ; Punt et al., 2002).

## 5-Activités biologiques

### 5-1 Activité toxinique

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques, vis-à-vis l'Homme et l'animal, produits par certaines moisissures dans les milieux où elles se développent (Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 2002). La nature de ces métabolites, très hétérogènes, dépend des caractères individuels de la souche et des conditions environnementales (Luchese et Harrigan, 1993 ; Steyn, 1980). Leur production est un caractère très important chez les moisissures aboutissant à une grande diversité de molécules dont les plus importantes sont les aflatoxines, l'ochratoxine A, les fumonisines, les trichothécènes et la zéaralénone produites par cinq types de champignons *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria*. (Cristina, 2007).

### 5-2 Activité antimicrobienne

Les antibiotiques sont des substances chimiques ou naturelles produites par un microorganisme, capable d'inhiber ou de détruire d'autres microorganismes (Pierre Chevalier, 2012). De nombreux antibiotiques naturels proviennent principalement des moisissures tels que les pénicillines, les céphalosporines, synthétisés par *Penicillium sp*, *Céphalosporium sp*. Leurs utilisations dans le traitement des maladies infectieuses ont entraîné une véritable révolution médicale au cours de la deuxième moitié du vingtième siècle (Hagop Demirdjian, 2006).

Il a été trouvé que certaines moisissures comme *Aspergillus niger* et *Penicillium spp* produisent des enzymes antimicrobiennes telles que les hydrolases qui détruisent les composantes structurales de la membrane cellulaire des microorganismes ; alors que les oxydoréductases attaquent les protéines à l'intérieur de la cellule. Ces enzymes sont utilisées pour la conservation de certains produits alimentaires (Fuglsang et *al.*, 1995).

### **5-3 Activité métabolique**

La panoplie enzymatique des champignons est extrêmement riche et leur permet d'utiliser les substrats les plus complexes plus efficacement que les bactéries ; tel que la cellulose, la lignine, la kératine, les acides humiques etc. (Davet, 1997).

Le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le maltose, le saccharose, l'amidon et la cellulose représentant des substrats simples sont les sucres les plus utilisés par les moisissures comme source de carbone et d'énergie.

Ces hydrates de carbone sont dégradés grâce à la glycolyse et le métabolisme aérobie (Boiron, 1996 ; Nicklin et *al.*, 2000). D'autres composés plus complexes tels que les pesticides, les hydrocarbures, les plastiques, les tissus, le cigare, le cuir pour chaussures, l'encre (Jerone J. Perry, James T Staley, Stephen Lory, 2002).

La lignine, la pectine et les lipides sont également dégradés par les moisissures à côté des déchets issus de l'industrie agroalimentaires (lactosérum, mélasses de canne ou de betteraves, amidon de maïs, déchets d'agrumes... etc.) (Nishio et Nagai, 1981 ; Joyeau, 1982 ; Art et *al.*, 1991).

## **1- Généralités sur les enzymes**

Les enzymes, catalyseurs biologiques, assurent le déroulement de toutes les réactions métaboliques de l'être vivant. Leur nombre élevés a conduit à leur organisation en classes qui se caractérisent par un profil catalytique ce qui a aboutit à un numéro spécifique pour chaque enzyme (Pelmont, 1995). Elles peuvent être extraites des tissus végétaux ou animaux ou produites par certains microorganismes et sont appréciées pour leurs grandes efficacités et spécificités ainsi que pour leur contribution à la mise en œuvre plus respectueuse de l'environnement. Les enzymes microbiennes sont dominantes car elles offrent plusieurs avantages dans plusieurs domaines (Bouix et Leveau, 1999).

Dans la nature, les microorganismes utilisent les enzymes pour dissocier les protéines, les polysaccharides, les lipides et d'autres grandes molécules, les réduisant en monomères, servant de sources de carbone et d'énergie pour eux-mêmes ou pour d'autres organismes présents dans l'environnement ; Ces enzymes hydrolytiques peuvent être intracellulaires ou extracellulaires, libérées dans le milieu extérieur ou localisées sur la surface de champignons, ce qui simplifie leur récupération (Murray Nabors ; 2008).

## **2- Activité enzymatique**

### **2-1-Activité protéolytique**

#### **2-1-1- Substrat**

Les protéines sont des macromolécules constituées par l'association de nombreux acides aminés (polymères) réunis entre eux par des liaisons peptidiques

#### **2-1-2- Enzyme**

Les protéases ou peptidases (EC.3.4) sont des enzymes protéolytiques qui catalysent l'hydrolyse de liaisons peptidiques. Dans certains cas, les enzymes sont hautement spécifiques et hydrolysent une unique liaison peptidique d'une protéine donnée. Dans d'autres cas, les peptidases hydrolysent plusieurs liaisons peptidiques qui présentent une séquence ou conformation déterminée (Hartely, 1960).

### 2-1-3- Mode d'action

Les protéases catalysent le clivage des liaisons peptidiques des protéines. En fonction de leur mode d'attaque, elles sont réparties en deux groupes :

- Les exopeptidases qui réalisent une hydrolyse à partir des extrémités N-terminale, ou C-terminale des peptides et libèrent soit un unique résidu d'acide aminé, soit un dipeptide ou un tripeptide (Scriban, 1999 ; Rao, 1998).
- Les endopéptidases qui hydrolysent une liaison peptidique interne en libérant des peptides plus petits.

### 2-2-Activité lipolytique

#### 2- 2-1 Substrat

Les lipides, la matière grasse des êtres vivants, sont des molécules organiques insolubles dans l'eau (lipos) et solubles dans les solvants organiques apolaires ; Ils sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras.

#### 2-2-2 Enzyme

Les lipases sont des triacylglycerol-acylhydrolases (EC 3.1.1.3). D'origines animale, végétale ou microbienne, elles sont très répandues dans le monde vivant où elles jouent un rôle essentiel dans le catabolisme des triglycérides (Y, Yang. M, Lowe ; 2000). En fonction du microenvironnement de l'enzyme, elles peuvent agir en tant qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique. Il existe deux groupes d'enzymes très connues dans la famille des hydrolases d'esters carboxyliques: les lipases et les estérases. Les estérases se distinguent des lipases par leur préférence pour les acyl esters à chaîne courte (inférieure à 10 atomes de carbone) (Ghanem, 2007).

#### 2-2-3 Mode d'action

En fonction de l'environnement, des substrats mis en jeu et des conditions réactionnelles, les lipases catalysent un très large éventail de réactions la plus importante est l'hydrolyse des tri-acyl-glycérols en mono-acyl-glycérol, en di-acyl-glycérol ou en glycérol et trois acide gras libres.

## 2-3 Activité amylolytique

### 2-3-1- Substrat

L'amidon, polysaccharide des végétaux de haute masse moléculaire est constitué par l'enchaînement des unités de D-glucose liées par des liaisons glucosidiques  $\alpha$  (1-4) au niveau des chaînes linéaires et  $\alpha$  (1-6) au niveau des ramifications.

### 2-3-2 Enzyme

Les amylases (EC.3.2) sont des enzymes de dépolymérisation de l'amidon responsable de la rupture des liaisons  $\alpha$ -1,4-glucosidiques et la libération de produits de faible masse moléculaire.

### 2-3-3 Mode d'action

Différentes familles d'enzymes sont capables d'hydrolyser l'amidon selon différents modes d'action tels que

- les  $\alpha$ -amylases (EC.3.2.1.1) qui hydrolyse les liaisons  $\alpha$ -1,4-D-glucosidiques contenues dans l'amidon. Elles agissent aussi sur le glycogène et l'amylose (Schwimmer et Balls, 1949).
- Les  $\beta$  amylases (EC.3.2.1.2) Elles libèrent du maltose (un sucre dimère du glucose) aux extrémités de l'enchaînement des molécules d'amidon.
- L'amyloglucosidase (EC.3.2.1.3) hydrolyse les liaisons  $\alpha$ -1,4-D-glucosidiques des glucoses terminaux. Elle permet l'hydrolyse du maltose, de l'amylopectine et de l'amylose en glucose.

## 2-4 Activité cellulosique

### 2-4-1- Substrat

La cellulose est un polymère glucidique formé par l'enchaînement linéaire de monomères de glucose ; ces derniers reliés par des liaisons glycosidiques  $\beta$  (1-4) (Gandini et Pasquini, 2012). Sa biodégradation est un des paramètres majeurs contrôlant le cycle du carbone sur terre, assurée par des microorganismes cellulolytiques (Lekchiri et *al.*, 2006).

### 2-4-2- Enzyme

Les cellulases (E.C.3.2.1.4) se rapportent à un groupe d'enzymes qui, agissant ensemble, hydrolysent la cellulose en sucres simples (Kader et *al.*, 1999; Korish, 2003). Elle est l'une des principaux membres de la famille des glycosides hydrolases. C'est un système enzymatique complexe, composé de trois types d'enzymes: Endocellulase (EC 3.2.1.4), Cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91) et Cellobiase (EC 3.2.1.21) (Xu, 2002).

### 2-4-3- Mode d'action

Les trois principaux types d'enzymes constituant le complexe cellulosique présentent différents modes d'action complémentaires qui peuvent réaliser une hydrolyse totale de la cellulose. Ce complexe travaille en synergie, c'est-à-dire que l'activité des enzymes lors d'une mise en œuvre en commun est supérieure à la somme de leurs activités individuelles (Lynd et *al.*, 2002).

- Endocellulase : rompt les liaisons internes de la chaîne cellulosique d'une façon aléatoire et entraîne la libération de cellodextrines, du cellobiose et du glucose. Elle est très active sur les celluloses solubles. L'attaque «au hasard» de l'endocellulase a pour effet la création de nouvelles extrémités non réductrices qui sont des sites réactifs pour la cellobiohydrolase (Hasper et *al.*, 2002).
- Cellobiohydrolase : attaque les polymères de cellulose par les extrémités non réductrices et libère des résidus cellobiose. L'enzyme seule n'est active ni sur la cellulose cristalline ni sur les celluloses solubles (carboxyméthylcellulose), par contre elle attaque les celluloses partiellement dégradées (Scriban, 1993).
- Cellobiase : peut être active sur les  $\beta$  (1-4) oligoglucosides mais l'activité diminue rapidement quand la longueur de la chaîne augmente (Scriban, 1993 ; Jossefsson, 2006).

## 2-5-Activité pectinolytique

### 2-5-1- Substrat

Les pectines, sont des complexes polysaccharidiques de l'acide ( $\alpha$ -D-galacturonique). Elles sont constituées d'une zone lisse formée d'homogalacturonane (HG) et d'une zone hérissée composé de rhamnogalacturonane (RG) et d'une chaîne latérale. (Vorgan et *al.*, 1995 ; Bonnin et *al.*, 1997).



### 2-5-2-Enzyme

Les enzymes qui dégradent les substances pectiques se composent de deux catégories. Les pectinases qui agissent au niveau des zones lisses comme les dépolymérase et les estérase ; Les rhamnogalacturonases qui interviennent au niveau des zones hérissées (LE GOFF, 2001). Comme toutes les autres enzymes, les pectinases sont aussi caractérisées par un code qui tient compte de la spécificité de la réaction catalysée, du substrat, du mode de coupure et de la nature de la liaison rompue.

*Tableau 1 : caractérisations des pectinases*

<b>Code</b>	<b>Type</b>	<b>Nom</b>
<b>EC 3.2.1.15</b>	<b>Hydrolase</b>	<b>Polygalacturonase</b>
<b>EC 3.2.1.67</b>	<b>Hydrolase</b>	<b>Endo</b>
		<b>Exo</b>
<b>EC 4.2.2.10</b>	<b>Endo lyase</b>	<b>Lyase</b>
		<b>Pectine-lyase(PL)</b>
<b>EC 4.2.2.2</b>	<b>Lyase</b>	<b>Pectate-lyase (PAL)</b>
<b>EC 4.2.2.9</b>	<b>Lyase</b>	<b>Endo</b>
		<b>Exo</b>
<b>EC 3.1.1.11</b>	<b>Hydrolase</b>	<b>Estérase</b>
		<b>Pectine méthylestérase</b>

### 2-5-3 Mode d'action

- La dégradation des homogalacturonanes (zone lisse)

Les dépolymérase agissent soit par hydrolyse (Hydrolases) ou par  $\beta$ -élimination (Lyases) sur les liaisons glycosidiques. Les enzymes impliquées sont les polygalacturonases (EndoPG, ExoPG) et les lyases (EndoPL et EndoPAL, ExoPAL). Les estérases ou enzymes saponifiantes catalysent la désestérification des groupements méthoxyl des pectines pour former de l'acide pectique et du méthanol.

. La dégradation des rhamnogalacturonanes (zone hérissée)

- La dégradation du squelette rhamnogalacturonique nécessite l'intervention des hydrolases et des estérases tels que : Rhamnogalacturonanes-hydrolases, Rhamnogalacturonanes-lyases et Rhamnogalacturonanes-acétylestérases.
- La dégradation des chaînes latérales

De nombreuses enzymes interviennent dans les dégradations telles que les arabinases, les galactases et les osidases.

## 2-6- Activité lactosique

### 2-6-1 Substrat

C'est le composant majeur et le plus constant du lait ; sa présence est extrêmement rare en dehors de ce dernier. Le lactose ( $\beta$ -D-galactopyranosyl) (1-4D-glucoopyranose) est un disaccharide constitué d'une unité de galactose et d'une unité de glucose (Jeantet et *al.*, 2007).

### 2-6-2 Enzyme

Les lactases ( $\beta$ -galactosidases) (EC 3.2.1.23) sont des enzymes relativement communes chez les êtres vivants, particulièrement chez les micro-organismes dont des moisissures (*Aspergillus niger*), qui font partie importante dans l'hydrolyse de lactose pour donner du galactose et du glucose (J.-L.Baret ; 1982).

**2-6-3 Mode d'action**

L'activité de la  $\beta$ -galactosidase consiste à accélérer la vitesse d'hydrolyse de la liaison osidique d'un disaccharide appelé  $\beta$ -galactoside au niveau de la liaison  $\beta$ -(1,4-glucosidique). Les oses libérés (Galactose et Glucose) sont métabolisés et participent à la production d'énergie via la glycolyse et le cycle de Krebs.

### 3-Applications des moisissures

Les moisissures manifestent une très grande utilité dans de larges secteurs de la vie économique (Leveau et Bouix, 1993). Elles sont utilisées dans l'industrie alimentaire, l'industrie chimique, la biolixiviation et la biotransformation.....etc. Leur intérêt économique repose sur la production d'une grande diversité de molécules produites au cours des métabolismes primaires et secondaires (Larpend-Gourgau et Sanglier, 1992) ; Cependant l'industrie n'exploite commercialement qu'un petit nombre de ces métabolites (Boiron, 1996).

