



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 الاخوة 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 :** Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes

**Intitulé :**

---

# Diversité métabolique et physiologique de quelques souches d'actinomycètes

---

**Présenté et soutenu par :**

**Le : 29/06/2017**

**M<sup>lle</sup> Bouzigha Nardjess**

**M<sup>lle</sup> Bouchiba Samira**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Boudmagh Alaou Eddine

**Rapporteuse :** Meriane Ilhem

**Examineur :** Kitouni Mahmoud

(M.C.A. UFM, Constantine I).

(M. A. UFM, Constantine I).

(PR. UFM ,Constantine I ).

*Année universitaire  
2016- 2017*

# Remerciements

*Avant tous, on remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir aidées à surmonter toutes les difficultés lors de la réalisation de ce modeste travail.*

*On tient en premier lieu à exprimer nos sincères remerciements à notre encadreur **M<sup>lle</sup>Meriane Ilhem**, maître assistante à l'Université des frères Mentouri Constantine I, pour avoir dirigé ce travail, pour son aide, ses précieux conseils, sa compréhension et son soutien moral lors de la réalisation de ce travail.*

*Nos sincères remerciements vont aussi à **Mr Boudmagh A**, professeur à université des frères Mentouri Constantine I, de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury. Qu'il trouve ici toute notre reconnaissance.*

*Nous remercions également Monsieur **Mr Kitouni M**, professeur à université des frères Mentouri Constantine I, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.*

*On adresse nos sincères remerciements à tout les enseignants du département de microbiologie ; ainsi qu'aux ingénieures des laboratoires de zoologie et de microbiologie.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*Aux deux personnes, les plus chers au monde que je ne remercierais jamais assez : leurs aides, encouragements, Soutiens, sacrifices et leur patience pendant toute ma vie*

*À mes chers parents : Houria et Abd el wahab*

*À ma chère soeur : Imen*

*Mes chers frères : Mohammd et Iheb*

*Je remercie également tous mes chers amis et collègues*

*À Mes enseignants qui m'ont éclairée, la route du savoir et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.*

*Nardjess*

# Dédicaces

*Je dédie cet humble travail à :*

*Ma très chère mère Zeuleikha qui a oeuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien tous ses 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. Puisse ALLAH, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*Mon très cher père Omar qui peut être fier de moi, qu'il trouve ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. ALLAH tout puissant te garde et te procure santé, bonheur et longue vie.*

*Mes tendres cousines Khanssa et Babina pour leurs amours et leurs générosité.*

*Ainsi que mes oncles et tantes pour leurs encouragements et toute ma famille*

*Toutes mes amies en particulier Rokia, Imen et Rania*

*Et à tous mes proches.*

***Samira***

# Table des matières

Remerciements .....	i
Dédicaces .....	ii
Liste des abréviations .....	iii
Liste des tableaux.....	iv
Liste des figures .....	v

<i>Introduction</i> .....	1
---------------------------	---

## *Revue Bibliographique*

### *Partie I : Généralités sur les Actinomycètes*

<b>I. Propriétés générales des actinomycètes.....</b>	<b>3</b>
<b>II. Écologie et habitat.....</b>	<b>5</b>
II.1 /Le sol.....	5
II.2/ L'air.....	5
II.3/ Les eaux douces et les eaux marines .....	5
II.4/ Les plantes.....	5

### *Partie II : Matériel et méthodes*

<b>I. Matériel biologique.....</b>	<b>7</b>
<b>II. Méthodes.....</b>	<b>7</b>

#### **1/Étude des caractères enzymatiques**

1.1/Recherche des carboxylases	
1.1.1/Recherche de l'amylase.....	7
1.1.2/Recherche de la cellulase.....	7
1.2/Recherche des protéases	
1.2.1/Recherche d'une caséinase.....	7

1.2.2/Recherche de la gélatinase.....	8
1.3/Recherche des lipases	
1.3.1/Recherche de l'estérase.....	8
1.3.2/Recherche de lécithinase.....	8
1.4/Recherche d'une uréase (urée hydrolase).....	9
1.5/Recherche de la tyrosinase.....	9
1.6/Recherche d'une pectinase.....	9
<b>2/ Étude des caractères physico-chimiques</b>	
2.1/ Croissance à différentes températures .....	9
2.2/ Croissance à différentes pH .....	10
2.3/ Croissance à différentes concentrations de NaCl.....	10
 <i>Partie III : Résultats et discussion</i>	
<b>I. Mise en évidence des activités enzymatiques</b>	
1. Répartition des activités selon la nature du substrat dégradé.....	11
1.1 /Dégradation des sucres	
1.1.1/ Dégradation de l'amidon.....	12
1.1.2/ Dégradation de la cellulose.....	13
1.2 / Dégradation des protéines	
1.2.1 / Dégradation de la caséine.....	13
1.2.2 / Dégradation de la gélatine .....	14
1.3/ Dégradation des lipides	
1.3.1/ Dégradation du tween 80.....	15
1.3.2/ Dégradation de la lécithine.....	16

1.4/ Dégradation d'autres substrats	
1.4.1/ Dégradation de l'urée.....	17
1.4.2/ Dégradation de la L-tyrosine.....	17
1.4.3/ Dégradation de la pectine.....	18
2. Répartition des activités enzymatiques selon le substrat dégradé.....	19
3. Répartition des actinomycètes selon le nombre des enzymes produites.....	20

## **II .Mise en évidence des aptitudes physiologiques**

II.2.1/ Croissance à différentes températures .....	21
II.2.2/ Croissance à différentes pH .....	24
II.2.3/ Croissance à différentes concentrations de NaCl.....	26
II.2.3/ Croissance des souches à 07% de NaCl.....	27
II.2.3/ Croissance des souches à 10% de NaCl.....	27
II.2.3/ Croissance des souches à 12% de NaCl.....	28
II.2.3/ Croissance des souches à 15% de NaCl.....	28

**Conclusion et perspectives.....31**

**Références bibliographiques.....33**

**Annexe**

**Résumés**

# La liste des tableaux



<b>Tableau 1</b> : Répartition des Actinomycètes dans la nature (Goodflow, 1983) .....	5
<b>Tableau 2</b> : Résultats des activités enzymatique des 35 souches étudiées.....	11
<b>Tableau 3</b> : Les résultats de la croissance des 35 souches étudiées à différentes températures.....	21
<b>Tableau 4</b> : Les résultats de la croissance des 35 souches étudiées à différents pH .....	24
<b>Tableau 5</b> : Les résultats de la croissance des 35 souches étudiées à différentes concentrations en NaCl.....	26

# Introduction

L'étude des caractéristiques phénotypiques constitue la première étape de description, d'identification et de classification des bactéries notamment les actinomycètes.

Elle comprend des méthodes morphologiques, métaboliques/biochimiques, physiologiques et chimio-taxonomiques qui étaient et restent les plus utilisées de nos jours.

Les méthodes métaboliques ou biochimiques incluent principalement le profil d'hydrolyse des sucres( l'arabinose , le fructose , le galactose , la cellulose, l'amidon , le raffinose , le lactose, le saccharose...etc ) (Pridham et Gottlieb, 1948 ; Shirling et Gottlieb, 1966 ; Williams et Cross , 1971), l'hydrolyse des acides aminés (l'alanine, l'arginine, l'histidine, la phénylalanine, la proline, l'asparagine...etc.) (Tsukamura, 1966), la dégradation des tweens 40, 60 et 80 (Sierra, 1957), la dégradation des sels de sodium (sulfate, nitrate, lactate, acétate...etc.) (Gordon *et al.*, 1974)....etc.

Les méthodes physiologiques incluent principalement la croissance à certaines températures, à certains pH, et à certaines concentrations de sel (Tresner, 1968).

Les méthodes chimio-taxonomiques consiste à déterminer d'une part l'isomère de l'acide diaminopimélique (DAP) (LL ou DL) et la présence ou non de la glycine au niveau de la paroi cellulaire et d'autre part la composition cellulaire en sucres et en phospholipides. Ces méthodes ont été rapportées par Becker *et al.* (1964), Lechevalier et Lechevalier (1970) et Staneck et Roberts(1974).

L'étude des caractéristiques physiologiques et métaboliques des actinomycètes se révèle importante, du fait de la capacité de ces bactéries à synthétiser différents métabolites biologiquement actifs tels des enzymes qui sont exploitées dans diverses applications industrielles et biotechnologiques (Yugal Kishore, 2014 ; Narasaiah *et al* ,2015 ; Nazia et Shraddha ; 2016).

Plusieurs recherches ont démontré que ces enzymes ont l'aptitude de fonctionner dans une large gamme de pH, un large intervalle de température et à différentes concentrations en NaCl (Jang and Chang, 2005 ; Hristova *et al* ,2012 ; Adriana *et al.*, 2013).

Dans la même optique, nous avons tracé comme objectif d'étudier la capacité de quelques souches d'actinomycètes à produire quelques enzymes et à croître dans certaines conditions physico-chimiques.

La première partie de ce travail serve à définir les actinomycètes, à traiter leur taxonomie, leur écologie ainsi que leur importance.

La seconde partie (expérimentale) s'occupe de l'étude de l'effet de trois paramètres physico-chimiques (température, pH et NaCl) sur la croissance des souches d'actinomycètes étudiées ; ainsi que leur aptitude à produire divers enzymes à intérêt industriel.

La troisième partie consiste à discuter et comparer les résultats obtenus.

La dernière partie soulignera la conclusion finale et les perspectives de ce travail.