#### 3-1 Industrie alimentaire

Les champignons filamenteux sont des producteurs importants des acides organiques tels que l'acide citrique (Leveau et Bouix, 1993 ; Boiron, 1996). Ce dernier est notamment produit par *Aspergillus niger* où 60% de sa production est destinée au secteur alimentaire (Botton et *al.*, 1990). Le rôle de certaines espèces du genre *Penicillium* (*P.camemberti* et *P.roqueforti*) en fromagerie a été confirmé par des études sur des laits caillés à flore contrôlée (Lenoir et *al.*, 1979).

La production de biomasse peut être une source importante pour l'alimentation animale et même humaine en servant de complémentation des produits céréaliers ; C'est le cas d'*Aspergillus niger* et de *Fusarium graminearum* (Botton et *al.*, 1990 ; Larpend- Gourgau et Sanglier, 1992 ; Delgado-Jarana et *al.*, 2002).

Les enzymes fongiques restent toujours les outils clés de la biotechnologie et reflètent de plus en plus l'importance et le rôle infini des moisissures dans les différentes applications alimentaires. *Aspergillus niger* est un bon exemple. Il produit la cellulase, les amylases, l'invertase et la pectinase, tous employés principalement comme des catalyseurs biologiques en glucoserie, brasserie et pour la fabrication des boissons. Cette moisissure secrète aussi des protéases, des lipases et des estérases utilisées dans différentes applications alimentaires (Kosikowski, 1988 ; Scriban, 1999).

#### 3-2 Industrie pharmaceutique

La diversité d'action des moisissures est remarquable dans le domaine de la santé. Elle se manifeste notamment dans la fabrication des antibiotiques comme la pénicilline de *Penicillium*

*notatum*, des vitamines comme exemple Riboflavine B2 de *Ashbya gossypii* et de nombreuses substances pharmacologiquement actives (Leveau et Bouix, 1993 ; Ellaiah et *al.*, 2003).

### 3-3 Industrie chimique

Dans l'industrie chimique il s'agit essentiellement de l'utilisation des protéases alcalines d'*Aspergillus oryzae* et de *Stachybotrys chartarum* dans les détergents (Miller, 2002) ; la production de cellulase par *Aspergillus niger* et *Trichoderma harzianum* présente une diversité d'applications industrielles où 48% de sa production par ces deux espèces fongiques est utilisée pour l'industrialisation des papiers et les textiles (Delgado- Jarana et *al.*, 2002).

### 3-4 Domaine phytosanitaire

Il s'agit des gibbérellines, hormones de croissance végétales, produites par une moisissure pathogène *Gibberella fujikuroi* et des myco-pesticides produites par certaines espèces appartenant aux Zygomycètes et aux Deutéromycète (Leveau et Bouix, 1993).

### 3-5 Domaine environnemental

Certaines moisissures luttent contre la pollution. Un rôle anti-*Mucor* du genre *Penicillium* conduisant ainsi à l'élimination de problème appelée couramment «accident de poil du chat » (Samson et *al.*, 1977). Une culture mixte de moisissures et levures (*Mucor hiemalis*, *Aspergillus niger* et *Galactomyces geotrichum*) est utilisée dans la biodégradation d'effluents industriels en éliminant ainsi la pollution causée par la décomposition de la matière carbonée (Djelal et Perrot 2009).

En biolixiviation seules certaines moisissures possèdent d'intéressantes propriétés ; *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium funiculosum* et *Rhizopus arrhizus* sont capables d'absorber de l'uranium des minerais (Boiron, 1996 ; Larpent- Gourgaud et Sanglier, 1992 ; Botton et *al.*, 1999).

# Matériels & Méthodes

## **1 - Souches mycéliennes**

Les souches mycéliennes utilisées nous ont été fournies par le laboratoire de Biologie et Environnement, faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université des frères Mentouri Constantine. Un total de 22 souches ont été étudiées à fin de tester leur activité hydrolytique.

## **2- Recherche de l'activité hydrolytique**

L'activité hydrolytique est déterminée en ensemençant les moisissures par touche au centre de la boîte de Pétri puis ces dernières sont incubées à 25° C pendant 7 j.

### **2-1- Activité protéolytique**

L'étude de cette activité est réalisée sur des milieux de différentes protéines (Caséine à 5%, gélatine à 5% et l'albumine à 1%) (Annexe 1,2 et 3). L'observation d'une zone claire autour de la colonie prouve la production des protéases extracellulaires.

### **2-2- Activité cellulosique**

Cette activité est évaluée sur milieu contenant 3% de cellulose. L'apparition de zones claires autour des colonies est un résultat positif indiquant la présence de cellulase extracellulaire.

### **2-3-Activité pectinolytique**

L'hydrolyse enzymatique des substances pectiques est caractérisée par l'halo clair autour des colonies sur un milieu de culture préparé à base de 2% de pectine (Annexe 5).

### **2-4 Activité lactosique**

Cette activité est examinée sur milieu contenant 1% de lactose. L'apparition d'halo clair autour des colonies indique la présence des  $\beta$ -galactosidases

### **2-5 Activité amylolytique**

La présence de l'activité amylolytique est déterminée en utilisant le milieu additionné de 1% d'amidon soluble. Après incubation, les colonies sont inondées avec une solution de lugol. L'hydrolyse est ainsi mise en évidence par apparition d'une zone claire ou brune autour de la colonie. À l'inverse, les zones contenant de l'amidon se colorent en bleu

## **2-6-Activité lipolytique**

### **2-6-1 Activité lipolytique effective**

La recherche des lipases est effectuée par le test d'hydrolyse de la tributyrine. Cette activité est recherchée sur milieu contenant 1% de ce substrat (Annexe 8). L'apparition d'halo jaune-orangé indique la présence des lipases extracellulaires

### **2-6-2-Activité esterasique**

La recherche d'estérase est effectuée par le test d'hydrolyse sur Tween80. Cette activité est recherchée sur milieu contenant 5% de ce substrat (Annexe 9). Après incubation, les souches estérase (+) sont entourées d'un halo opaque formé suite à la dégradation d'acide gras issus de la lipolyse. Si la dégradation est totale on observe la formation d'un précipité blanchâtre autour des colonies.



Résultats

# Résultats

&

Discussion

# Discussion

## 1- Mise en évidence de l'activité hydrolytique

Après l'incubation, l'apparition d'une zone claire autour des colonies témoigne de l'hydrolyse du substrat testé (figure n°1), Le diamètre de cette zone est lié à la quantité des enzymes extracellulaires produites par les moisissures. Les mesures sont effectuées à partir du deuxième jusqu'au septième jour. L'envahissement de ces milieux par la majorité des moisissures étudiées a limité les mesures à moins d'une semaine d'incubation.

La plupart des souches présentent une croissance optimale et une dégradation totale des substrats utilisées à l'exception d'une seule souche E2s3 qui n'a pas donné de croissance.

Ainsi on a constaté une croissance sur les deux milieux cellulosé et lactosé sans formation d'halo autour des colonies ; de ce fait aucune souche n'a exploité la cellulose (figure n°21 et n° 16) et le lactose (figure n°23 et n°17) comme source énergétique pour produire des enzymes extracellulaires.

## 2- Mise en évidence de l'activité protéolytique

Le choix des milieux de culture est déterminant dans la mise en évidence de l'activité enzymatique et surtout dans le choix de la substance protéique employée comme substrat pour la production des protéases (Clarke et Steel, 1966). Pour cela, on a utilisé trois différents substrats la caséine, l'albumine et la gélatine.

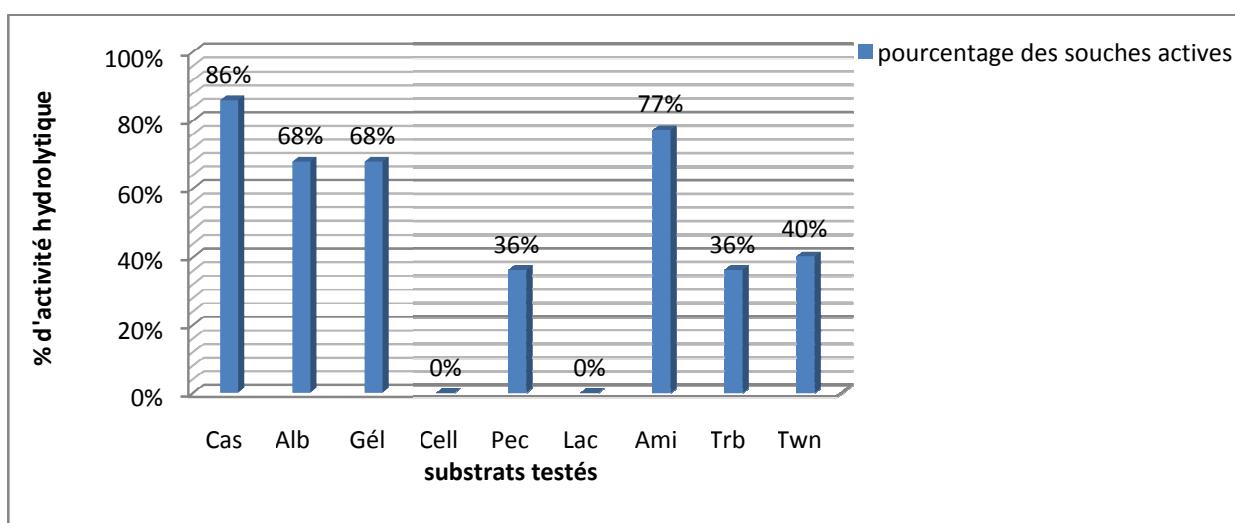
### 2-1- Mise en évidence de l'activité caséolytique

D'après les résultats mentionnés sur le tableau 2, figure n°18, et la figure n°3, 19 (86,36%) isolats parmi les 22 souches testées présentent une activité caséinolytique (figure n°2) dont la plus élevée est celle des souches Vs1 et Vs2, par contre la Gs4 présente la plus faible activité ; tandis que les souches Gs1 et E2s4 n'ont aucun effet sur la caséine. Ces résultats sont en accord avec ceux présentés par Kellil.S (2015) pour la recherche des moisissures coagulant le lait à partir du sol qui se trouve à proximité de laiterie de Boudouaou (Boumerdes) ; où elle a isolé que 24 souches possèdent une activité caséolytique ; Ainsi que le travail de Boucherit (2011) qui montre que 52,17% souches de moisissures isolées à partir de la Sebka de Ain-Ezzmoul (Oum el bouagui) possèdent une activité protéolytique.

**Tableau 2 : Activité hydrolytique des souches testées**

	Cas		Alb		Gél		Cel		Pec		Lac		Ami		Trb		Twn 80	
	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H
Gs1	35	/	35	/	39	/	35	/	21	/	55	/	58	0	14	/	60	62
Gs2	48	90	27	/	26	40	25	/	24	26	29	/	27	32	10	/	38	40
Gs3	30	90	20	90	28	30	26	/	26	28	27	/	27	37	8	10	45	/
Gs4	36	48	20	90	25	38	24	/	28	31	32	/	40	54	12	14	27	/
Gs5	30	90	29	68	30	39	22	/	23	/	28	/	25	35	13	/	40	/
Gs6	27	90	18	90	25	38	29	/	23	/	22	/	40	52	12	14	30	/
Gs8	34	90	42	90	38	/	38	/	20	/	50	/	30	40	16	18	64	84
Gs9	26	90	31	90	27	45	15	/	45	/	31	/	24	42	8	/	23	28
Gs10	57	90	12	90	38	/	21	/	25	/	45	/	76	78	15	/	35	/
Gs11	24	90	46	48	20	40	29	/	22	24	22	/	45	0	13	15	35	36
Gs12	12	90	11	90	24	40	12	/	11	/	30	/	10	0	7	/	10	/
Gs14	29	90	30	/	25	40	30	/	30	31	35	/	44	60	8	/	37	/
Gs16	30	90	17	/	28	40	20	/	23	26	22	/	33	90	16	18	17	/
Gs17	30	90	15	/	19	/	13	/	8	/	15	/	18	25	8	10	24	/
E1s3	30	90	27	/	17	/	10	/	11	/	25	/	19	90	9	/	15	/
E1s1	29	90	37	40	26	36	23	/	26	28	30	/	37	90	10	12	22	25
E2s4	28	/	30	34	28	39	8	/	29	31	32	/	47	57	9	/	32	38
Es25	25	90	26	90	30	32	26	/	30	/	30	/	38	55	6	/	23	30
E2s3	7	/	15	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0	/	/	/	/
E 2s6	22	90	11	90	/	/	/	/	21	/	30	/	15	0	10	/	14	16
Vs1	8	90	7	90	6	90	5	/	*	*	7	/	9	90	7	/	*	*
Vs2	8	90	9	90	7	90	7	/	*	*	8	/	6	90	8	/	*	*

\* : Envahissement du milieu. / : Absence de la zone d'hydrolyse



**Figure 1 : Effectifs des souches productrices d'enzyme hydrolytiques**

## 2-2- Mise en évidence de l'activité albuminolytique

Pour l'hydrolyse de l'albumine (tableau n°2 ; figure 5), on constate que 15 sur 22 sont albumino- positifs. Il est notable que la souche Vs1 est la plus active suivi par la souche Vs2 (figure n°4, figure n°20), le reste ont une très bonne activité sauf la souche Gs11 ; tandis que Gs1, Gs2, Gs14, G16, Gs17 et E1s3 n'ont donné aucune activité sur ce substrat. Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Guendouz.F et Belibel.S (2014) qui n'ont obtenu que 4 souches albuminolytiques sur les 15 moisissures isolées à partir de milieux arides (Sebkha d' Ain azzmoul-Ain mlila).

## 2-3-Mise en évidence de l'activité gélatinolytique

A l'exception de Gs1, Gs10, Gs17, E1s3 et E2s6, toutes les souches ont dégradés la gélatine 68% (tableau n° 2 ; figure n°7) dont les souches Vs1 et Vs2 qui ont l'activité la plus élevés, alors que les souches Es25 et Gs3 ont la plus faible activité (figure n° 6, figure n°19) ; correspondant aux résultats de Bensmail.S 2012, qui a montré la capacité de la souche *Aspergillus niger* à dégrader la gélatine et ceux de Cordova.L(1998), qui a obtenu 44 souches de moisissures gélatinolytiques prélevées à partir du sol entourant des usines au Mexique.