# La liste des figures

---

<b>Figure 1</b> : Photographie représentant le résultat positif de l'activité amylolytique de la souche actinomycétale ID 15.....	12
<b>Figure 2</b> : Photographies représentant le résultat positif de l'activité cellulosique de deux souches actinomycétales ID 11 et ID 30.....	13
<b>Figure 3</b> : Photographies représentant le résultat positif de l'activité caséinolytique de deux souches actinomycétales ID 08 et ID 24.....	14
<b>Figure 4</b> : Photographies représentant le résultat positif de l'activité gélatinolytique de deux souches actinomycétales ID 06 et ID 30.....	14
<b>Figure 5</b> : Photographie représentant le résultat positif de l'activité d'estérase de la souche actinomycétale ID 01.....	15
<b>Figure 6</b> : Photographies représentant le résultat positif de l'activité lécithinolytique de deux souches actinomycétales ID 14 et ID 26.....	16
<b>Figure 7</b> : Photographies représentant le résultat de l'activité uréasique .....	17
<b>Figure 8</b> : Photographie représentant le résultat positif de l'activité tyrosinolytique de la souche actinomycétale ID 04.....	18
<b>Figure 9</b> : Répartition des activités enzymatiques selon la nature du substrat dégradé.....	19
<b>Figure 10</b> : Répartition des actinomycètes selon les enzymes produites.....	20
<b>Figure 11</b> : Histogramme représentant le résultat de la croissance des souches actinomycétales à différentes températures.....	21
<b>Figure 12</b> : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 06, ID 12 et ID 22 à la température 30°C.....	22
<b>Figure 13</b> : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 32 à la température 37°C.....	22
<b>Figure 14</b> : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 17, ID 19 et ID 35 à la température 45°C.....	23

---

<b>Figure 15</b> : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 13, ID 18 et ID 33 à la température 20°C.....	23
<b>Figure 16</b> : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 24 et ID 36 à la température 04°C.....	23
<b>Figure 17</b> : Histogramme représentant le résultat de la croissance des souches étudiées à différents pH.....	24
<b>Figure 18</b> : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 13, ID 21 et ID 28 sur le milieu ISP <sub>2</sub> à pH=07.....	25
<b>Figure 19</b> : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 04, ID 16 et ID 22 sur le milieu ISP <sub>2</sub> à pH=12.....	25
<b>Figure 20</b> : Photographies représentant l'absence de la croissance de la souche actinomycète ID 19 sur le milieu ISP <sub>2</sub> à pH=03.....	26
<b>Figure 21</b> : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 0 et ID 34 sur le milieu ISP <sub>2</sub> à pH=05.....	26
<b>Figure 22</b> : Photographies représentant la croissance des souches nommées ID 22, ID 32 et ID 33 sur le milieu ISP <sub>2</sub> contenant 07% de NaCl.....	27
<b>Figure 23</b> : Photographies représentant la croissance des souches nommées ID 18, ID 19 et ID 22 sur le milieu ISP <sub>2</sub> contenant 10% de NaCl. ....	27
<b>Figure 24</b> : Photographies représentant la croissance des souches nommées ID 05, ID 24 et ID 25 sur le milieu ISP <sub>2</sub> contenant 12% de NaCl.....	28
<b>Figure 25</b> : Photographies représentant la croissance des souches nommées ID 01, ID 02 et ID 34 sur le milieu ISP <sub>2</sub> contenant 15% de NaCl.....	28
<b>Figure 26</b> : Répartition des souches actinomycétales selon la tolérance aux différentes concentrations en NaCl.....	29

Partie I:  
Revue bibliographique



Partie II :

Matériel et méthodes

## **I. Propriétés générales des actinomycètes**

Les Actinomycètes forment un grand groupe de microorganismes procaryotes appartenant à l'ordre des Actinomycétales créée par Buchanan en 1917.

Ils s'agit de bactéries à Gram positif, caractérisées par leur grande teneur en G+C%, allant de 51% chez certaines *Corynebacterium*, à plus de 70% chez les genres *Streptomyces* et *Frankia* (Ventura *et al.*, 2007).

Cultivés sur milieu solide, telle la gélose, un réseau ramifié d'hyphe formé par les actinomycètes se développe à la fois à la surface du substrat et à son intérieur pour former un mycélium végétatif. Un mycélium aérien, appelé aussi mycélium secondaire, est formé d'hyphe dressés sur le mycélium du substrat. Les hyphe aériens sont plus épais et beaucoup moins ramifiés que les hyphe du substrat (Prescott *et al.*, 2003).

On distingue trois cas :

- Soit seul le mycélium végétatif est formé (*Frankia* et *Dactylosporangium*)
- Soit il y a formation de mycélium végétatif puis de mycélium aérien mûri en conidies (*Streptomyces*).
- Soit, seul le mycélium aérien est formé (*Sporichthya*) (Djaballah, 2010).

Les filaments mycéliens peuvent produire des spores, soit uniques (*Micromonospora*), soit en chaînes (*Streptomyces*), soit groupées dans des sporanges (*Actinoplanes*). Immobiles ou mobiles (*Actinoplanes*, *Spirillospora*...etc.). Si ces spores sont localisées dans des sporanges, on les appelle des sporangiospores (Prescott *et al.*, 2010).

Les colonies que forment les actinomycètes sur milieux solides sont caractéristiques, leur diamètre est généralement compris entre 1 à 4 mm. Leur aspect peut être compact, sec, lisse ou rugueux, en chou-fleur, à contour lisse ou échancré... Elles sont très souvent pigmentées en blanc, crème, jaune, violet, rose, gris...etc (Perry *et al.*, 2004).

Sous microscope, ces bactéries présentent une grande variabilité morphologique, allant de la forme cocci (*Micrococcus*) à un cycle bâtonnet-cocci (*Arthrobacter*) en passant par ceux formant des hyphe qui se fragmentent (*Nocardia* et *Rhodococcus*) et ceux qui possèdent un mycélium persistant et bien différencié (*Streptomyces*, *Actinomadura*, *Micromonospora*, etc.) (Oskay *et al.*, 2004 ; Srivibool et Sukchotiratana, 2006).

Les Actinomycètes sont aérobies plus rarement anaérobies, les premiers à métabolisme oxydatif représentés par les espèces telluriques, les seconds à métabolisme fermentatif correspondant aux espèces hôtes des cavités naturelles de l'homme et des animaux.

Ce sont généralement des organismes hétérotrophes, qui tirent leur énergie à partir d'une source très variée de substrats azotés et carbonés y compris des polymères complexes. Mais il existe des chimioautotrophes qui oxydent l'hydrogène et l'utilisent comme source d'énergie et le gaz carbonique (CO<sub>2</sub>) comme source de carbone (Mariat et Sebald , 1990).

Pour le pH, la plupart des actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles, et font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8. Mais ils peuvent avoir une croissance à des valeurs de pH inférieurs à 4 (McKinney, 2004), telle est le cas pour les souches acidophiles comme le genre *Streptacidiphilus* (Wang *et al.*, 2006).

Les Actinomycètes sont généralement des mésophiles , c'est-à-dire leur température optimale de croissance est située entre 25°C à 30°C, mais il existe des espèces thermophiles qui peuvent croître à des températures comprises entre 55°C et 65°C tel le genre *Thermoactinomyces* (Jiang et Xu , 1993 ; Rangaswami *et al.*,2004).

Selon leurs exigences en NaCl, les actinomycètes peuvent appartenir au groupe :

\* Des halophiles : qui ont besoin de sel pour leur croissance. La concentration en NaCl peut varier de 0,5 à 2,5 M (03-15%) pour les halophiles modérées, et de 2,5 à 5,2 M (15-30%) pour les halophiles extrêmes.

\* Des halotolérants : qui acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leur croissance. Ils sont appelés des halotolérants extrêmes si la concentration en NaCl atteint 2,5 M (15%) (Hozzein, 2015).

## **II. Écologie et habitat**

Les Actinomycètes sont largement distribués dans le sol, l'air, l'eau et les plantes (Goodfellow et O'Donnell, 1989) (tableau n°1) .

### **II.1 /Le sol**

Les Actinomycètes du sol sont saprophytes et participent à la biodégradation de la matière organique. Ils sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol et jusqu'à 2m de profondeur c'est-à-dire dans (la rhizosphère) ( Omura , 1992 ).

### **II.2/ L'air**

L'air constitue pour les actinomycètes un moyen de transport non pas un habitat (Gazenko *et al.*, 1989 ; Reponen *et al.*, 1989).

Les Actinomycètes se développent et libèrent leurs spores dans l'air provoquant lorsque elles sont inhalées des maladies respiratoires (Gazeno *et al.*, 1985 ; Suntari *et al.*,2002).

### **II.3/ Eaux douces et eaux marines**

Les Actinomycètes ont été également isolés à partir des environnements aquatiques tels l'eau marine et les sédiments marins ( Jansen *et al.*, 1991 ; Ghanem *et al.*,2000)

L'écologie des actinomycètes marins a été discutée par Goodfellow et Williams en 1983 (Goodfellow et Williams, 1983) , Il a été démontré que les actinomycètes constituent une petite partie de la flore totale marine, mais leur nombre est faible par comparaison à celui dans les eaux douces ou les sols ( Kitouni *et al.*,2005).

### **II.4/ Les plantes**

Certaines Actinomycètes sont des symbiotes des plantes (Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985). C'est l'exemple du genre *Frankia* qui bactérie forme des nodules au niveau des racines des plantes et leur procure de l'azote .L'association est appelée actinorhizienne (Prescott *et al.*.,2007) .

Tableau 1 : Répartition des Actinomycètes dans la nature (Goodflow, 1983)

Habitat	Genre
Sol	<i>Actinimodura</i> <i>Actinoplanes</i> <i>Microbiospora</i> <i>Micromonospora</i> <i>Nocardia</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Streptomyces</i> <i>Streptosporangium</i>
Eau	<i>Actinoplanes</i> <i>Micromonospora</i> <i>Nocardia</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Streptomyces</i>
Nodule de racine	<i>Frankia</i>

## **I-Matériel biologique**

Les souches d'actinomycètes étudiées, au nombre de 35, ont été fournies par notre encadreur Mlle **MERIANE Ilhem**. Chacune avait un identifiant de **ID 01** jusqu'au **ID 35**.

## **II-Méthodes**

### **1/Étude des caractères enzymatiques**

#### **1-1/Recherche des sucres**

##### **1-1-1/Recherche de l'amylase**

L'activité amylolytique a été testée sur la gélose de Gause (annexe), selon la méthode de Williams et Cross (1971). Le milieu est coulé sur boîtes de Pétri, ensemencé par stries de l'isolat étudiée puis incubé à 30°C. Après sept jours, la gélose est recouverte d'une solution de Lugol (annexe). La lecture s'est faite après 24h et s'est poursuivie jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation. La présence d'une zone claire autour des colonies après l'ajout du Lugol indique l'hydrolyse de l'amidon.

##### **1-1-2/Recherche de la cellulase**

Cette activité a été testée sur une gélose additionnée de la cellulose (annexe). Le milieu est coulé sur boîtes de Pétri puis ensemencé par stries de la souche à tester et incubé à 30°C. Après sept jours, une solution aqueuse de rouge Congo à 1% suivie d'une solution de NaCl (1N) pendant 15 min permettent de mettre en évidence la dégradation de la cellulose (Pinky *et al.*, 2012).

#### **1-2/Recherche des protéases**

##### **1-2-1/Recherche de la caséinase**

L'hydrolyse de la caséine a été étudiée sur un milieu gélosé contenant 5% du lait écrémé (annexe). L'ensemencement s'est fait par stries de la souche étudiée, et l'incubation a été effectuée à 30°C. Après sept jours, l'apparition d'une auréole claire autour des colonies indique la dégradation

de la caséine (Raval *et al.*, 2012 ; Roy *et al.*, 2014).

### **1-2-2/Recherche de la gélatinase**

Ce test a été réalisé sur un milieu nutritif gélosé contenant 1% de la gélatine (annexe), selon la méthode de Williams et Cross (1971). Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri puisensemencé par stries de la souche à tester et incubé à 30°C. Une solution de chlorure de mercure (annexe) permet de mettre en évidence la dégradation de la gélatine qui se traduit par la présence d'une auréole claire autour des colonies.

### **1-3/Recherche des lipases**

#### **1-3-1/Recherche de l'estérase**

La recherche de l'estérase a été réalisée sur le milieu de Sierra additionné de tween 80 (Sierra, 1957) (annexe). Après sept jours d'incubation, l'apparition d'un halo opaque autour des colonies traduit la présence d'une estérase.

#### **1-3-2/Recherche de la lécithinase**

La lécithinase a été recherchée sur une gélose au jaune d'œuf à 10% (annexe). Le milieu a été coulé en boîtes de Pétri, puisensemencé par stries de la souche à tester et incubé à 30°C.

Le jaune d'œuf est un substrat composé de lécithine, de triglycéride, et d'une lipoprotéine ; Il permet donc de rechercher trois enzymes :

- La lécithinase : se traduit par l'apparition d'un halo opaque, blanc perlé jaunâtre, à bord net sous la colonie ou à sa limite.

- La lipase : indiquée par l'apparition d'un halo blanc perlé huileux et brillant.

- La lipoprotéinase : se traduit par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie (Nitsch et Kutzner, 1969).

### **1-4/Recherche de l'uréase (urée hydrolase)**

La recherche de l'uréase s'est effectuée sur le milieu FERGUSSON (milieu urée –indole) en tubes, qui a été richement ensemencé par une culture jeune d'actinomycètes à tester à l'aide d'une anse de platine. Les tubes ont été ensuite agités à l'aide d'un vortex puis incubés à 30°C. La lecture s'est faite après 24h et poursuivie jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation. Si la souche possède une uréase, la production de NH<sub>3</sub> fait alcaliniser le milieu et virer l'indicateur vers le rouge violacé.

### **1-5/Recherche de la tyrosinase**

Ce test a été réalisé sur une gélose à la tyrosine (annexe), le milieu est coulé sur boîtes de Pétri puis ensemencé par des stries de la souche à tester et incubé à 30°C. L'examen s'est fait après deux jours et poursuivie jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation. La dégradation de la tyrosine se manifeste par une auréole marron ou noire autour des colonies (Raval *et al.*, 2012 ; Roy *et al.*, 2014).

### **1-6/Recherche de la pectinase**

La pectinase a été recherchée sur une gélose MP7 (annexe). Ce milieu a été coulé sur boîtes de Pétri, ensemencé de la souche à tester puis incubé à 30°C. Après 07 jours d'incubation, les boîtes sont recouvertes d'une solution d'acétate de cuivre à 10% (annexe) pendant 15 min, la présence d'un halo clair indique la présence d'une activité pectinolytique (Hankin *et al.*, 1971).

## **2/ Étude des caractères physico-chimiques**

### **2-1/ Croissance à différentes températures**

Les souches d'actinomycètes ont été ensemencées sur le milieu ISP2 en boîtes de Pétri puis incubées à différentes températures : 4°C, 20°C, 30°C, 37°C et 45°C. La lecture s'est faite après le 5<sup>ème</sup>, 7<sup>ème</sup> et jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation. Un résultat positif se traduit par une croissance bactérienne.



### **2-2/ Croissance à différents pH**

Les souches d'actinomycètes ont été ensemencées sur le milieu ISP2 préparé et ajusté à différents pH : 03, 05, 07 et 12 (annexe). La lecture s'est faite après le 5<sup>ème</sup>, 7<sup>ème</sup> et jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation. Tout développement a signifié un résultat positif.

### **2-3/ Croissance à différentes concentrations en NaCl**

La croissance des souches d'actinomycètes en présence de différentes concentrations en NaCl a été testée sur un milieu solide. Il s'agit du milieu ISP2 préparé avec 7%, 10%, 12% et 15% de NaCl (annexe). Ce milieu une fois coulé en boîtes de Pétri, a été ensemencé par des stries puis incubé à 30°C. La lecture s'est faite après le 5<sup>ème</sup>, 7<sup>ème</sup> et jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation. Tout développement a signifié une croissance.

Partie III :

Résultats et discussion



### 3/ Croissance à différentes concentrations de NaCl

Les résultats de la croissance des 35 souches étudiées à différentes concentrations en NaCl sont illustrés dans le tableau 5 et dans la figure 27 :

**Tableau 5 : Les résultats de la croissance des 35 souches étudiées à différentes concentrations en NaCl**

NaCl	Souches																																						
	ID 01	ID 02	ID 03	ID 04	ID 05	ID 06	ID 07	ID 08	ID 09	ID 10	ID 11	ID 12	ID 13	ID 14	ID 15	ID 16	ID 17	ID 18	ID 19	ID 20	ID 21	ID 22	ID 23	ID 24	ID 25	ID 26	ID 27	ID 28	ID 29	ID 30	ID 31	ID 32	ID 33	ID 34	ID 35				
NaCl (07%)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
NaCl (10%)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
NaCl (12%)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
NaCl (15%)	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+

## 1/ Croissance à différentes températures

Le résultat de la croissance des souches étudiées à différentes température est mentionné dans la figure 11 et le tableau 3 :

**Tableau 3 : Les résultats de la croissance des 35 souches étudiées à différentes températures**

T°(C°)	Souches																																			Pourcentages					
	ID 01	ID 02	ID 03	ID 04	ID 05	ID 06	ID 07	ID 08	ID 09	ID 10	ID 11	ID 12	ID 13	ID 14	ID 15	ID 16	ID 17	ID 18	ID 19	ID 20	ID 21	ID 22	ID 23	ID 24	ID 25	ID 26	ID 27	ID 28	ID 29	ID 30	ID 31	ID 32	ID 33	ID 34	ID 35						
T°=04°C	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<b>82.85 %</b>		
T°=20° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*	-	+	+	<b>94.28 %</b>
T°=30°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<b>100 %</b>	
T°= 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<b>97.14 %</b>	
T° =45°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*	-	+	+	<b>94.28 %</b>

## I. Mise en évidence des activités enzymatiques

Les résultats des activités enzymatiques des 35 souches étudiées sont illustrés dans le tableau ci-dessous (tableau 2).

**Tableau 2 : Résultats des activités enzymatique des 35 souches étudiées**

Le substrat dégradé	Souches																																			( %)		
	ID 01	ID 02	ID 03	ID 04	ID 05	ID 06	ID 07	ID 08	ID 09	ID 10	ID 11	ID 12	ID 13	ID 14	ID 15	ID 16	ID 17	ID 18	ID 19	ID 20	ID 21	ID 22	ID 23	ID 24	ID 25	ID 26	ID 27	ID 28	ID 29	ID 30	ID 31	ID 32	ID 33	ID 34	ID 35			
Amidon	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	*	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	*	-	*	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	66
Cellulose	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	40
Caséine	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	66
Gélatine	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	20	
Tween 80	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01
Lécithine	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	26
Urée	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	*	-	+	+	+	+	+	+	+	*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	94
L-tyrosine	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	60
Pectine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Total des enzymes produites	04	03	03	05	03	02	04	05	04	02	05	02	02	03	03	01	04	04	03	03	06	03	04	05	04	04	04	03	04	05	04	05	04	05	06	04	04	

(\*) : La lecture du résultat s'est faite uniquement après le 5<sup>ème</sup> jours.

## **I. Mise en évidence des activités enzymatiques**

Les résultats des activités enzymatiques des 35 souches étudiées sont illustrés dans le tableau ci-dessous (tableau 2).

**Tableau 2 : Résultats des activités enzymatique des 35 souches étudiées.**

Le tableau 2 indique que toutes les souches étudiées ont montré au moins une activité enzymatique parmi les neuf différentes activités testées.

En fait, les données littéraires ont rapporté que les actinomycètes sont capables de produire un grand nombre d'enzymes, qui sont d'une valeur commerciale élevée (Zhou *et al.*, 2000 ; Chakraborty *et al.*, 2009 ; Avramenko et Galynkin, 2010).

Ce résultat, justifie aussi l'intérêt que portent les chercheurs ce type de microorganismes, un intérêt qui n'a cessé de s'accroître au cours de ces dernières années, principalement en raison du grand nombre d'application que les enzymes offrent dans des domaines très variés. (Keyhani et Roseman, 1999 ; Bhat, 2000 ; Mobini-Dehkordi et Javan, 2012).

## **1. Répartition des activités enzymatiques selon la nature du substrat dégradé**

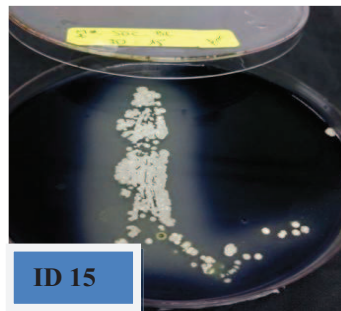
### **1.1 /Dégradation des sucres**

#### **1.1.1/ Dégradation de l'amidon**

D'après le tableau 2, on remarque que 23 souches parmi les 35 souches d'actinomycètes étudiées ont pu dégrader l'amidon, 12 souches se sont révélées dépourvues de l'amylase.

L'activité amylolytique se traduit par la présence d'un halo clair autour de la colonie après l'addition du « Lugol » (figure 1).

Les données bibliographiques ont mentionné que « l' $\alpha$ -amylase » est le type d'enzyme amylolytique le plus produit par les actinomycètes. Il est élaboré par différents genres tels que *Streptomyces* ; *Nocardiopsis* et *Streptosporangium* (Vigal *et al.*, 1991 ; Stamford *et al.*, 2001; Chakraborty *et al.*, 2009).



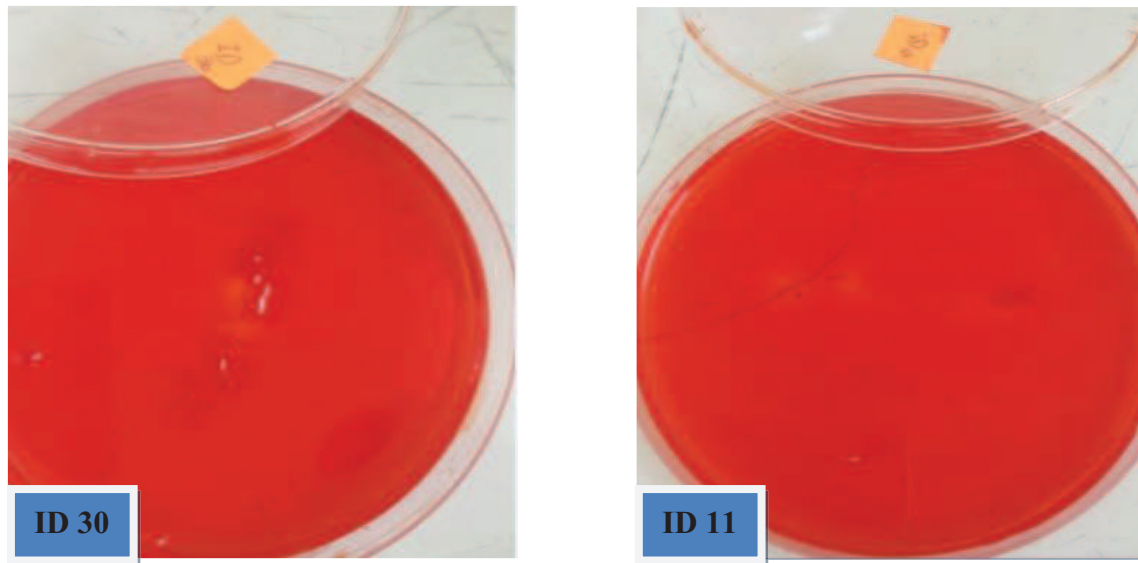
**Figure 1 : Photographie représentant le résultat positif de l'activité amylolytique de la souche actinomycétale ID 15.**



### 1.1.2/ Dégradation de la cellulose

Parmi les 35 souches d'actinomycètes, 14 souches ont pu produire l'enzyme cellulase (tableau 2).