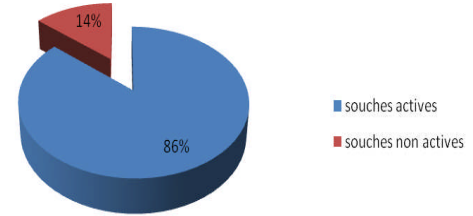
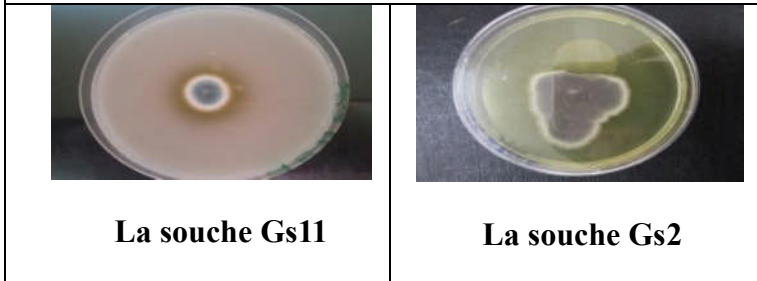
Ces résultats permettent de considérer ces souches comme des moisissures productrices de protéases extracellulaires (Smith et *al.*, 1952 ; Duce et Thomas, 1959).

## 3- Mise en évidence de l'activité glucidique

### 3-1- Mise en évidence de l'activité cellulolytique

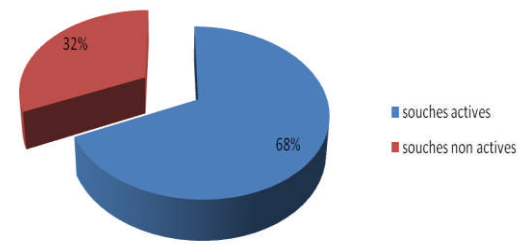
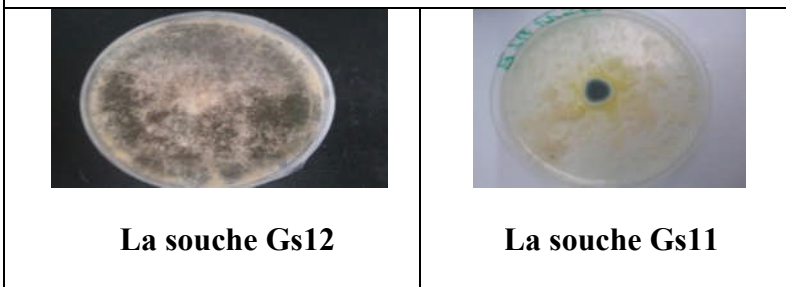
Sur les 22 souches testées aucune n'est capables d'hydrolyser la cellulose (tableau n°2, la figure n°21 et n°16) ce qui s'explique par la difficulté de l'obtention et la quantification des cellulases fongiques (Stephen et *al.*, 2003). Ces résultats correspondent à ceux reportés par Cordova Lopez(1998) qui a effectuée un prélèvement à partir de sol autour des usines mexicaines qui utilisent la noix de coco comme matière première et a obtenu 44 moisissures non cellulolytiques. D'une autre part les résultats décrits ne concordent pas avec ceux obtenus par Leghlimi.H (2013) avec 88 souches fongiques productrices des cellulases isolées à partir de sols environnant de différentes sources thermales.

**Figure 2 : Activité sur la caséine**



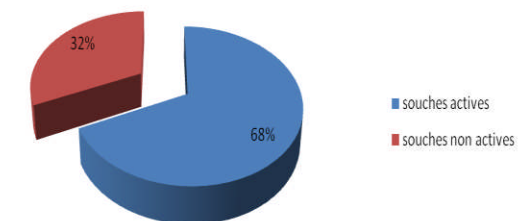
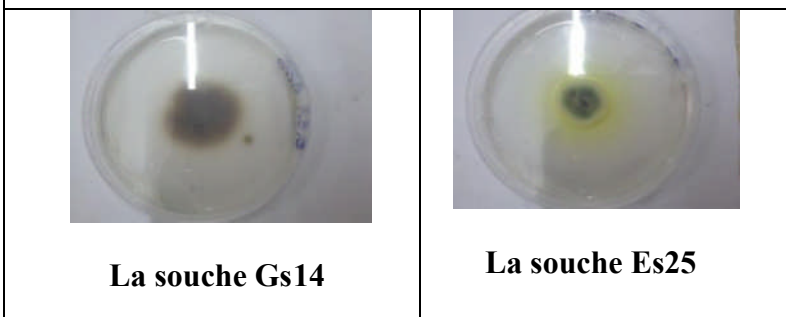
**Figure3 :** les proportions des souches ayant une Activité caséolytique

**Figure 4: Activité sur l'albumine**



**Figure 5:** Les proportions des souches ayant Une activité albuminolytique

**Figure 6 : Activité sur la gélatine**



**Figure 7 :** Les proportions des souches ayant Une activité gélatinolytique

### 3-2- Mise en évidence de l'activité pectinolytique

Les résultats de l'utilisation de la pectine par les souches mycéliennes figurent dans le (tableau N°2, et la figure n°9). Huit souches (36,36%) possèdent une activité pectinolytique dont les souches Gs16 et Gs4 qui sont les plus actives (figure n°22 et n° 8), suivie par le reste dont la plus faible est celle de la souche Gs14 contrairement aux souches Gs1, Gs5, Gs6, Gs8, Gs9, Gs10, Gs11, Gs17, E1s3, Vs1 et Vs2 qui n'ont pas pu dégrader ce substrat. Ce qui ne correspond pas avec les résultats de Bekhouche (2006) qui a trouvé (55,6%) des moisissures isolées à partir des olives vertes conservés dans l'eau salés sont pectinolytiques. Ainsi que le résultat obtenu par Fenghour.H (2002) qui a montré que 22 souches de champignons sont pectinolytiques isolés d'un sol de la région d'El Kala. Alors qu'ils ne ressemblent pas aux résultats de Boumendjel.A (2009) qui a trouvé une souche d'*Aspergillus sp*, du sol de la région d'Annaba, qui secrète des pectinases et même des amylases.

### 3-3- Mise en évidence de l'activité amylolytique

A partir du Tableau n°2, et la figure n°11, on remarque que 17 souches sur 22 (77%) présentent une activité amylolytique sur le milieu à base d'amidon dont les souches Vs2 et Vs1 qui sont les plus actives, par contre c'est la Gs10 qui a la plus faible et c'est Gs1, Gs11 et Gs12 qui n'ont aucune activité amylolytique (figures n°24 et n°10). Ces résultats ressemblent à ceux présentés par Zoubiri.L (2012) qui a montré la production des amylases par 22 souches des moisissures isolées à partir de deux échantillons d'orge. Ainsi que les travaux de Cordova.L(1998) qui démontrent la production des  $\alpha$ -amylases par 44 moisissures provenant du sol. Et celles de Boumendjel.A (2009) qui prouvé l'activité amylolytique d'une souche *Aspergillus sp* provenant d'un sol à la région d'Annaba.

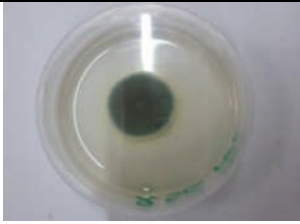
### 3-4 Mise en évidence de l'activité lactosique

Parmi les 22 souches testées pour la production de la  $\beta$ -galactosidase, aucune n'est révélée positive pour ce test (figure n°11).

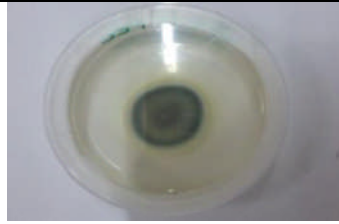
### 4- Mise en évidence de l'activité lipolytique

La majorité des lipases microbiennes sont extracellulaires, ce qui facilite leur récupération (Aires-barros et al., 1994) Les résultats ont révélé que d'une part 36 % des moisissures étudiées ont une activité lipasique (tableau n°2 ; figure n°13 et n°25).

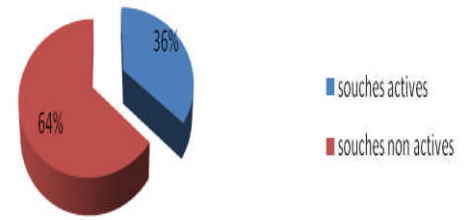
**Figure 8 : Activité sur la pectine**



**La souche Gs1**

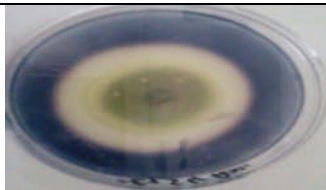


**La souche Gs2**



**Figure 9 : Les proportions des souches ayant Une activité pectinolytique**

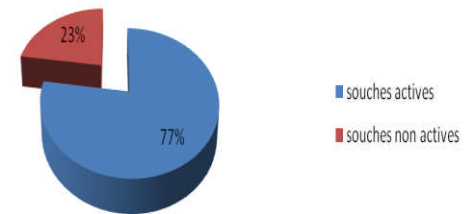
**Figure 10 : Activité sur l'amidon**



**La souche Gs4**

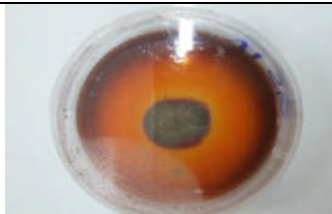


**La souche Vs1**

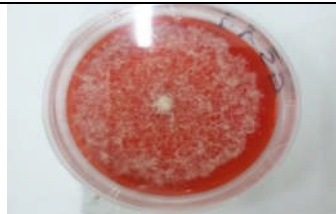


**Figure11 : Les proportions des souches ayant Une activité amylolytique**

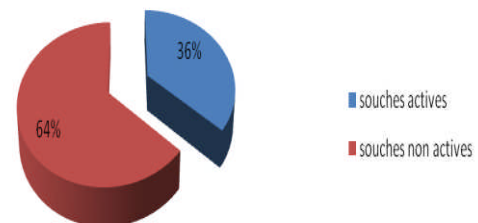
**Figure 12: Activité sur la Tributyrine**



**La souche Gs11**



**La souche Gs12**



**Figure13 : Les proportions des souches qui Ont dégradés la Tributyrine**

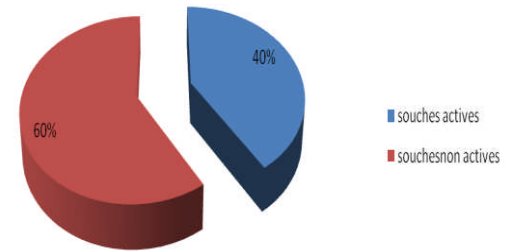
**Figure 14 : Activité sur le Tween80**



**La souche E2s4**

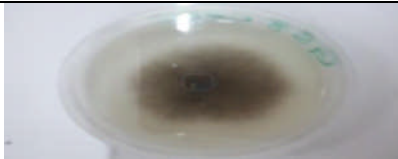


**La souche E1s1**

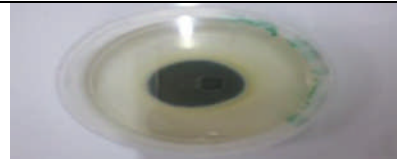


**Figure 15 : Les proportions des souches qui ont dégradés le Tween 80**

**Figure 16 : Activité sur cellulose**

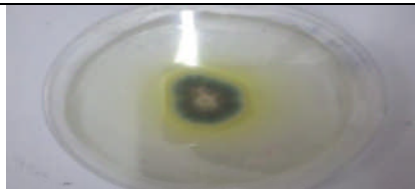


**La souche Gs8**



**La souche E1s1**

**Figure 17 : Activité sur lactose**

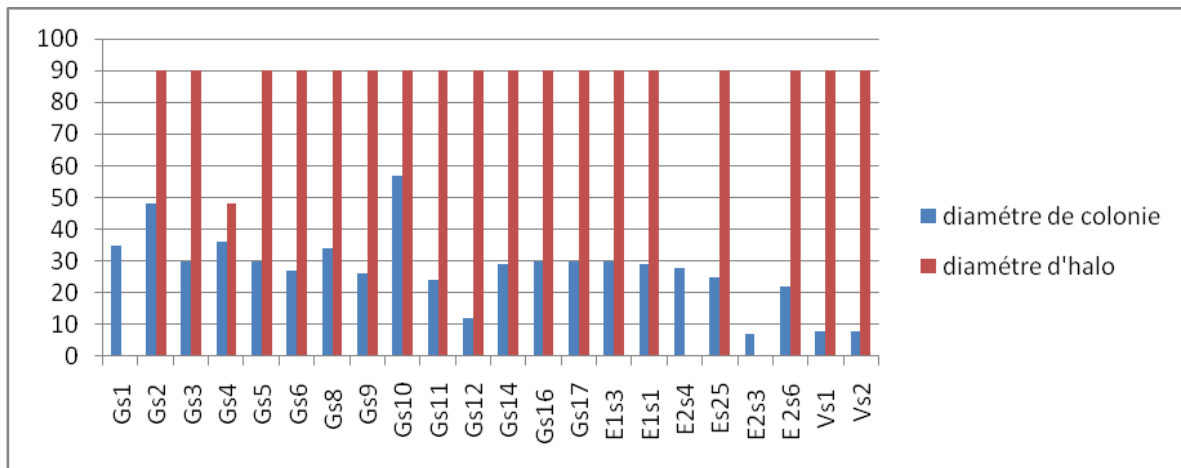


**La souche Gs4**

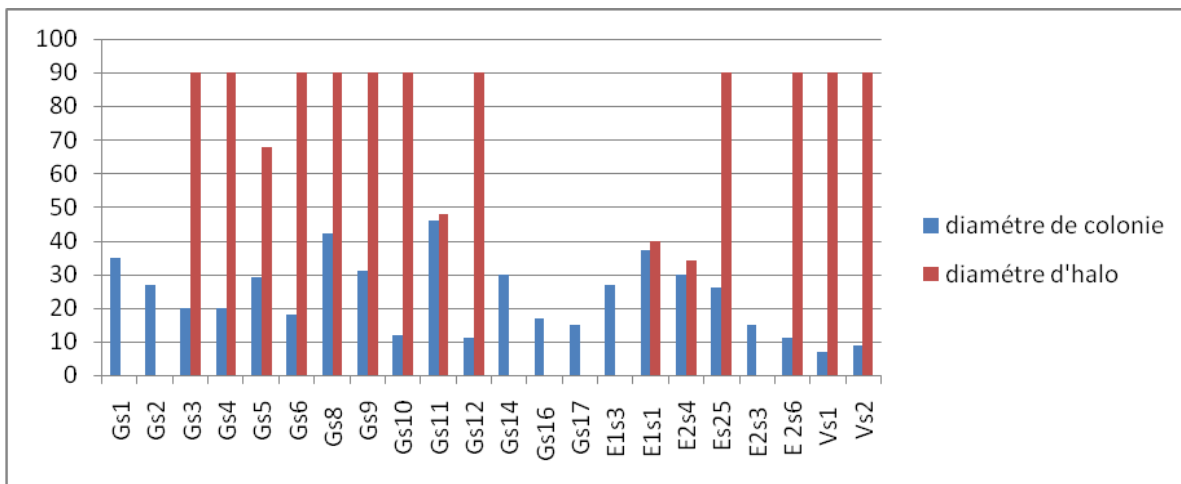


**La souche Gs8**

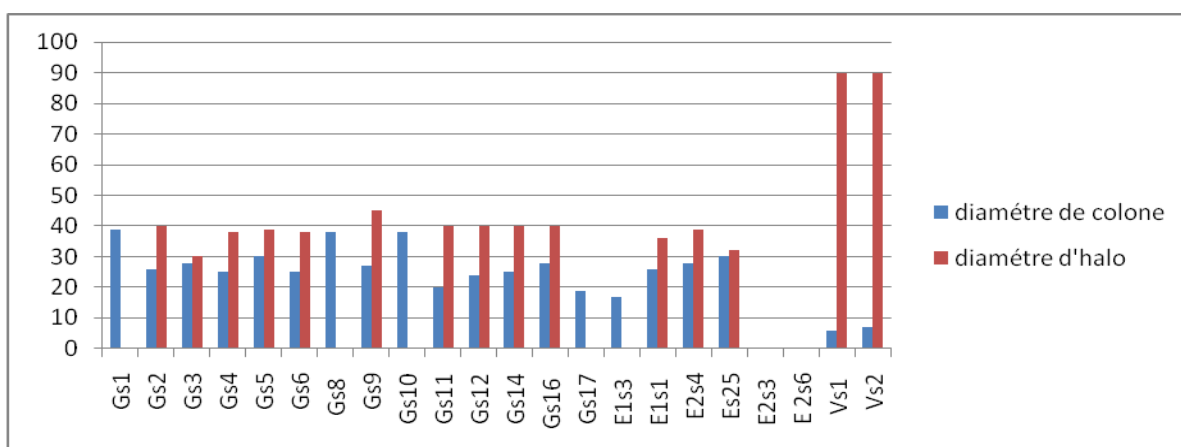




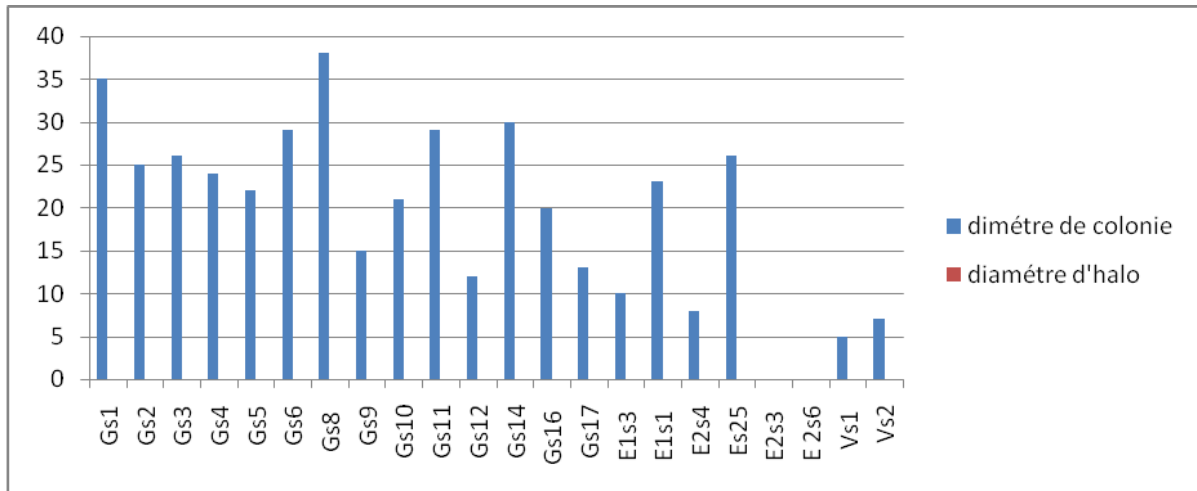
**Figure 18 :** Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu caséine



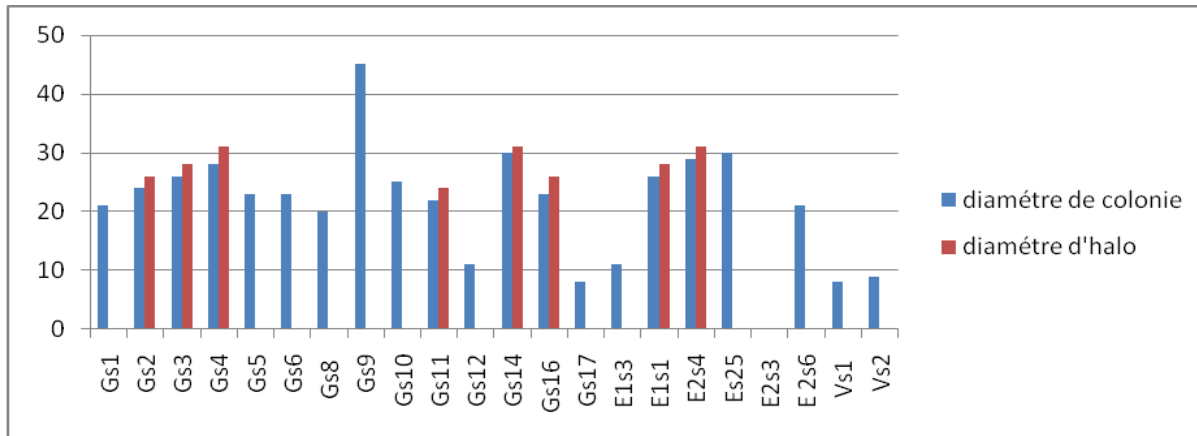
**Figure 19 :** Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu d'albumine



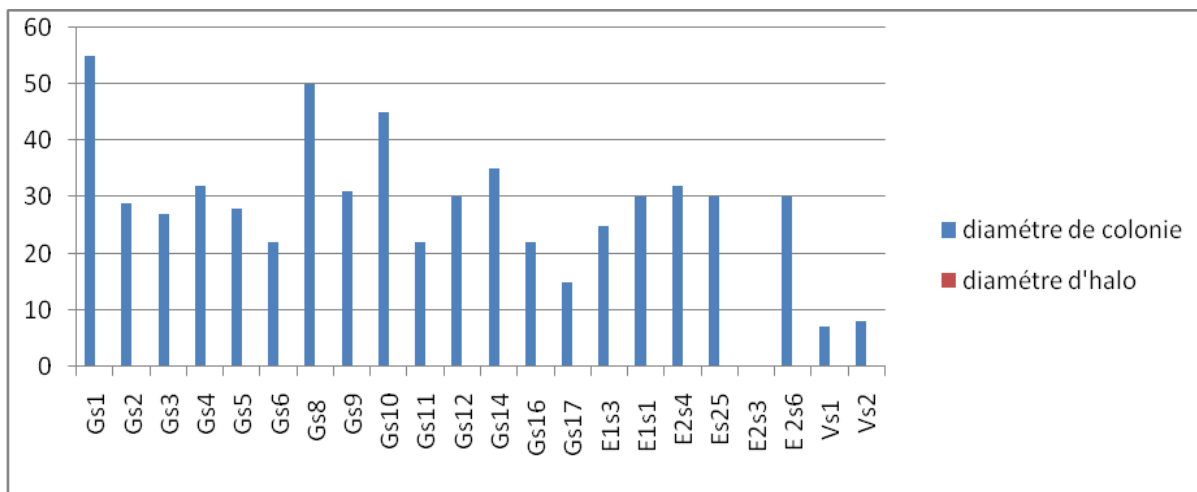
**Figure 20 :** Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu de gélatine



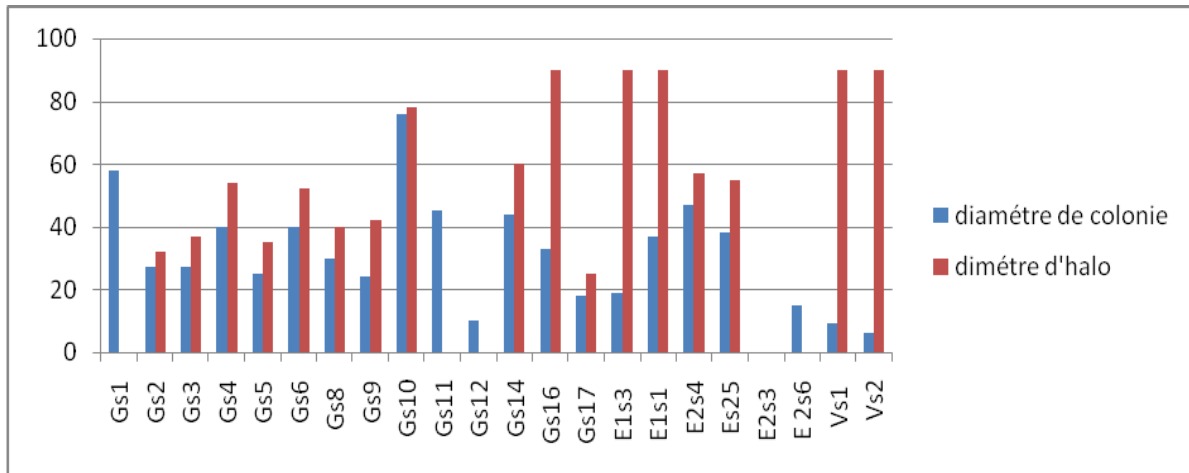
**Figure 21 :** Les diamètres des zones de croissance et d’hydrolyse sur milieu de Cellulose



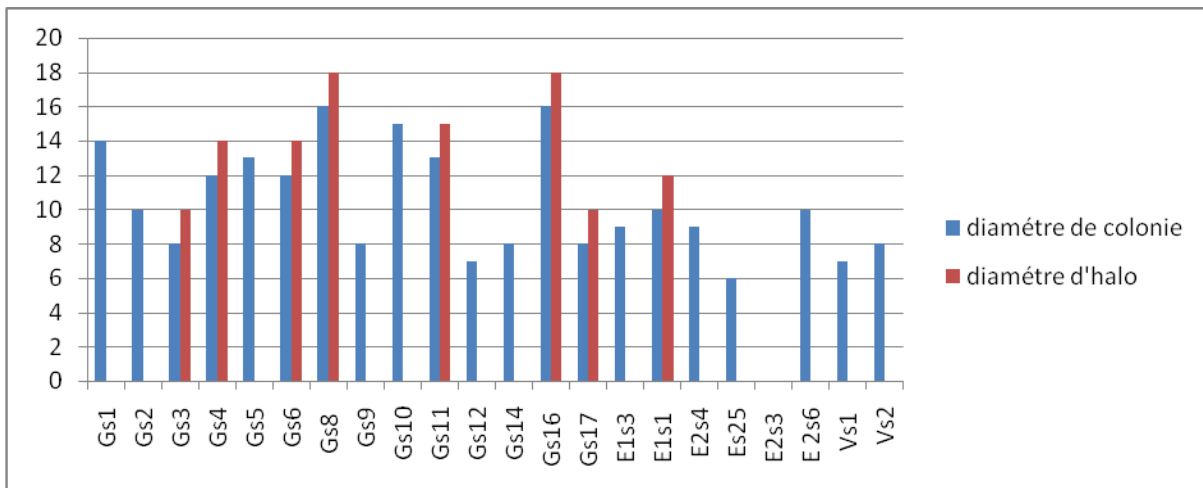
**Figure 22:** Les diamètres des zones de croissance et d’hydrolyse sur milieu de pectine



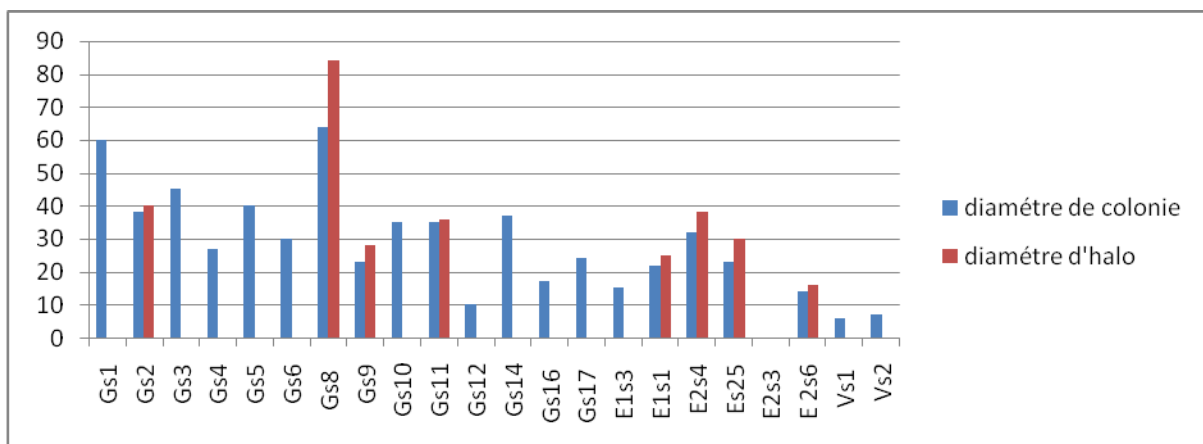
**Figure 23 :** Les diamètres des zones de croissance et d’hydrolyse sur milieu de lactose



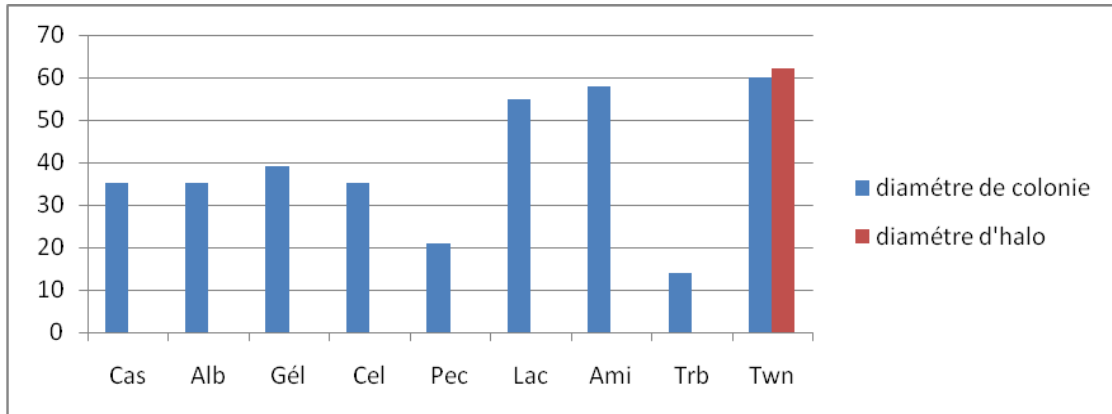
**Figure 24 :** Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu d'amidon