Cette activité se traduit par l'apparition d'un halo jaune orangé entourant la colonie après l'ajout du « Rouge Congo à 1% » et d'une solution saline (1N de NaCl) (figure n° 02).



**Figure 2: Photographies représentant le résultat positif de l'activité cellulosique de deux souches actinomycétales ID 11 et ID 30.**

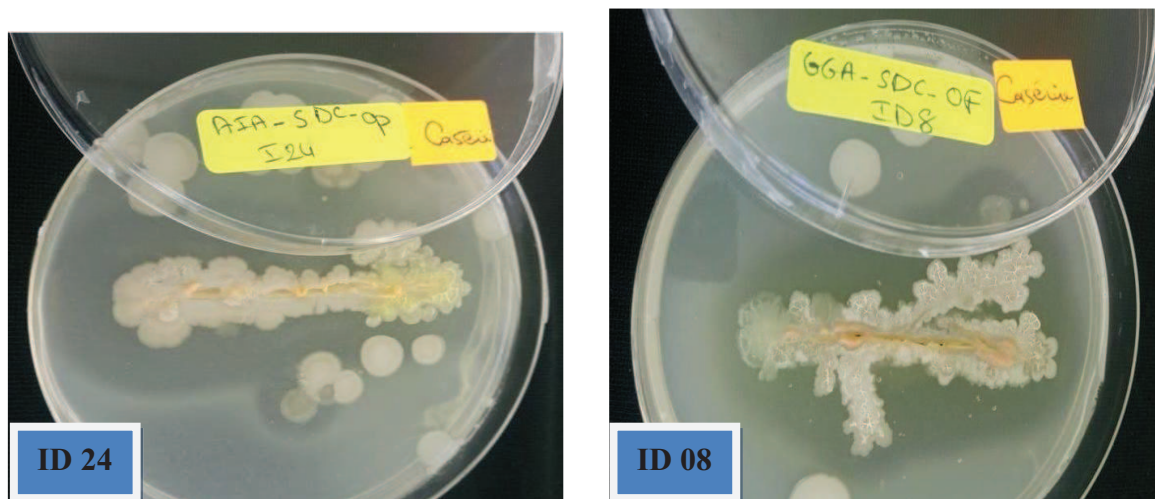
Différentes cellulases ont été mises en évidence dans différents genres appartenant aux actinomycètes, il s'agit principalement de *Streptomyces* (Jang and Chenks , 2003 ; Loliam *et al.*, 2013), *Micromonospora* (De Menezes *et al.*, 2008, 2012), *Cellulomonas* ( Saratale *et al.*, 2010) et *Thermomonospora* (Stutzenberger , 1988).

## 1.2 / Dégradation des protéines

### 1.2.1 / Dégradation de la caséine

23 souches possèdent l'enzyme « caséinase » (tableau 2).

Cette activité se traduit par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie sans l'ajout d'aucun réactif (figure 3).



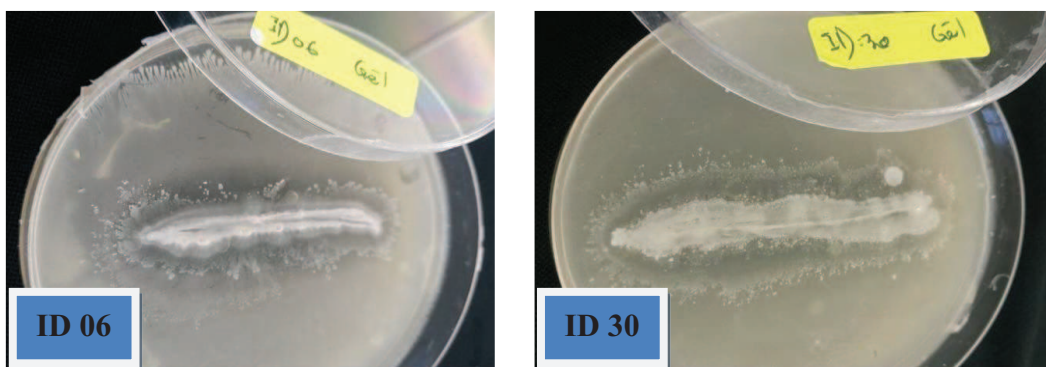
**Figure 3: Photographies représentant le résultat positif de l'activité caséinolytique de deux souches actinomycétales ID 08 et ID 24.**

Gulve et Dushmukh (2011), ont rapporté que les genres *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia* et *Saccharopolyspora* possèdent une activité caséinolytique.

### 1.2.2 / Dégradation de la gélatine

Parmi les 35 souches d'actinomycètes, 07 souches ont pu produire l'enzyme gélatinase (tableau 2).

Cette activité se traduit par l'apparition d'un halo clair entourant la colonie après l'ajout d'une solution de chlorure de mercure (figure 4).



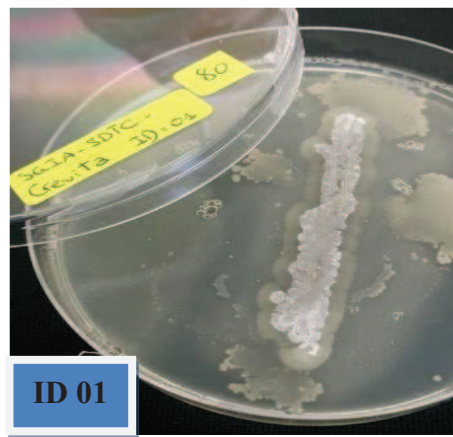
**Figure 4 : Photographies représentant le résultat positif de l'activité gélatinolytique de deux souches actinomycétales ID 06 et ID 30.**

## 1.3/ Dégradation des lipides

### 1.3.1/ Dégradation du tween 80

Une seule souche (ID 01) parmi les 35 a pu sécréter l'enzyme estérase (tableau n° 02).

Cette activité se traduit par l'apparition d'un halo opaque sans l'ajout d'aucun réactif (figure 5).



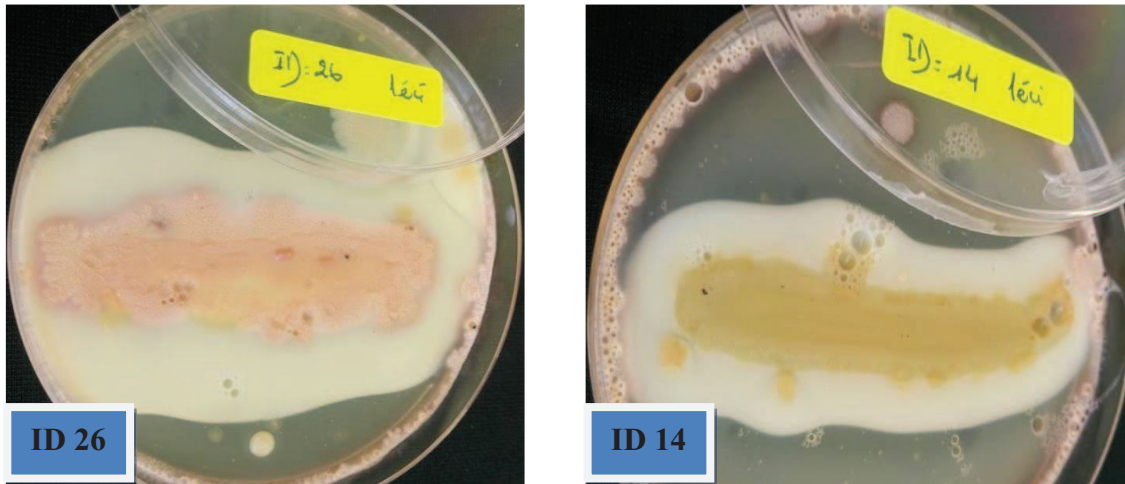
**Figure 5: Photographie représentant le résultat positif de l'activité d'estérase de la souche actinomycétale ID 01.**

### 1.3.2/ Dégradation de la lécithine

Le même tableau, démontre que 09 souches possèdent l'enzyme lécithinase qui leur a permis de dégrader la lécithine.

Cette activité se traduit par la présence d'un halo opaque, blanc perlé jaunâtre à bord net sous la colonie ou à sa limite (figure 6).

Verma et Khuller (1983) ont rapporté la production d'une phospholipase (lécithinase) chez *S.griseus* qui a été active à pH=7,5.



**Figure 6: Photographies représentant le résultat positif de l'activité lécinolytique de deux souches actinomycétales ID 14 et ID 26.**

## 1.4/ Dégradation d'autres substrats

### 1.4.1/ Dégradation de l'urée

Toutes les souches actinomycétales, à l'exception de deux souches ID 06 et ID 15 , se sont révélées productrices de l'enzyme uréase (tableau 2).

L'uréase permet d'hydrolyser l'urée contenue dans le milieu de Fergusson, et la libération de l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) fait virer l'indicateur au rose violacée (alcalinisation du milieu) (figure 7).

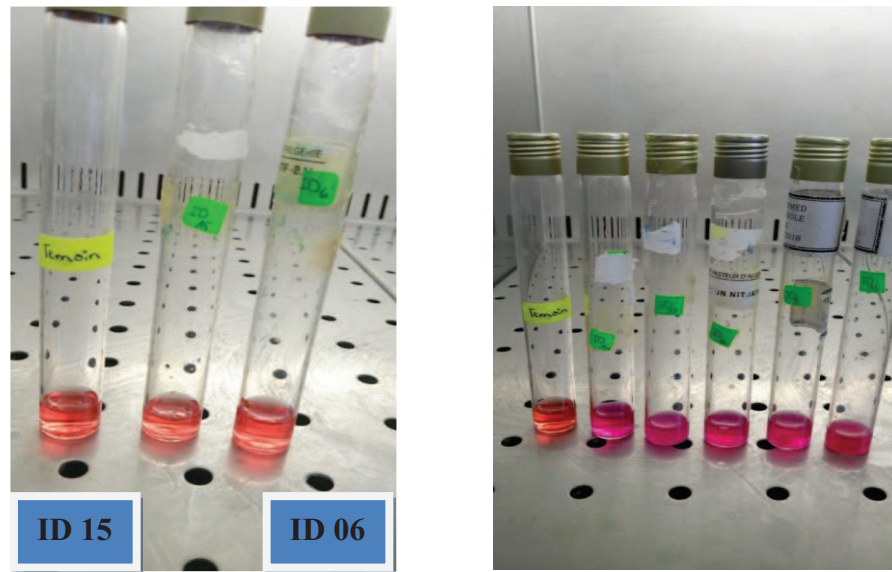


Figure 7 : Photographies représentant le résultat de l'activité uréasique :

À droite : Activité positive des souches actinomycétales : ID 07, ID 11, ID 18, ID 23 et ID 34.