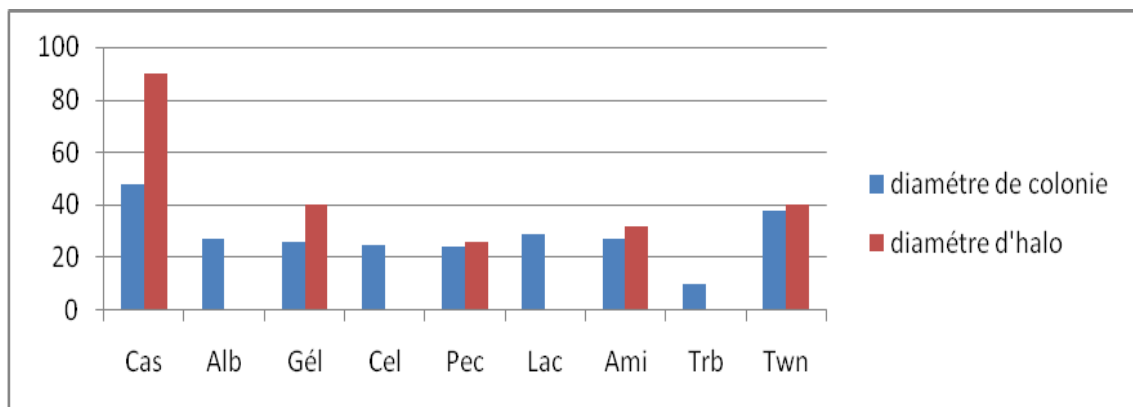
**Figure 25:** Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu de Tributyrine



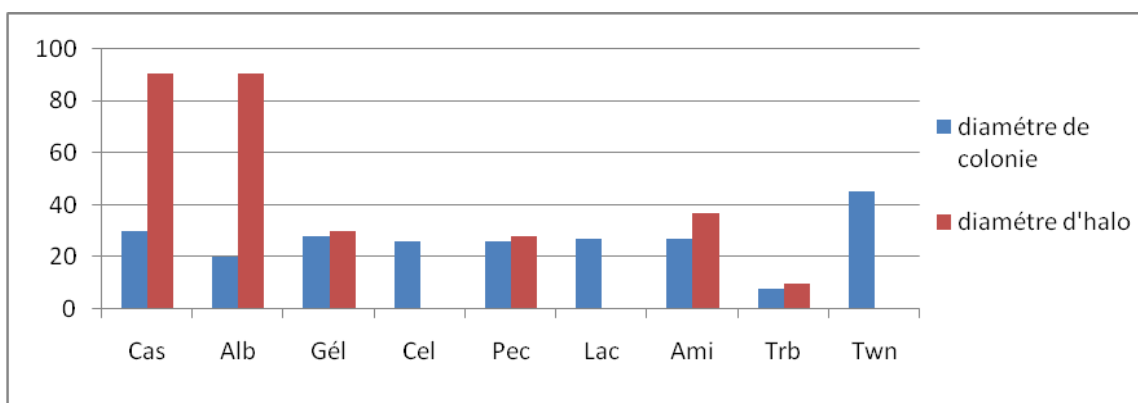
**Figure 26:** Les diamètres des zones de croissance et d'hydrolyse sur milieu de Tween 80



**Figure 27 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs1



**Figure 28 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs2



**Figure 29 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs3

D'autre Part, 40% présentent ont une activité estérasique (figure n°15 et n°26) dont les Gs8 et E2s6 les plus actives, la Gs11 la moins active pour les deux enzymes (figure n°14).

Ces résultats concordent avec ceux présentés par Cordova. L (1998) qui a isolé 44 souches lipolytiques de champignons filamenteux prélevés autour des huileries mexicaines.

## **5-Potentiel hydrolytique des souches**

### **5-1 Souches dégradantes tout les substrats**

La souche E1s1 est la plus remarquable car elle a pu hydrolyser tout les substrats test, les activités caséolytique et l'amylolytique sont les plus élevées suivi par l'activité lipasique puis estérasique et enfin les plus faibles la pectinolytique et l'albuminolytique (figure n°41).

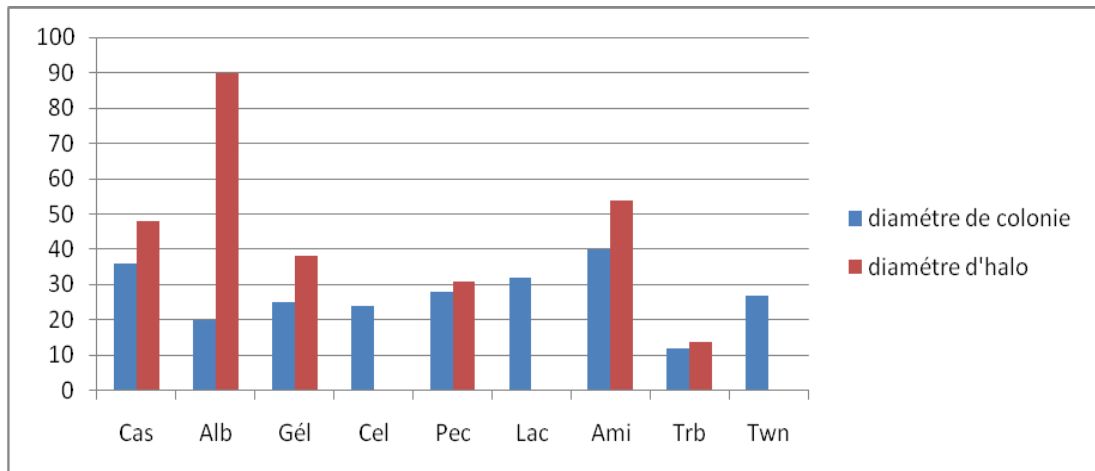
### **5-2- Souches dégradantes six substrats**

Les figures n°29 et n° 30 montrent que les souches Gs3, Gs4 ont une activité protéolytique remarquable sur les trois substrats dont la dégradation de l'albumine est la plus élevée suivi par la caséine et enfin la gélatine. Elles ont pu aussi hydrolyser deux substrats glucidiques la pectine et l'amidon ; pour les lipides elles n'ont dégradé que la tributyrine. Ces résultats ont permis de considérer ces souches comme protéolytiques, amylolytiques, pectinolytiques, et lipolytiques.

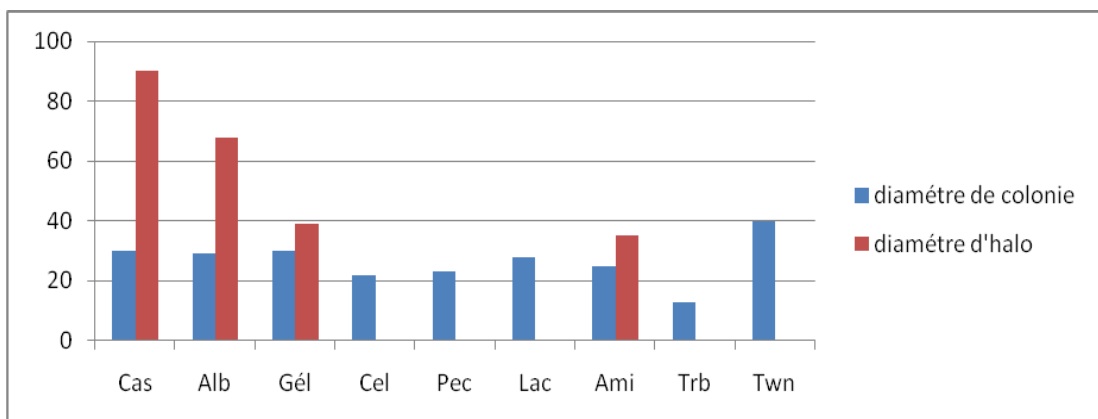
### **5-3- Souches dégradantes cinq substrats**

Les souches Gs2 et Gs16 ont pu dégrader différents substrats (figure n°28, figure n°32) y compris les substrats protéiques qui ont la grande partie notamment la caséine suivi de la gélatine mais sans l'albumine ; en plus d'une modeste dégradation de la pectine et de l'amidon. Pour les milieux à base lipidique la Gs2 a dégradé le tween 80 seulement sans la tributyrine tandis que la Gs16 a dégradé la tributyrine sans le Tween80. Ce qui qualifie les souches de caséinolytiques, gélatinolytiques, pectinolytiques, amylolytiques. En rajoutant estérasiques pour la Gs2 et lipolytique pour la Gs16. Pour l'activité lipasique il est à noter que la tributyrine est l'unique composé dégradé par la souche Gs6 seulement.

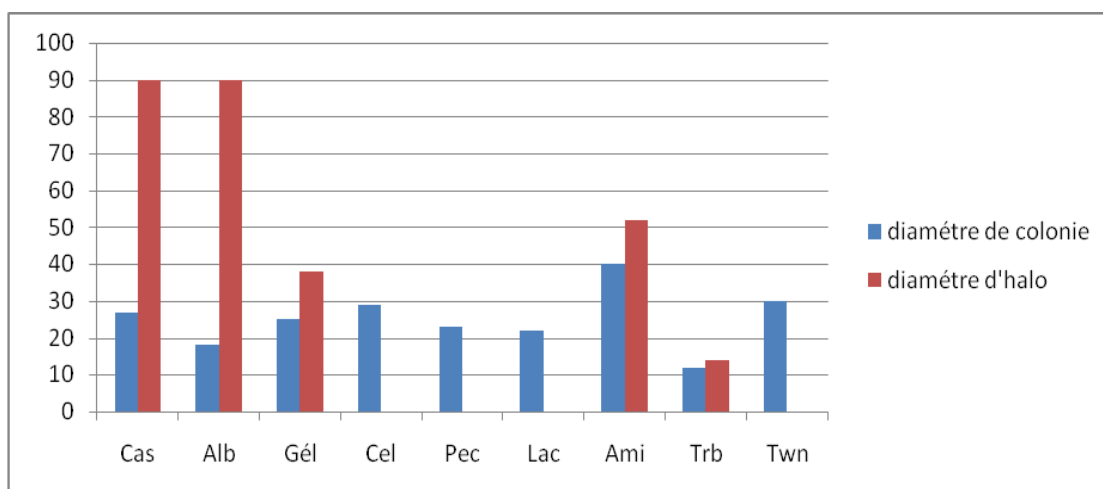
Les résultats montrés dans les figures n°34 et n°44 révèlent que les souches Gs9 et E2s5 ont dégradé tout les substrats protéiques, suivi de l'amidon et du tween 80, ce qui a permis de les considérer comme protéolytiques, amylolytiques et estérasiques.



**Figure 30 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs4



**Figure 31 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs5



**Figure 32 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs6

D'après la figure n°36 la Gs11 possède des activités protéolytique (Caseino puis par la gélatine et enfin albuminolytique), lipolytique et enfin estérasique considérables à coté d'une faible activité pectinolytique. D'autre part aucune activité amylolytique n'a été observée.

Selon les résultats reportés sur la figure n°43; la E2s4 n'a pas dégradé la caséine et la tributyrine mais elle a pu hydrolyser la gélatine avec un ratio le plus élevé puis l'albumine suivi par l'amidon et le tween80. ce qui la qualifie de souche gélatinolytique, albuminolytique, amylolytique et estérasique.

D'après la figure n°33 la souche Gs8 a pu hydrolyser la caséine et l'albumine mais elle n'a pas pu dégrader la gélatine et la pectine, tandis qu'elle a dégradé l'amidon ainsi que la tributyrine et le tween 80, ce qui la qualifie d'une souche amylolytique caséinolytique, albuminolytique et estérasique.

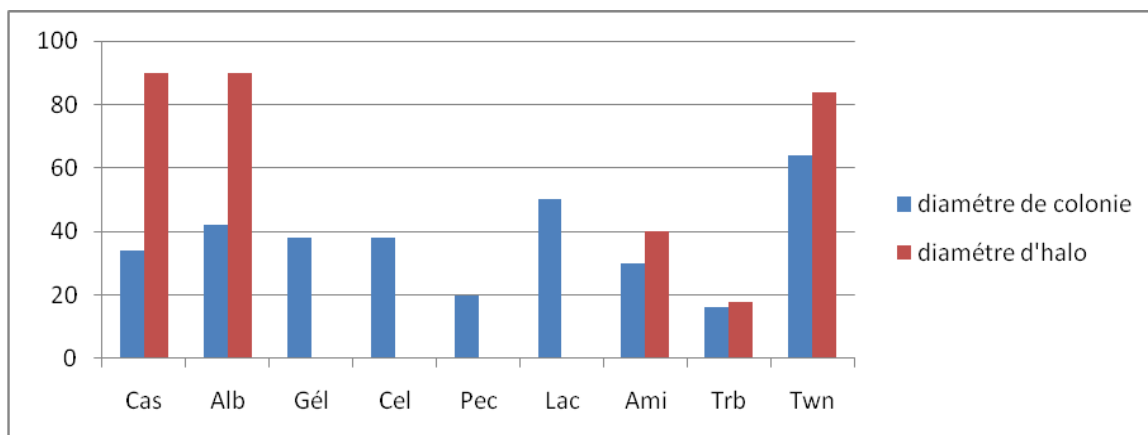
#### **5-4- Souches dégradantes quatre substrats**

L'activité hydrolytique des souches Gs5, Vs1 et Vs2 représenté dans les figures n°31, 32, 47 et 48 respectivement révèle d'un coté la dégradation extracellulaire des trois substrats protéiques et d'autre coté la dégradation d'un seul substrat glucidique, l'amidon. De ce fait on peut considérer ces souches comme étant amylolytiques et protéolytiques.

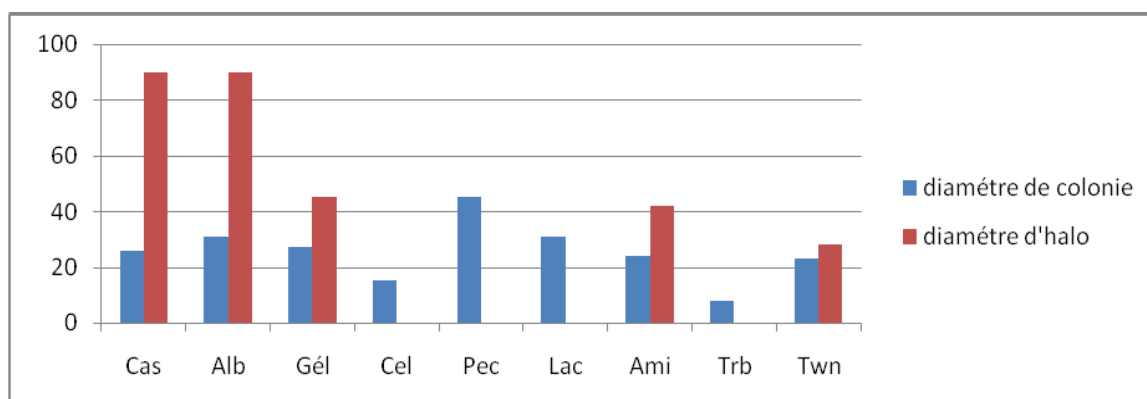
Alors que la souche Gs14 n'a aucune activité lipolytique, tandis qu'elle a dégradé deux composés protéique, la caséine puis la gélatine, et deux composées glucidiques, l'amidon suivi par la pectine. Donc cette souche se comporte autant que caséinolytique, gélatinolytique amylolytique et pectinolytique (figure n°38).