À gauche : Activité négative des souches actinomycétales : ID 06 et ID 15.

La recherche de cette enzyme fait partie des critères biochimiques d'identification et de classification des bactéries notamment les actinomycètes.

#### 1.4.2/ Dégradation de la L-tyrosine

Le résultat de la dégradation de la L-tyrosine, tel que mentionné dans le tableau n°02, indique que 18 souches parmi les 35 sont positives.

En fait, une activité positive se manifeste par l'apparition d'une auréole de coloration marron ou noire (figure 8).

La tyrosinolyse est une propriété très courante chez *Streptomyces sp.*

En fait des tyrosinases ont été isolées à partir de *Streptomyces nigrifaciens*, *Streptomyces michiganensis*, *Streptomyces glaucescens*, *Streptomyces castaneoglobisporus*, *Streptomyces albus*, *Streptomyces espinosus* (Nambudiri and Bhat, 1972 ; Philipp *et al.*, 1991 ; Roy *et al.*, 2014).



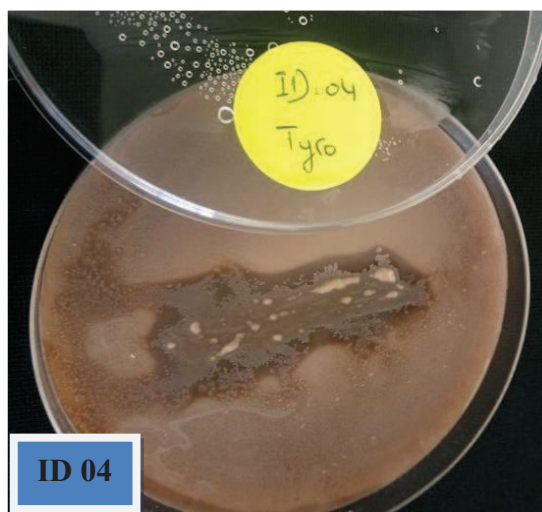


Figure 8 : Photographie représentant le résultat positif de l'activité tyrosinolytique de la souche actinomycétale ID 04.

#### 1.4.3/ Dégradation de la pectine

Le test s'est monté négatif pour toutes les souches d'actinomycètes étudiées (tableau 2).

Nos résultats nous permettent de déduire que l'urée est le substrat le plus dégradé avec un pourcentage de 94% ; suivi par l'amidon avec 66% ; ensuite la caséine avec 65,71%.

En 4<sup>ème</sup> position, vient la L-tyrosine avec 60%, puis la cellulose avec 40% ; ensuite la lécithine avec 25,71%, et la gélatine avec 20%.

Le tween 80 est le substrat le moins dégradé avec 0,01%.

Enfin ; la pectine est le substrat non-dégradé par toutes nos souches étudiées (figure 9).

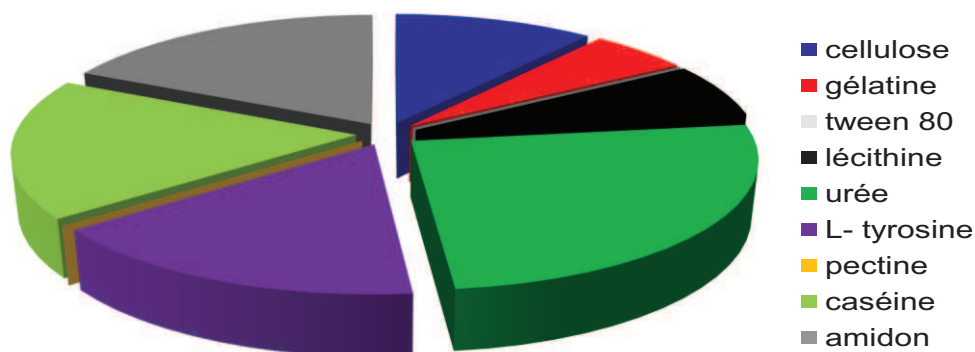


Figure 9: Répartition des activités enzymatiques selon la nature du substrat dégradé.

Nos résultats sont proches à ceux présentés Siricha *et al* .,(2013) pour l'étude des activités enzymatiques de 63 souches d'actinomycètes isolées à partir des sédiments marins où ils ont mentionné que l'activité amylolytique a occupé la première position (81%) suivie par l'activité caséinolytique (59%). L'activité uréasique n'a pas été recherchée.

Mais sont loin de ceux rapportés par Gulve et Deshumukh (2011) pour l'étude des activités enzymatiques de 90 souches d'actinomycètes d'origine marine où leurs isolats ont dominé quant à la production des enzymes protéolytiques : 84, 44% et 77, 78%, pour L'action sur le lait écrémé et la dégradation de la gélatine respectivement.

Quant à l'activité uréasique, elle a occupé la dernière position vu que 15 sur les 90 souches testées (16, 67%) possédaient l'enzyme uréase.

## 2. Répartition des actinomycètes selon le nombre des enzymes produites

La répartition des actinomycètes actifs selon le nombre des enzymes produites, est démontrée dans la (figure 10) ci-dessous.

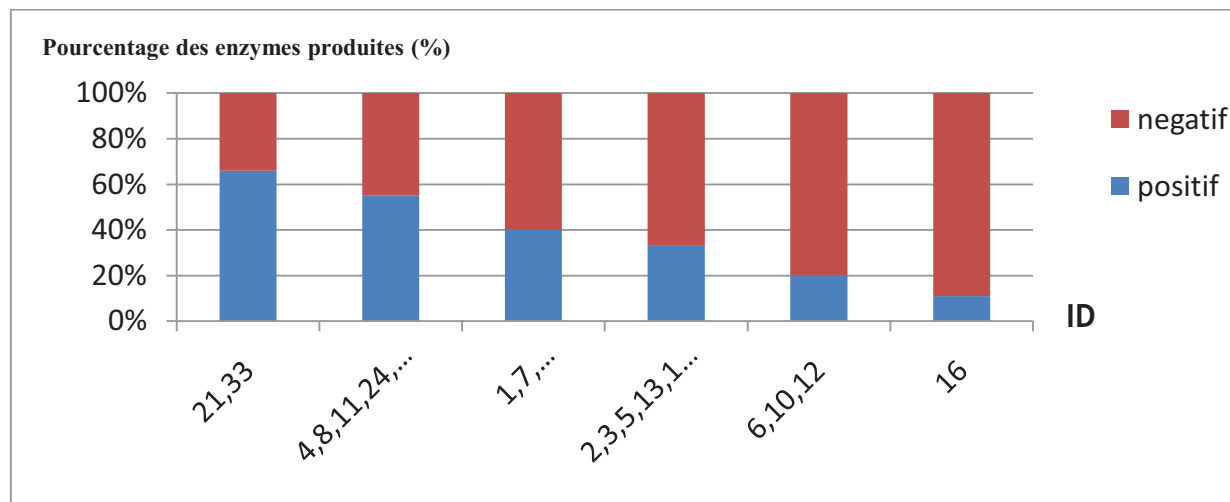


Figure 10 : Répartition des actinomycètes selon les enzymes produites.

Les souches nommées ID 21 et ID 33 viennent en **1<sup>ère</sup> position 66%** , elles sont pu produire six enzymes différentes ; cellulase, amylase , gélatinase , uréase , tyrosinase , caséinase pour la souche ID 21 , amylase , gélatinase , lécithinase , uréase , caséinase , tyrosinase pour la souche ID 33 .

Les souches ID 04 , ID 08 , ID 11, ID 24 , ID 30 , ID 32 à occupent la **2<sup>ème</sup> position** avec un pourcentage de **(55%)**, ces souches ont pu produire 05 enzymes : amylase , gélatinase , lécithinase , uréase et tyrosinase pour la souche ID 04, cellulase, lécithinase , uréase , tyrosinase et caséinase pour la souche ID 08 , amylase , cellulase, uréase , tyrosinase , et caséinase pour la souche ID 11, amylase , lécithinase , uréase , tyrosinase et caséinase pour la souche ID 24 , amylase , cellulase , uréase , tyrosinase et caséinase pour la souche ID 30 , amylase , cellulase , gélatinase , uréase et tyrosinase pour la souche ID 30 et enfin, amylase , caséinase , lécithinase , uréase , tyrosinase pour la souche ID 32 .

Viennent **ensuite** les souches ID 01 , ID 07 , ID 09 , ID 17 , ID 18 , ID 23 , ID 25 , ID 26 , ID 27 , ID 29 , ID 31 , ID 34 , ID 35 , avec un pourcentage de **40%** ; et la production de 04 enzymes différentes.



La 4<sup>ème</sup> position est occupée par les souches ID 02 , ID 03 , ID 05, ID 13 , ID 14 , ID 15 , ID 19 , ID 20 , ID 20 , ID 22 , ID 28 avec un pourcentage de 33% et la production de 03 enzymes différentes.

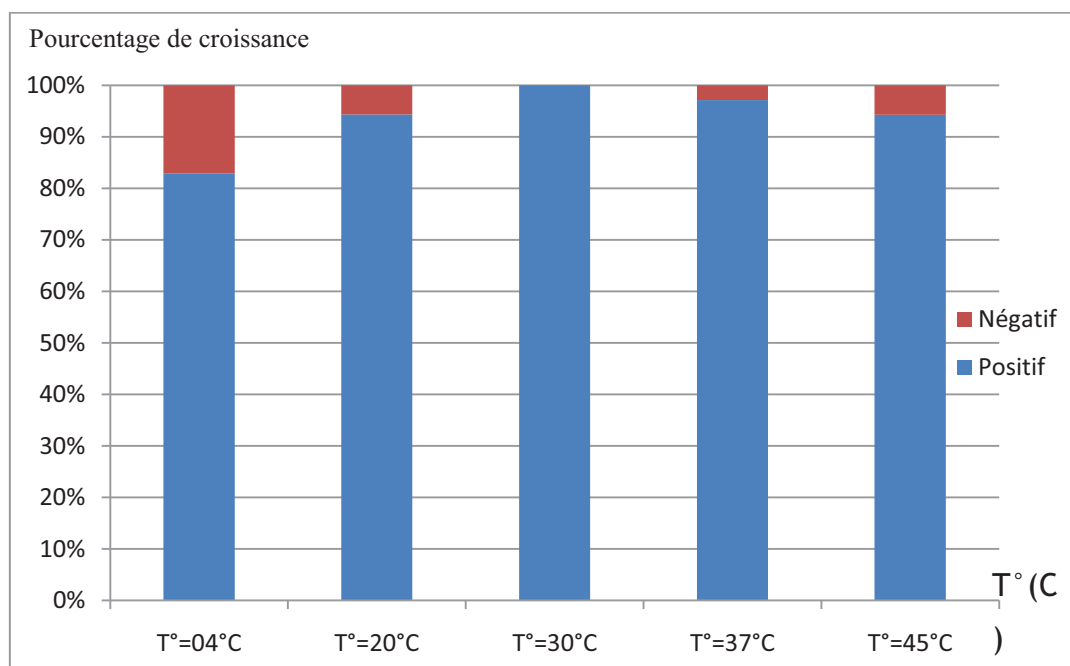
Viennent ensuite les souches ID 06, ID 10, ID 12 avec 20% qui ont pu produire 02 enzymes différentes.

En dernière position vient la souche ID 16 avec un pourcentage de 11%, en fait, elle a produit une seule enzyme uréase.

## II. Mise en évidence des aptitudes physiologiques

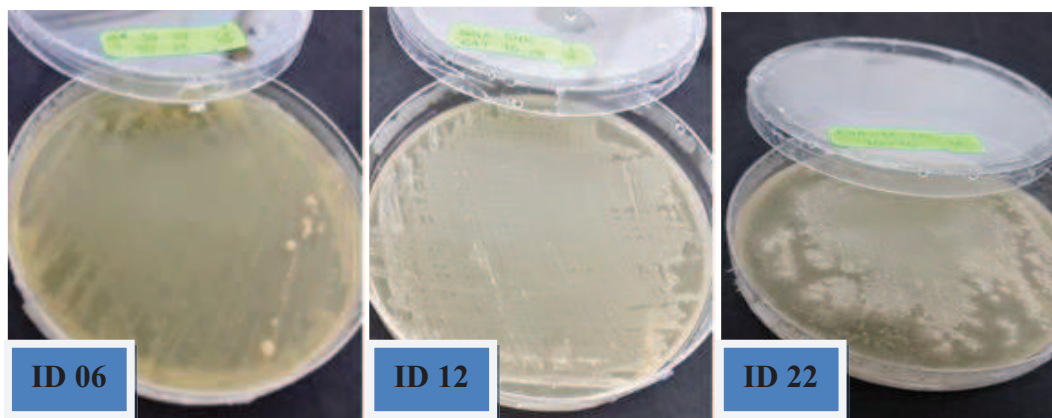
### 1/ Croissance à différentes températures

Le résultat de la croissance des souches étudiées à différentes température est mentionné dans la figure 11 et le tableau 3 :

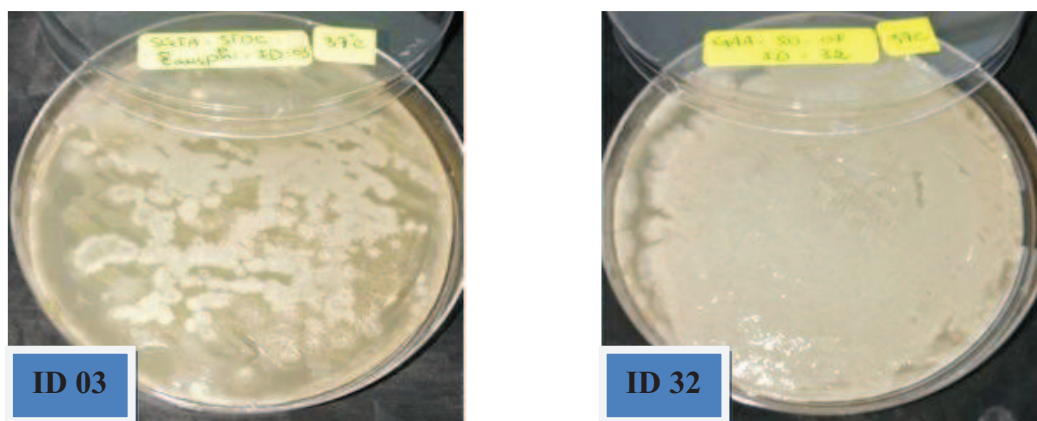


**Figure 11 : Histogramme représentant le résultat de la croissance des souches actinomycétales à différentes températures.**

D'après ces résultats on remarque que toutes les souches ont pu développer à une température de 30°C (100%) (figure 13); et même à la température 37°C à l'exception de la souche nommée ID15 qu'on a suivi après 05 jours d'incubation seulement (97 ,14%) (figure 14).



**Figure 12 : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 06, ID 12 et ID 22 à la température 30°C.**



**Figure 13 : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 03 et ID 32 à la température 37°C.**

Aux températures 20°C et 45°C ; seules les souches nommée ID 11 et ID 33 n'ont pas pu croître (94 ,28%) (figure 15 et 16).

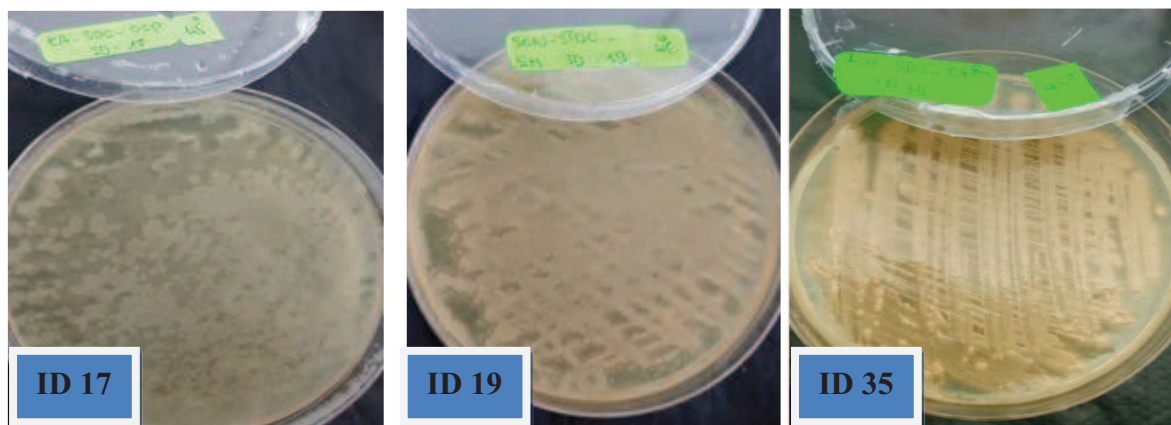


Figure 14 : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 17, ID 19 et ID 35 à la température 45°C.

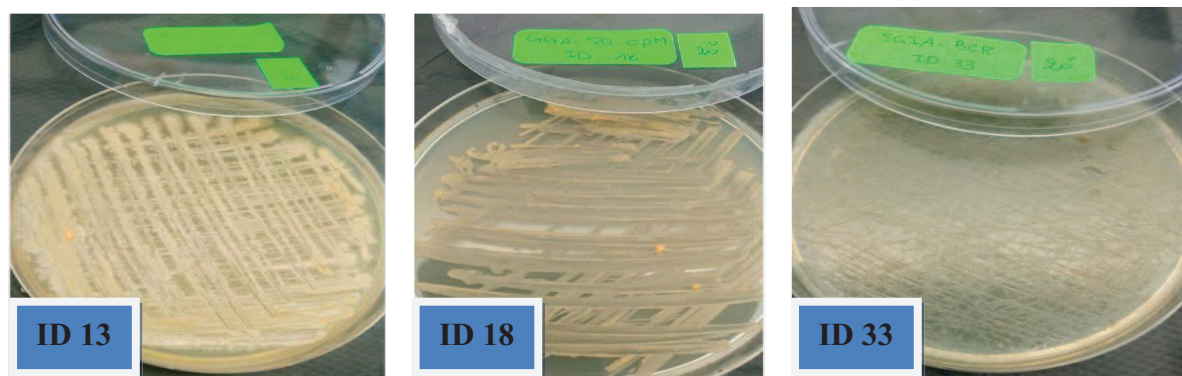


Figure 15 : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 13, ID 18 et ID 33 à la température 20°C.

Tandis que pour la température 04°C seules 06 souches ; qui sont respectivement : ID 4, ID 7, ID 15, ID 23, ID 27, ID 33 n'ont présenté aucune croissance. Les vingt-neuf (29) souches ont donné un résultat positif (82% ,85%) (figure17).

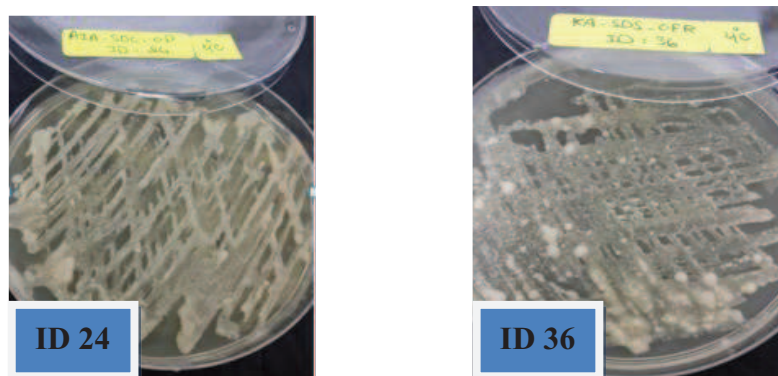
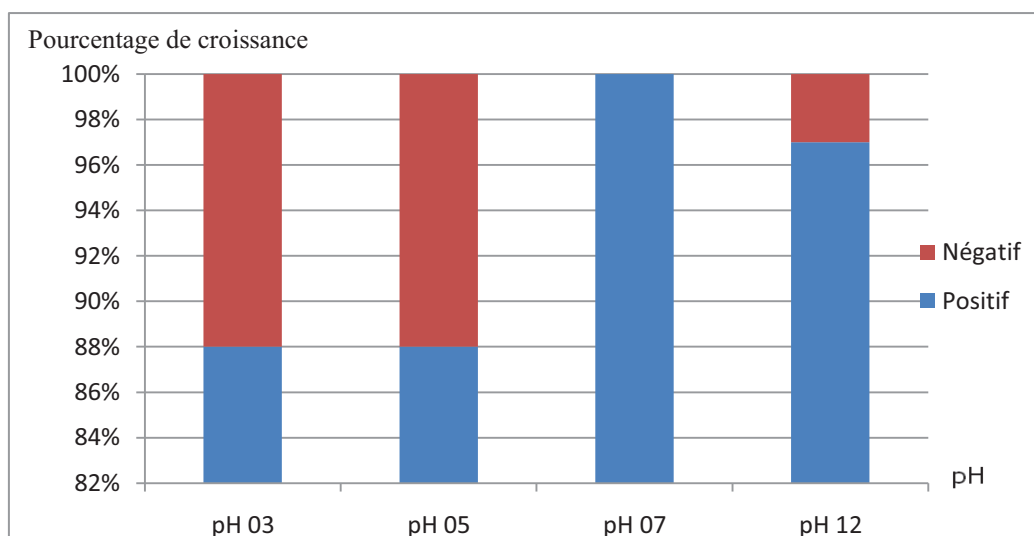


Figure 16 : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 24 et ID 36 à la température 04°C.

D'après les résultats du test de la température ; on remarque toutes nos souches ont pu développer à une température de **30°C** et la majorité ont montré une bonne croissance dans un intervalle allant du **20°C** jusqu'au **45°C**.