#### **5-5- Souches dégradantes trois substrats**

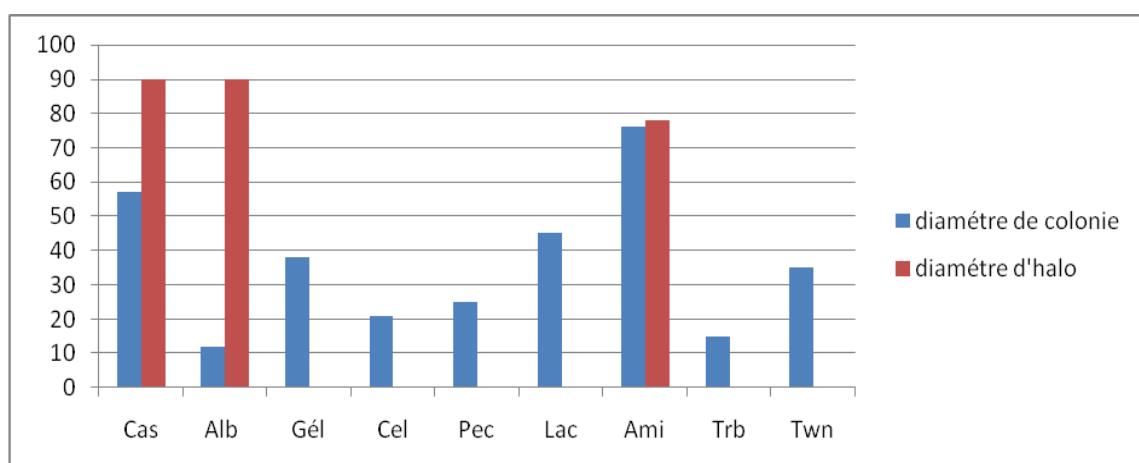
La souche Gs12 est la souche unique possédant seulement une activité protéolytique (figure n°37) en dégradant les trois composés protéiques dont l'activité la plus élevés est celle de l'albumine par la caséine et enfin la gélatine tandis que la Gs10 est albuminolytique, caséinolytique et amylolytique puisque elle a dégradé l'albumine par excellence suivi par la caséine mais elle n'a dégradé ni la gélatine ni les substrats lipidiques et glucidiques à exception d'une faible activité sur l'amidon (figure n° 35) alors que la ( figure n° 33) montre que la



**Figure 33 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs8



**Figure 34 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs9



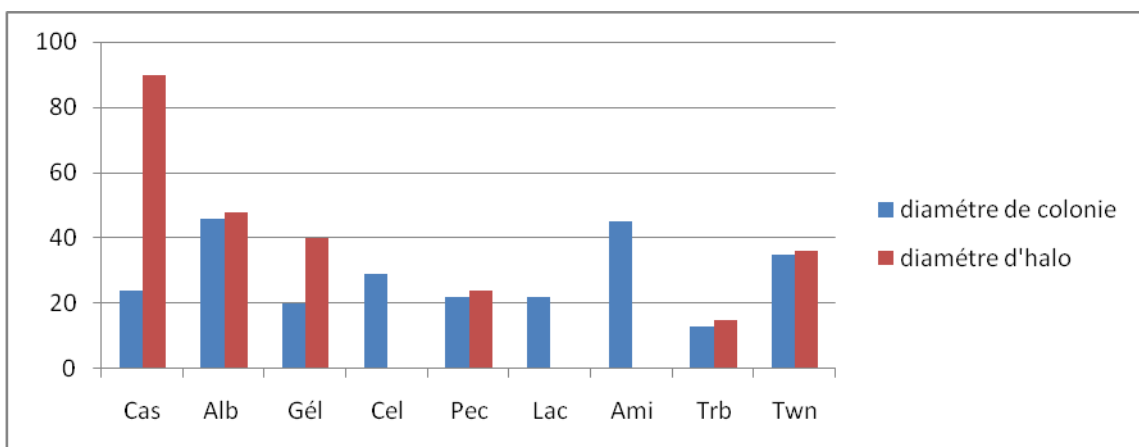
**Figure 35 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs10



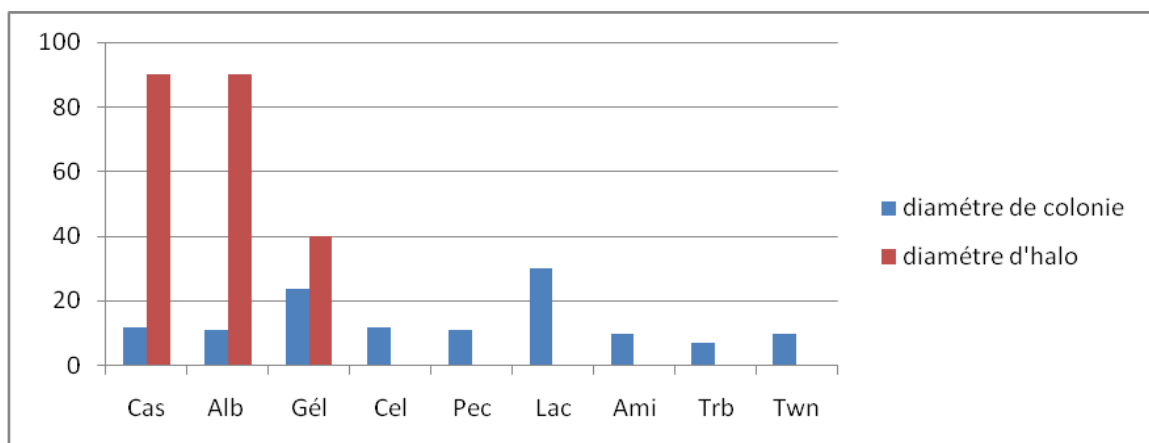
Gs17 possède une activité caséinolytique importante seulement suivi par une activité amylolytique et enfin une activité estérasique. Aucune autre activité n'a été détectée.

#### **5-6- Souches dégradantes moins de trois substrats**

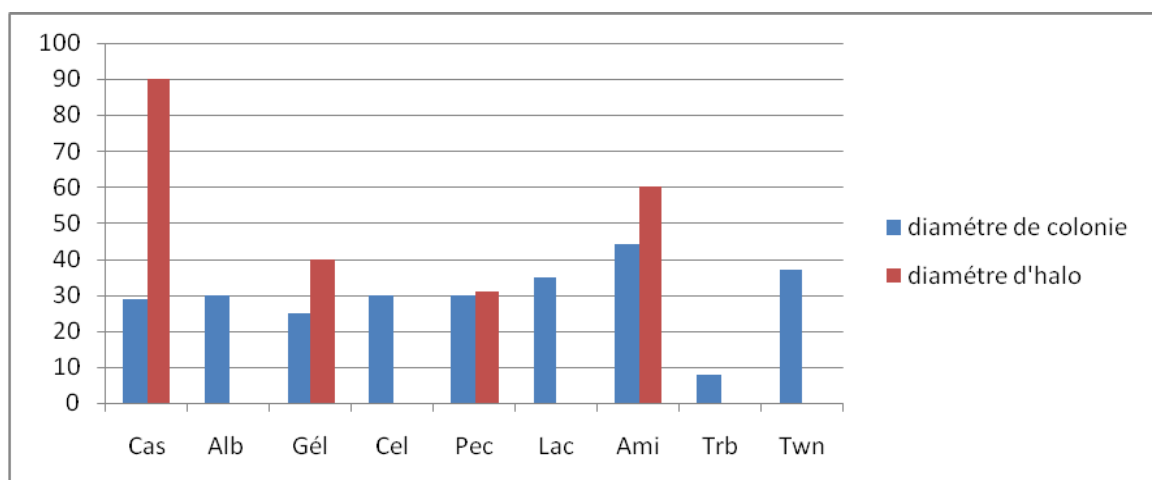
La souche E1s3 possède une capacité importante à dégrader l'amidon et la caséine sans avoir un effet sur le reste des substrats. De ce fait c'est une souche amylolytique et caséinolytique (figure n°41) alors que la souche Gs1 est qualifiée d'estérasique puisque elle n'a pu hydrolyser que le tween 80. (Figure n°27).



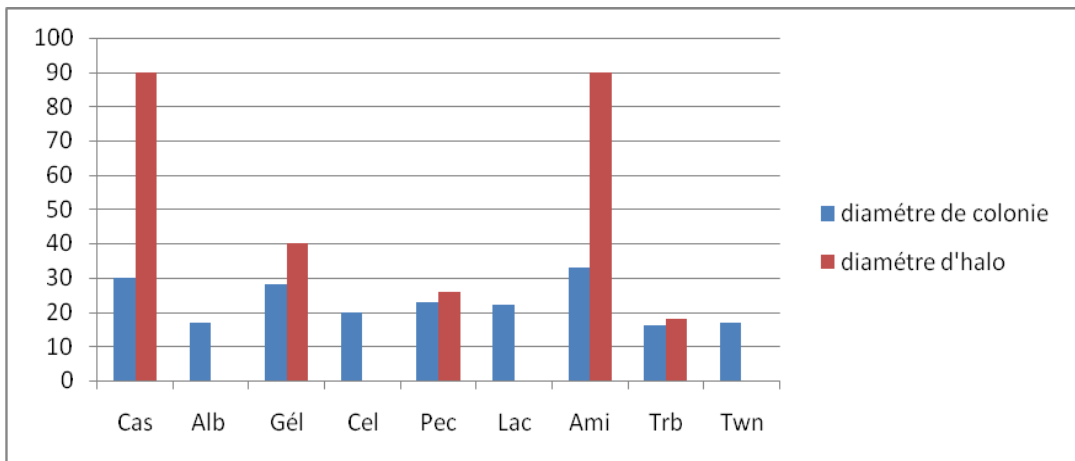
**Figure 36 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs11



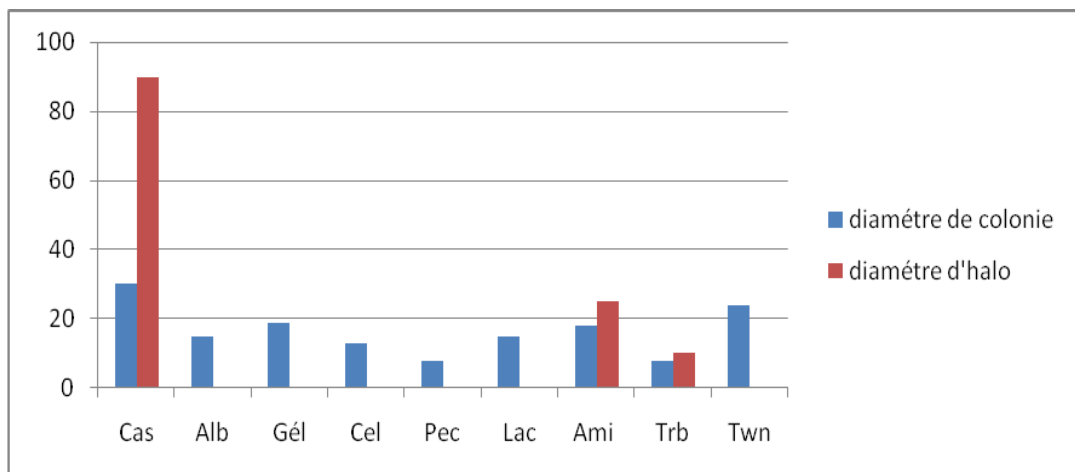
**Figure 37 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs12



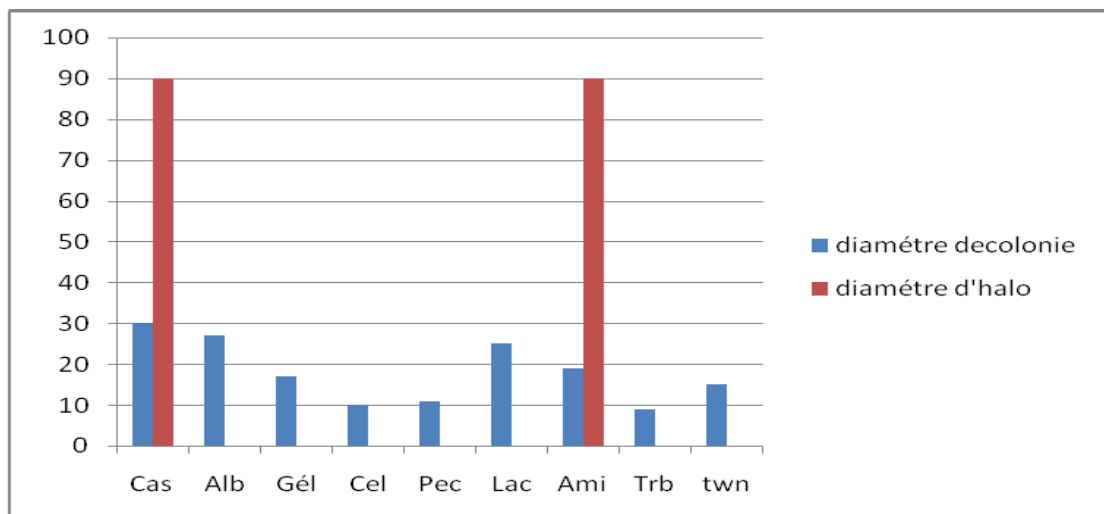
**Figure 38 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs14



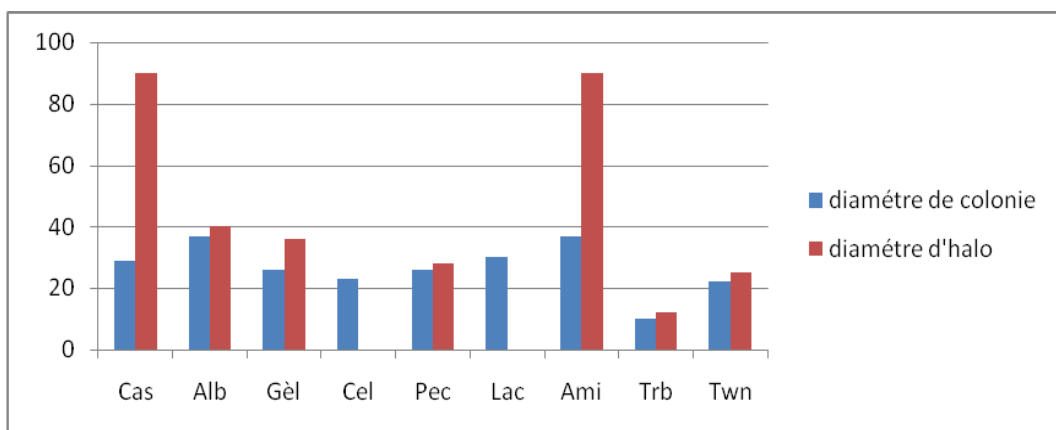
**Figure 39 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs16



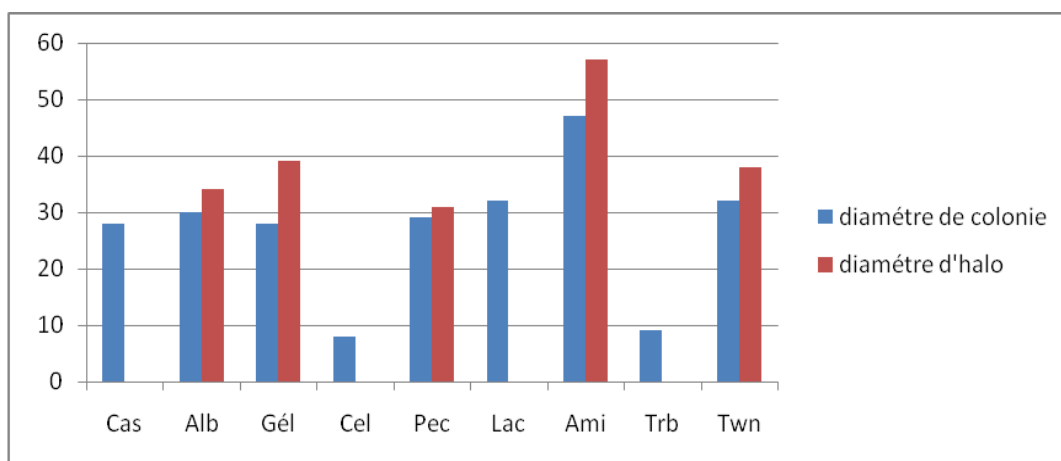
**Figure 40 :** L'activité hydrolytique de la souche Gs17



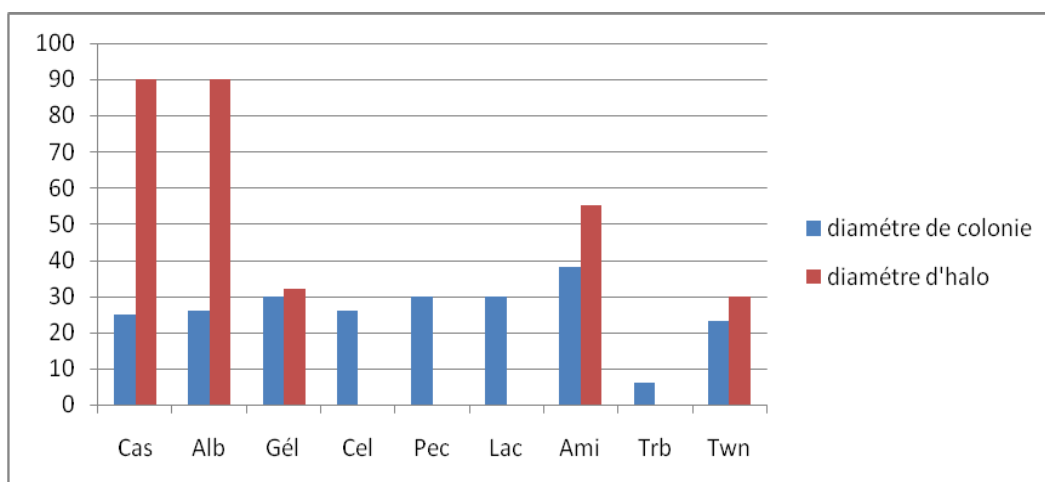
**Figure 41 :** L'activité hydrolytique de la souche E1s3



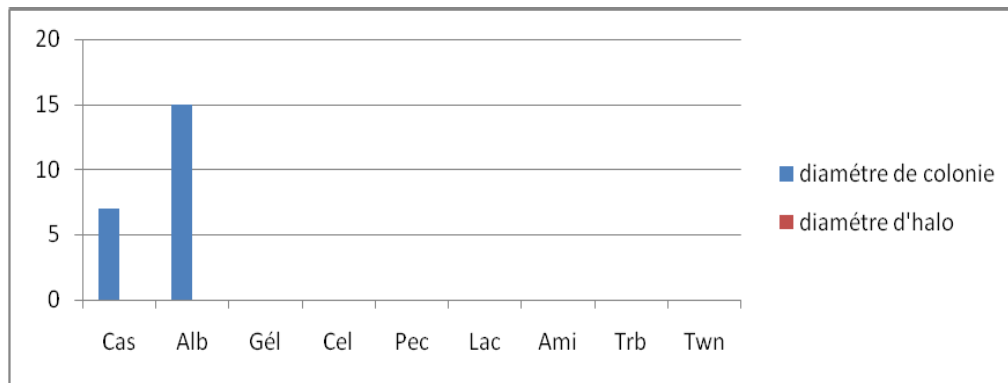
**Figure 42 :** L'activité hydrolytique de la souche E1s1



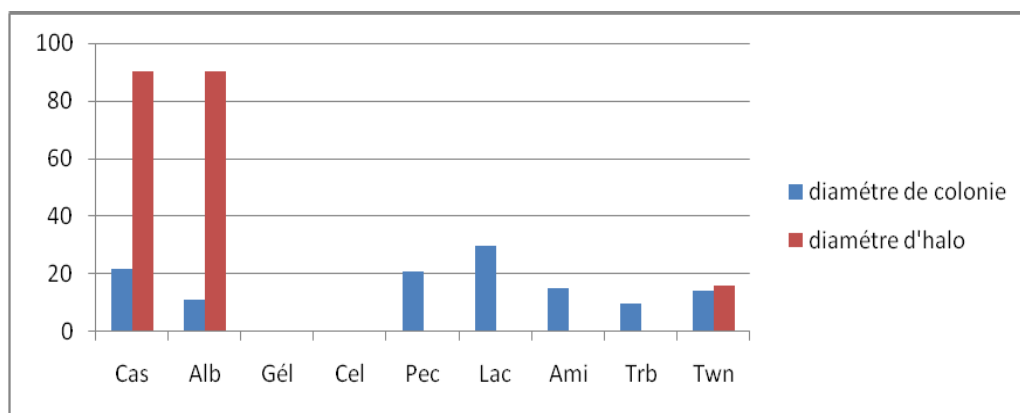
**Figure 43 :** L'activité hydrolytique de la souche E2s4



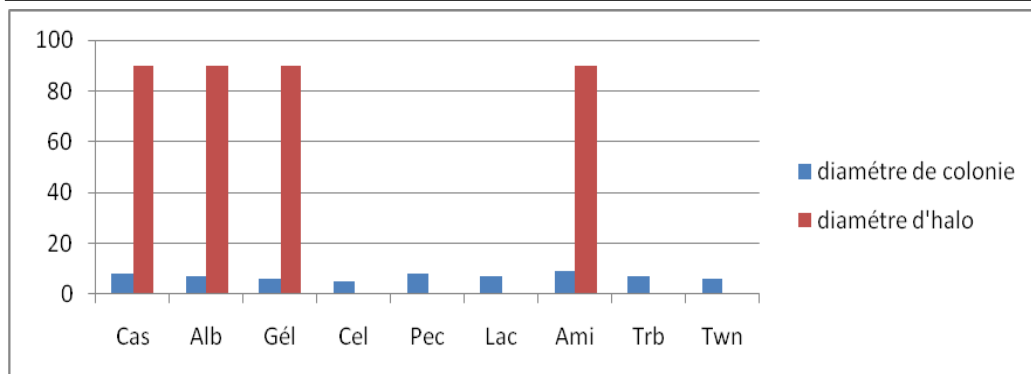
**Figure 44 :** L'activité hydrolytique de la souche Es25



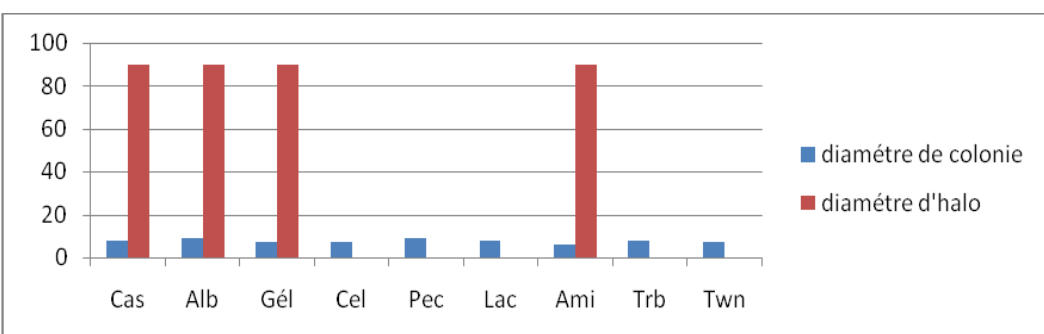
**Figure 45 :** L'activité hydrolytique de la souche E2s3



**Figure 46 :** L'activité hydrolytique de la souche E2s6



**Figure 47 :** L'activité hydrolytique de la souche Vs1



**Figure 48 :** L'activité hydrolytique de la souche Vs2

Conclusion

&

Perspectives

### Conclusion

Dans cette étude, la recherche des activités enzymatiques hydrolytiques extracellulaires a été effectuée sur 22 souches de moisissures appartenant à la collection du Laboratoire de Biologie et Environnement ; Dans ce but, neuf différents substrats sont utilisés: caséine, albumine, gélatine, pectine, cellulose, lactose, amidon, tributyrine et tween 80, pour la détermination des activités protéolytiques, pectinolytiques, cellulolytiques, lactosiques, amylolytiques, lipolytiques et estérasiques respectivement.

Les souches testées ont présenté quatre activités sur les 6 recherchées dont la plus remarquable est l'activité protéolytique avec 19 souches (86%) produisant des caséinases et 15 souches (68%) pour chacune des albuminases et gélatinases. Ainsi ces moisissures ont présenté une activité pectinolytique considérable 36% dont les souches Gs4 et Gs16 présentant la meilleure dégradation. D'autre part 17 souches (77%) possèdent une activité amylolytique comprenant les Vs2, Vs1 et E1s1 qui ont dégradé totalement ce substrat. Tandis que l'activité lipolytique est présentée par 36% qui ont pu dégrader la tributyrine en produisant des lipases alors que 40% ont dégradés le tween80 en produisant des estérases.

Cette contribution à l'étude de la mise en évidence d'activités enzymatiques extracellulaires de souches fongiques a donné des résultats très encourageants qui devront être complétés par les perspectives suivantes.

- Identification génomique et caractérisation des souches actives notamment la souche E1s1 qui a dégradé la majorité des substrats testés.
- Purification et étude des caractéristiques des enzymes pour une future exploitation à l'échelle environnementale et industrielle.
- Extraction et séquençage des gènes codant pour ces enzymes.

# Annexes



**Annexe 1** : Milieu de culture à base de caséine 5%

Caséine	50g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**Annexe 2** : Milieu de culture à base d'albumine 1%

Albumine	50g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**Annexe 3** : Milieu de culture à base de gélatine 5%

Gélatine	50g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**Annexe 4** : Milieu de culture à base de cellulose 3%

Cellulose	3g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**Annexe 5** : Milieu de culture à base de pectine 2%

Pectine	2g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**Annexe 6 :** Milieu de culture à base de lactose 5%

lactose	1g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**Annexe 7 :** Milieu de culture à base d'amidon 1%

Amidon	1g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**Annexe 8 :** Milieu de culture à base de Tributyrine 1%

Tributyrine	1g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**Annexe 9 :** Milieu de culture à base de tween 80 5%

Tween 80	25g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**NB :** Autoclaver à 120°C pendant 20 min

# Références Bibliographiques

## Références Bibliographiques

---

**A. BOUMENDJEL, M. BOUMENDJEL, A. LADJAMA. (2009)** étude des activités pectinase, lyase et  $\alpha$ -amylase dans une souche locale d'*Aspergillus species*. Journal de la Société Algérienne de Chimie 19 :153-7-

**Amoozegar M.A., Malekzadeh F., Malik K.A. (2003).** Production of amylase by newly isolated moderate halophile, *Halobacillus* sp. Strain MA-2. Microbiol Methods. In thèse de : ayad ryma Screening d'activités hydrolytiques extracellulaires chez des microorganismes halophiles aérobies isolés d'environnements hypersalins de l'Est algérien.

**Boiron P. (1996).** Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris. Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**BONNIN, E., RENARD, C.M.J.C., THIBAUT, J.F. et DUCRO, P. (1997)** Les enzymes de dégradation des parois végétales: mode d'action et utilisation alimentaires. Dans : Enzymes en Agro-alimentaire. Larreta-Garde V., Eds. Techniques et Documentations Lavoisier. In thèse de doctorat : bekhouché Farida 2006 Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes.

**Botton B., Breton A., Fever M., Gauthier S., Guy P., Larpent J. P., Reymond P., Sanglier J. J., Vayssier Y et Veau P. 1990.** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle, Masson, 2<sup>ème</sup> édition. Paris.

**Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. (1989).** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris

**Bousseboua.H, 2002.** Eléments de Microbiologie Générale. Programmes de graduation. Editions de l'Université Mentouri. Constantine Algérie,

**Cardova Lopez (1998).** Isolement, identification et physiologie des champignons thermophiles en vue de la production de lipases par fermentation en milieu solide.

**Castegnaro, M. and Pfohl-Leskowicz, A. (2002).** Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc. In thèse de : Cristina tabac 2007 flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L., Brun S., Cimen B., Penn P. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation biologie médicale. Edition Bioforma. Paris. In thèse de : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême (sol proche de sources thermales). Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes. In: Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques

## Références Bibliographiques

---

**Clarke P.H. & Steel K.J. (1966).** Rapide and simple biochemical tests for bacterial identification. Academic press. London. P.111. In : Dendouga wassila ; 2006. Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes.

**Davet P. (1996).** Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. INRA Editions (Rennes, France). In : Mme Talantikite - Kellil Souad 2014 Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie.

**Davet P et Rouxel F., 1997.** Techniques for direct isolation of microorganisms from soil. Collection Techniques et pratiques. INRA Editions (Rennes, France).

**Delgado-Jarana J., Rincon A. M. & Benitez T. (2002).** Aspartyl protease from *Trichoderma harzianum* CECT 2413: cloning and characterization. *Microbiology*. 148: 1305- 1315. In thèse de doctorat : Dendouga Wassila (2006) Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes.