## 2/ Croissance à différents pH

Les résultats la croissance des 35 souches étudiées à différents pH sont illustrés dans le la figure 17 et le tableau 4 :



**Figure 17 : Histogramme représentant le résultat de la croissance des souches étudiées à différents pH.**

Ces résultats montrent que toutes les souches ont pu croître sur le milieu ISP<sub>2</sub> à pH 07 (**100%**) (figure 19) et aussi à pH 12 l'exception de la souche ID 14 pour le milieu ISP<sub>2</sub> à pH=12 (**97.15%**) (figure 20).



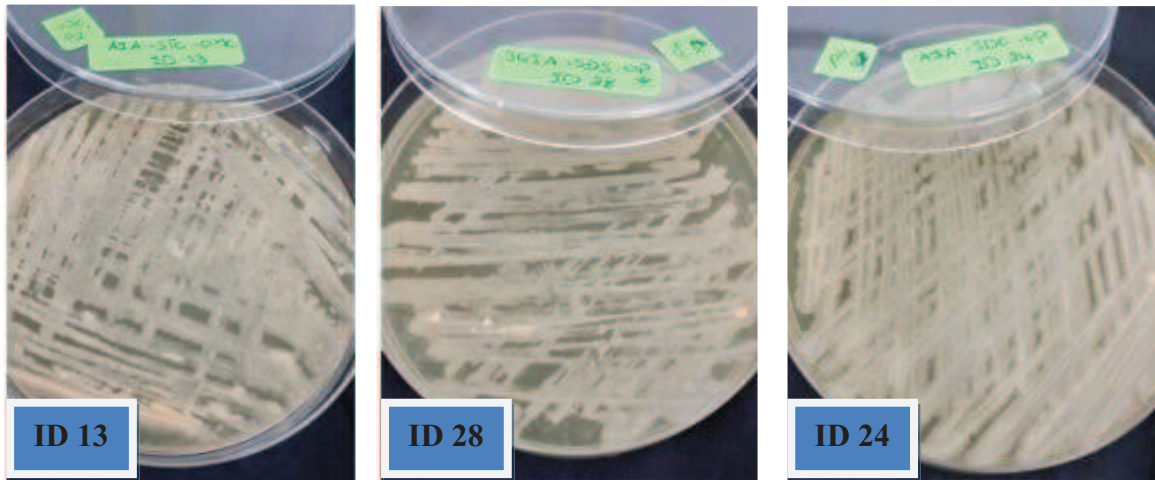


Figure 18 : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 13, ID 24 et ID 28 sur le milieu ISP<sub>2</sub> à pH=07.

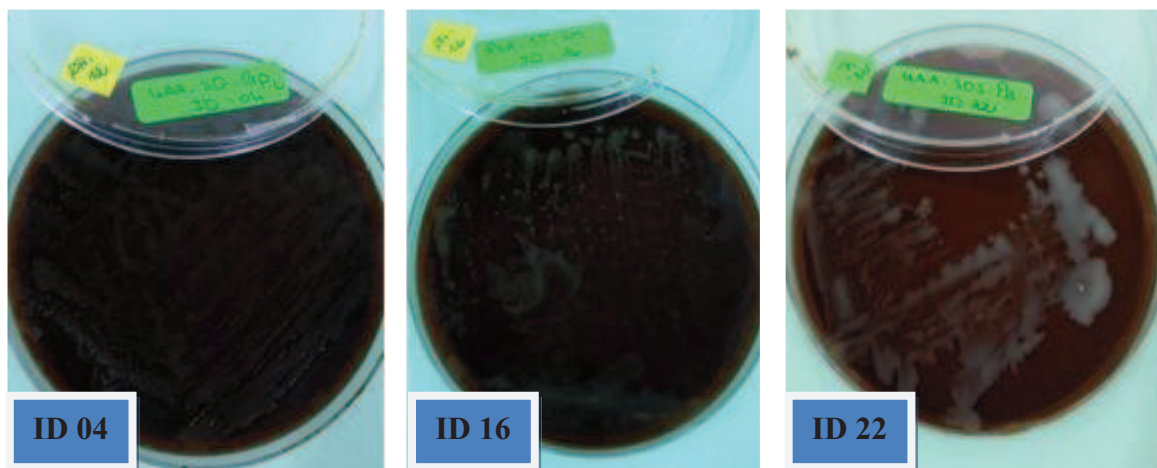


Figure 19 : Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID 04, ID 16 et ID 22 sur le milieu ISP<sub>2</sub> à pH=12.

Ces mêmes résultats montrent que 04 souches : ID 08, ID 11, ID 14 et ID 19 n'ont pas pu se développeres sur ce milieu-là ajusté à pH 03 (figure 21) et 04 autres souches : ID 11, ID 14, ID 15 et ID 33 n'ont pas pu se développeres aussi sur le même milieu ajusté à pH 05.



Figure 20 : Photographies représentant l'absence de la croissance de la souche actinomycétale

ID 19 sur le milieu ISP<sub>2</sub> à pH=03.

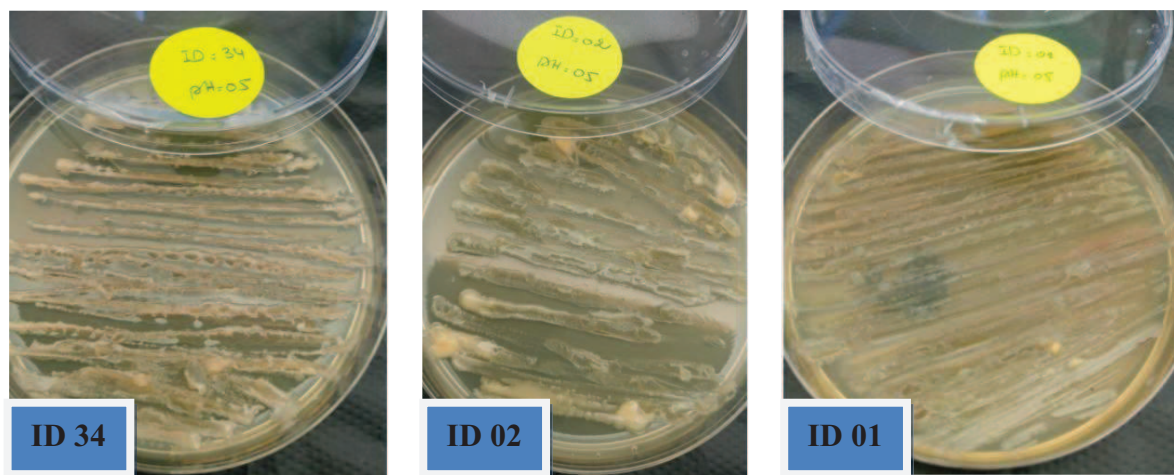
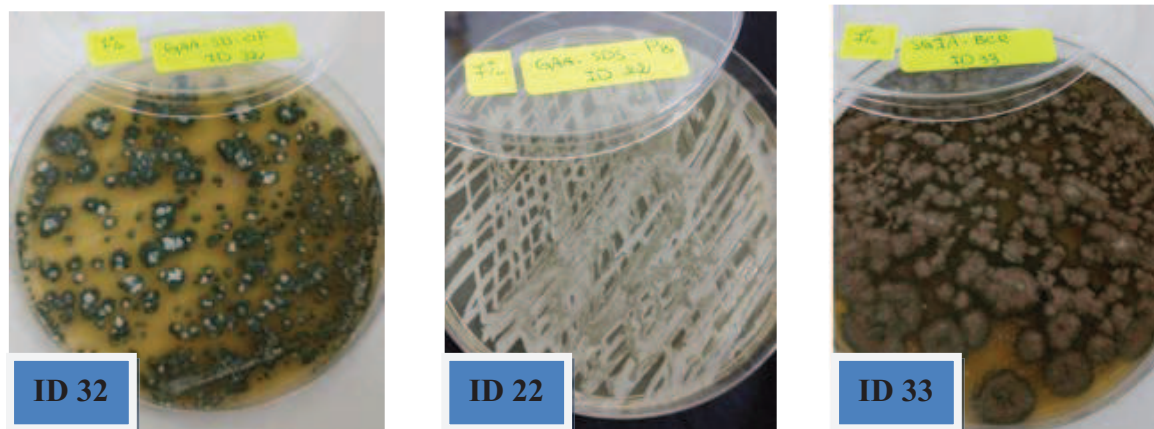


Figure 21: Photographies représentant la croissance des souches actinomycétales ID01, ID 02 et ID 34 sur sur le milieu ISP<sub>2</sub> à pH=05.

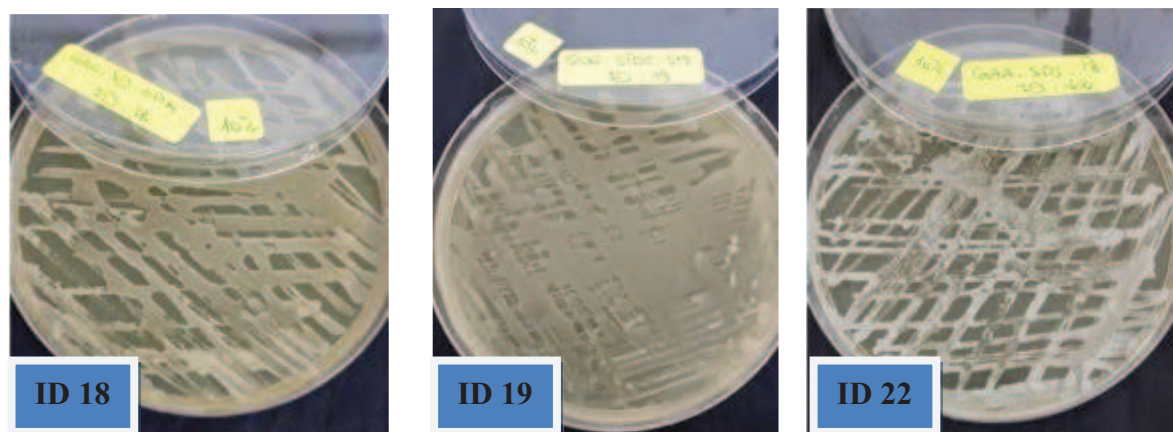
D'après les résultats du test du pH, on peut constater que la majorité des souches ont un bon développement à pH neutre (100%) et légèrement alcalin (97,15%) qu'à un pH acide (88,15%) et légèrement acide (88,15%).

Ces résultats montrent que toutes les souches, à l'exception de 02 souches : ID13 et ID14, ont montré une croissance sur le milieu ISP<sub>2</sub> contenant 07% de NaCl (figure 23).



**Figure 22 : Photographies représentant la croissance des souches nommées ID 22, ID 32 et ID 33 sur le milieu ISP<sub>2</sub> contenant 07% de NaCl.**

Toutes les souches ont pu croître aussi sur le même milieu contenant 10% de NaCl, à l'exception de 03 souches (ID 17, ID 24, ID 28) (figure 24).



**Figure 23 : Photographies représentant la croissance des souches nommées ID 18, ID 19 et ID 22 sur le milieu ISP<sub>2</sub> contenant 10% de NaCl.**

La grande majorité des souches étudiées ont montré une croissance à une concentration de 12% de NaCl (figure 25) à l'exception des 5 souches.