**Djelal H. et Perrot M., 2009.** Utilisation de champignons spécifiques pour la biodégradation d'effluents industriels. L'eau, l'industrie, les nuisances. *Revue Ain* N° 306. Ecole des Métiers de l'Environnement, Bruz Damien Grisard, Aquaprox, filiale du groupe Protex International, pp.85-90. In thèse de magister : Zoubiri Lamia 2012 Production d'alpha amylase par des moisissures cultivées sur milieu à base de rebuts de dattes.

**Ellaiah P., Adinarayana K., Bhavani Y., Padmaja P. et Srinivasulu B., 2002.** Optimization of process parameters for glucoamylase production under solid state fermentation by a newly isolated *Aspergillus* species, *Process Biochem.* (38), pp. 615–620. In thèse de magister : Zoubiri Lamia 2012 Production d'alpha amylase par des moisissures cultivées sur milieu à base de rebuts de dattes.

**Frazier W.C. (1967).** Food microbiology. Academic presse. London. In: dendouga wassila; 2006. Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes.

**Gandini A., Pasquini D. (2012).** The impact of cellulose fibre surface modification on some physicochemical properties of the ensuing papers. *Industrial Crops and Products*. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Ghanem A. (2007).** Trends in lipase-catalyzed asymmetric access to enantiomerically pure/enriched compounds. In thèse d'Amal NAJJAR 2010 : Etude quantitative de la sécrétion de lipase, de la lipolyse et du stockage de lipides chez *Yarrowia lipolytica* lors de sa croissance en présence d'huile d'olive.

**Guiraud J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris.

**H. fenghour, A. Iadjama, Z. taïbi (2002).** Recherche de l'activité pectinolytique chez 22 souches de champignons microscopiques isolées d'un sol de la région d'el kala.

## Références Bibliographiques

---

Département de Biochimie, Institut des Sciences de la Nature, Université Badji-Mokhtar Annaba.

**Hartley B.S., 1960.** Proteolytic Enzymes. Ann Rev. Biochem. In thèse de doctorat : Mme Talantikite - Kellil Souad 2014 Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie

**Hasper A., Dekkers E., Mil M V., Van de Vondervoort P J I., De Graaff L H. (2002).** Egl C, a new endoglucanase from *Aspergillus Niger* with major activity towards xyloglucan. Appl.Environ.Microbiol. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Issac S., Frankland J.C., Watling R., Whalley A.J.S.(1993).** Airworth and Bishys Dictionary of the Fungi (8 Th Ed.). CAB International, Wallingford, United Kingdom. p:616.in thèse de master L.fouzia. ; C.sara 2015.Isolement, identification et activité antibactérienne des moisissures d'un sol forestier à Constantin

**Jeaftet Romain, Thomas Croguennec, Pierre Brule., 2007.** Science Des Aliments : Biochimie, Microbiologie, Procédés, Produits. 2 : 12, 15 Tec & Doc Lavoisier. Londres- Paris- New York. In thèse de doctorat : Mme Talantikite - Kellil Souad 2014 Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie.

**Josefsson P. (2006).** Biochemical modification of wood components. KTH, the royal institute of Technology, Department of Fiber and Polymer technology, Stockholm. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Kader A J., Omar O., Feng L S. (1999).** Isolation of cellulolytic fungi from the barrio Highlands, Sarawak. University of Kebangsaan, Malaysia. Review of Biodiversity and Environmental Conservation. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Kendrick B., 1999.** The Fifth Kingdom. 2nd Edition. Mycologie Publications. [Http://Www.Mycolog.Com/Fifhtoc.Html](http://Www.Mycolog.Com/Fifhtoc.Html). In thèse de doctorat : Mme Talantikite - Kellil Souad 2014 Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie.

**Korish M. (2003).** Production, Purification, Properties and Application of the Cellulase from a Wild type Strain of a Yeast isolate. Faculty of Biology, Johannes Gutenberg- University, Mainz, Germany. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Kosikowski F. V. (1988).** Dairy foods research papers. Enzyme behavior utilization in dairy technology. J. Dairy Sci. 71: 557-573. In thèse de doctorat : Dendouga Wassila (2006) Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes.

## Références Bibliographiques

---

**Larparent-Gourgaud M. & Sanglier J. J. (1992).** Biotechnologies. Principes et méthodes. Doin. Paris. In thèse de doctorat : Dendouga Wassila (2006) Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes.

**LE GOFF, A. (2001).** Influence de la structure fine des pectinases sur le mode d'action d'endopolygalacturonase sauvage et mutant du champignon *Fusarium moniliforme*. Thèse de doctorat d'état. Université de Nantes France. In thèse de doctorat : bekhouché Farida 2006 Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes.

**Lekchiri S., Moueqqit M., Lekchiri A. (2006).** Mise en évidence d'une activité cellulase chez *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* induite par une nouvelle forme d'hydrocellulose purifiée. Faculté des Sciences, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Mohamed Ier, Oujda, Maroc. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême.

**Lenoir J., Auberger B., Gripon J.C., 1979.** Les caractères du système protéolytiques de *P.caseicolum* III, le lait. (503), pp.138-157. In thèse de doctorat : Dendouga Wassila (2006) Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes

**Leveau J Y., Bouix M. (1993).** Les moisissures. In : Florent J. (ed), Microbiologie industrielle. Les microorganismes d'intérêt industriel. Edition Tec et Doc- Lavoisier Apria. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Leyral C., Vierling E., 2001.** Microbiologie et Toxicologie des Aliments, Hygiène Alimentaire, Ed, Dunod, Paris. In : Mme Talantikite - Kellil Souad 2014 Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie.

**Luchese, R.H. and Harrigan W.F. (1993).** Biosynthesis of aflatoxin – the role of nutritional factors, J. Appl. Bacteriol. In thèse de : Cristina tabuc 2007 flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines.

**Lynd L R., Weimer P J., van Zyl W H., Pretorius I S. (2002).** Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. Microbial and Molecular biology Reviews. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême

**M. Marie, Juin 1997.** Les Moisissures : Nature, Biologie Et Contamination ; Marie-France Roquebert professeur ; Muséum national d'histoire naturelle. In : Mme Talantikite - Kellil Souad 2014 Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie.

**Malloch D., 1997.** Moulds: Their Isolation, Cultivation and Identification. Department of Botany, University of Toronto. In: Mme Talantikite - Kellil Souad 2014 Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie.

## Références Bibliographiques

---

**Miller J. D. (2002).** Enzymic hydrolysis of protein by various enzyme preparations. J. Ferment. In thèse de doctorat : Dendouga Wassila (2006) Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes milieux extrêmes.

**Nafees B 2009.** Caractérisation des polycétones synthases intervenant dans la biosynthèse d'ochratoxine a, d'acide pénicillique, d'asperlactone et d'isoasperlactone chez *Aspergillus westerdijkiae*. Thèse de doctorat d'université : Microbiologie et Biocatalyse Industrielles. Toulouse : Institut National Polytechnique. France. 255p. in thèse : sakhri Afaf 2012. Isolement des champignons producteurs de la stérigmatocystine à partir d'aliment (maïs).

**Nakais S. & Modler H. W. (2000).** Processing applications milk. Ameri. J. clinical nutrition. 59: 929-934. In thèse de doctorat : Dendouga Wassila (2006) Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes milieux extrêmes.

**Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T. & Killington R. (2000).** L'essentiel en microbiologie. Berti. Paris. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême.

**Pelmont J. (1995).** Enzymes catalyseurs du monde vivant. Presses Universitaire de Grenoble. Sciences Technologie Médecine, Grenoble. Paris. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Pierre chevalier 2012** L'usage des substances antimicrobiennes en production animale

**Punt P. J., Van Biezen N., Conesa A., Albers A., Mangnus J. & Van den Hondel C. (2002).** Filamentous fungi as cell factories for heterologous protein production. Trends Biotechnol. In thèse de : Cristina tabuc 2007 flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines.

**Rao M. B., Tanksale A. M., Ghatge M.S. & Deshpande V. V. (1998).** Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. Microbiol. Mol. Biology Rev. In : Dendouga wassila ; 2006. Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes.

**Samson R.A., Eckalorolt C. ET Orthe R., 1977.** The taxonomy of *Penicillium* species for fermented cheese Henkel et cie GmbH, dept of microbiology D- 4000 Düsseldorf, pp.341-350. In thèse de magister : Zoubiri Lamia 2012 Production d'alpha amylase par des moisissures cultivées sur milieu à base de rebuts de dattes.**Steyn P.S., (1980).** The biosynthesis of mycotoxins: a study of secondary metabolism, Academic Press, INC. In : Karine joubrane 2011 Evaluation du risque lié aux Champignons Pathogènes producteurs d'Ochratoxine A et d'Aflatoxine B1 au niveau de la production du Blé au Liban. In thèse de : Cristina tabuc 2007 flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines.

**Schwimmer S. ET Balls A.K. 1949.** Isolation and properties of crystalline  $\alpha$ -amylase from germinated barley. Journal of biological chemistry.



## Références Bibliographiques

---

In thèse Céline LEROY Lutte contre les salissures marines : approche par procédés enzymatiques

**Scriban R. (1993).** Biotechnologie. 4<sup>ème</sup> édition. Technique et Documentation – Lavoisier, Paris. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Scriban R. (1999).** Biotechnologie. 5<sup>eme</sup> édition. Technique et Documentation. Lavoisier. Paris. In thèse de doctorat : Dendouga Wassila (2006) Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes.

**Smith N. R., Gordon R. E. & Clark F.E. (1952).** Aerobic spores-forming bacteria. J. Appl. Bact. 27: 78-99. In thèse de doctorat : Dendouga Wassila (2006) Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes.

**Stephen R., Decker William S., Adney Jennings E., Vzant T B., Himmel M E.(2003).**Automated Filter Paper Assay for Determination of Cellulase Activity. Applied Biochemistry and Biotechnology. 107 (13): 689-704. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**VORAGEN, A.G.J., PILNIK, W., THIBAUT, J.F., AXELOS, M. and RENARD, C. (1995).** Pectins. In: Food Polysaccharides and their Applications. Eds. A.M. Stephen Marcel Dekker Inc. In thèse de doctorat : Bekhouche Farida 2006 Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes.

**Xu B. (2002).** Endoglucanase and Mannanase from Blue Mussel, *Mytilus edulis*: Purification, Characterization, Gene and Three Dimensional Structure. Thèse de doctorat. Faculty of Science and Technology, Uppsala University, Sweden. In : Hind Leghilmi (2013) Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême .Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.

**Yang, Y. and Lowe, M.E. (2000)** the open lid mediates pancreatic lipase function. J Lipid Res. In thèse d'Amal NAJJAR 2010 : Etude quantitative de la sécrétion de lipase, de la lipolyse et du stockage de lipides chez *Yarrowia lipolytica* lors de sa croissance en présence d'huile d'olive.

### Sites web:

[www.cours-de-biochimie.fr](http://www.cours-de-biochimie.fr)

<http://www.guide-des-aliments.com>

<https://www.researchgate.net>

# Résumé

## **Résumé**

L'objectif de notre travail consiste à la mise en évidence de l'activité hydrolytique extracellulaire des moisissures. Pour cela 22 souches ont été sélectionnées en vue de tester leurs activités enzymatiques en utilisant des milieux de cultures solides préparées à base des substrats cibles.

La majorité des souches ont une activité protéolytique dont 86% ont produit des caséinases et 68% ont produit des albuminases et des gélatinases. Elles sont aussi capables d'hydrolyser la pectine (36%) et l'amidon (77%) contrairement à la cellulose et le lactose qui n'ont pas été dégradés par aucune souche. En ce qui concerne l'activité lipolytique, 36% des moisissures étudiées possèdent une activité lipasique tandis que 40% possèdent une activité estérasique.

## **Mots clés**

Protéase, cellulase, pectinase, lactase, amylase, lipase.

## المخلص

بهدف التعرف و الكشف على بعض النشاطات الإنزيمية تم انتقاء 22 سلالة فطرية. اغلب السلالات المدروسة تمتلك نشاط إنزيمي بروتيني بنسبة إفراز كبيرة للإنزيم المسؤول عن تفكيك بروتين الحليب كازيين 86% و بنسبة 68% لكل من السلالات المفترزة للإنزيمات المسؤولة عن تفكيك بروتين الألبومين و الحيلاتين ونجد أيضا أن هذه السلالات قادرة على تفكيك بعض السكريات المعقدة مثل النشاء 77% و البكتين 36% في حين عجزت عن تفكيك كل من سلولوز و سكر الحليب اللاكتوز , فيما يتعلق بمواد ذو الطبيعة الدسمة 40% من السلالات فككت الدهن ذو السلاسل القصيرة 36% من السلالات تمكنت من تفكيك الدهن ذو السلاسل الطويلة.

## الكلمات المفتاحية

بروتياز، سيلولاز، بيكتيناز، لاكتاز، النشاء، لبياز.

## **Summary**

The objective of this work consists in the detection of extracellular hydrolytic activity of molds. For that 22 strains were selected to test their enzymatic activities using solid culture media prepared with target substrates. .

The majority of strains have a proteolytic activity in which 86% produce caséinases and 68% of strains have produced albuminase and gelatinase. They are also capable to hydrolyzing the pectin (36%) and starch (77%) in contrast to cellulose and lactose which have not been degraded by any strain. Regarding the lipolytic activity, 36% of the studied fungi have a lipase activity while 40% have an esterase one.

## **Keywords**

Protease, cellulase, pectinase, lactase, amylase, lipase.

## MISE EN ÉVIDENCE DE L'ACTIVITÉ HYDROLYTIQUE DES MOISSURES

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie microbienne

L'objectif de notre travail consiste à la mise en évidence de l'activité hydrolytique extracellulaire des moisissures. Pour cela 22 souches ont été sélectionnées en vue de tester leurs activités enzymatiques en utilisant des milieux de cultures solides préparées à base des substrats cibles.

La majorité des souches ont une activité protéolytique dont 86% ont produits des caséinases et 68% ont produit des albuminases et des gélatinases. Elles sont aussi capables d'hydrolyser la pectine (36%) et l'amidon (77%) contrairement à la cellulose et le lactose qui n'ont pas été dégradés par aucune souche. En ce qui concerne l'activité lipolytique, 36% des moisissures étudiées possèdent une activité lipasique tandis que 40% possèdent une activité estérasique.

**Mots clés :** protéase, cellulase, pectinase, lactase, amylase, lipase.

**Laboratoire de recherche :** Microbiologie et environnement

Jury d'évaluation :

**Examineur :** *Mr. HAMIDECHI Md Abdelhafid* (Professeur - UFM Constantine),  
**Président du jury :** *Mr. BENHIZIA Yacine* (Professeur - UFM Constantine),  
**Rapporteur :** *Mme ZEHIOUA-BOUCHERIT Zeyneb*

**Date de soutenance :** 15/06/2016