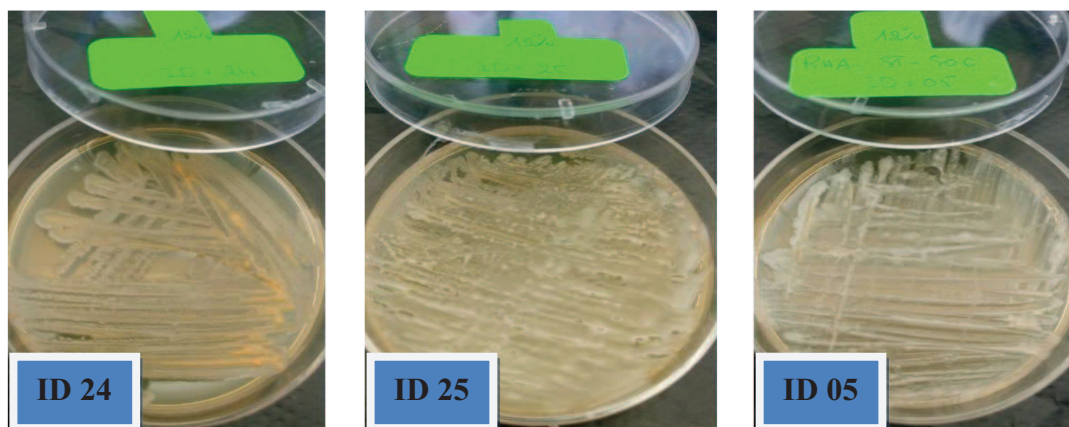


Figure 24 : Photographies représentant la croissance des souches nommées ID 05, ID 24 et ID 25 sur le milieu ISP<sub>2</sub> contenant 12% de NaCl.

Enfin, à l'exception des 10 souches qui n'ont pas montré une croissance, toutes les souches pu se développer sur le milieu ISP<sub>2</sub> à 15% de NaCl, (figure 26).

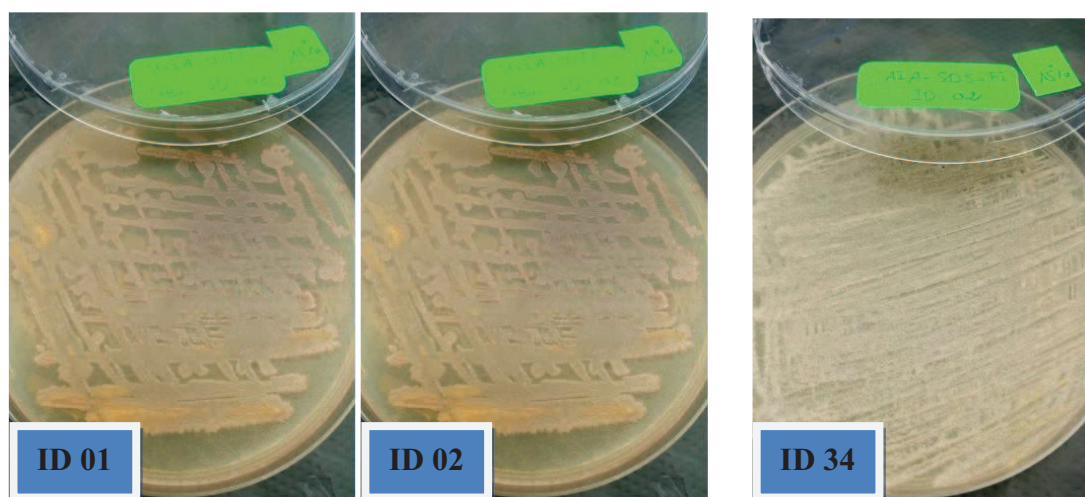


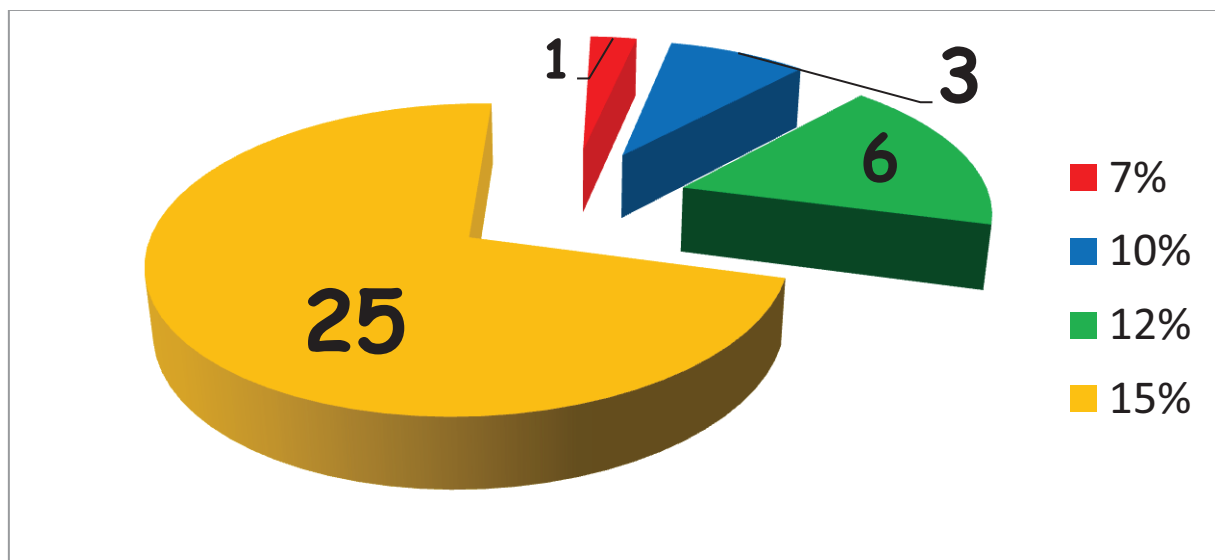
Figure 25 : Photographies représentant la croissance des souches nommées ID 01, ID 02 et ID 34 sur le milieu ISP<sub>2</sub> contenant 15% de NaCl.

Les souches étudiées, au nombre de 35 ; ont pu croître sur le milieu ISP<sub>2</sub> préparé sans NaCl pour les tests physiologiques de température et de pH ; ce qui permet de les classer comme des bactéries «**halotolérantes**».

Selon les données du tableau n°04, on peut classer nos souches dans 04 catégories (figure 27):



- Celles qui tolèrent une concentration en NaCl jusqu'au **07%**, représentées par une seule souche : **ID 17** (2%).
- Celles qui tolèrent une concentration en NaCl jusqu'au **10%**, représentées par les souches **ID 15, ID16, ID 33** (8%).
- Celles qui tolèrent une concentration en NaCl jusqu' au **12%** : **ID31, ID 21, ID 07, ID 06, ID 13 et ID 14** (17%).
- Celles qui se développent jusqu'au **15%** : (**25 souches**) (71%), elles sont désignées comme des halotolérantes extrêmes.



**Figure 26: Répartition des souches actinomycétales selon la tolérance aux différentes concentrations en NaCl**

Nombreux sont les chercheurs qui ont rapporté l'aptitude des actinomycètes à croître dans certaines conditions physiologiques.

Chakraborty *et al.*, (2015) ont mentionné que leurs souches isolées à partir des sédiments marins ont pu croître à un intervalle de température de 25°C à 42°C, concernant le pH ; aucune croissance n'a été enregistrée à un pH acide ou neutre car la totalité des souches s'est montrée alcaline (croissance à pH 8,9 et 10).

Pour les différentes concentrations testées en NaCl ; aucune des souches n'a pu tolérer une concentration supérieure à 5%.

Dans une autre étude, Mohan Jagan *et al.* ,(2013) ont retrouvé que la totalité de leurs souches d'actinomycètes marins ont pu croître à des températures de 10°C, 20°C et 28°C, la majorité à 37°C mais quelques-unes à 42°C.

Ces souches ont montré un développement dans un intervalle de pH allant de 5 à 9.

La totalité a pu tolérer une concentration de NaCl de 01% jusqu' à 7%, quelques-unes ont pu toléré une concentration de 10% , mais aucune n'a pu croître à une concentration de 13%.

# Conclusion et perspectives

À la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

- Toutes les souches étudiées ont montré au moins une activité enzymatique, ce qui démontre leur importance.
- **L'urée** est le **substrat le plus dégradé** avec un pourcentage de **94%** ; suivi par **l'amidon** avec et **la caséine** avec **66%**. Ensuite la **L-tyrosine** avec **60%**.
- Aucune des souches n'a pu produire la pectinase.
- Les souches nommées ID 21 et ID 33 sont les plus actives (**66%**) elles sont pu produire six enzymes différents ; cellulase, amylase , gélatinase , uréase , tyrosinase , caséinase pour la souche ID 21 , amylase , gélatinase , lécithinase , uréase , caséinase , tyrosinase pour la souche ID 33 .
- Les souches ID 06, ID 10, ID 12 ont pu produire 02 enzymes différentes.
- La souche ID 16 est la moins active vue qu'elle a pu produire une seule enzyme : (uréase), parmi neuf (**11%**).
- Toutes les souches ont pu développer à une température de **30°C (100%)**, 1et même à la température **37°C** à l'exception de la souche nommée **ID15** qu'on a suivi après 05 jours d'incubation seulement (**97 ,14%**).
- Aux températures **20°C** et **45°C** ; seules les souches nommée **ID 11** et **ID 33** n'ont pas pu croitre (**94 ,28%**).
- Tandis que pour la température **04°C** seules six souches ; qui sont respectivement : **ID 4, ID 7, ID 15, ID 23, ID 27, ID 33** n'ont présenté aucune croissance (**82% ,85%**).
- Selon la tolérance aux différentes concentrations de NaCl, on peut classer nos souches dans quatre catégories :

Celles qui tolèrent une concentration en NaCl jusqu'au **07%** présentées par une seule souche : **ID 17** (2%).

Celles qui tolèrent une concentration en NaCl jusqu'au **10%** présentées par les souches **ID 15, ID16, ID 33** (8%).

Celles qui tolèrent une concentration en NaCl jusqu' au **12%** : **ID31, ID 21, ID 07, ID 06, ID 07, ID 13 et ID 14** (17%).

Celles qui se développent jusqu'au **15%** ; (**25 souches**) (71%).

**En perspectives** pour cette étude, il est recommandé d'étudier la production d'une enzyme potentiellement produit par nos souches telle l'uréase, l'amylase et la caséinase, pour cela, il faut :

- Optimiser les conditions de culture de la souche sélectionnée pour une bonne production enzymatique.
- Et pourquoi ne pas extraire et purifier l'enzyme concernée.

Résumés

## Résumé

Notre travail s'est intéressé à l'étude de trente cinq (35) souches actinomycétales, nommées **ID 01** jusqu'au **ID35**, et a porté sur la mise en évidence de leur aptitude à produire quelques **enzymes** et à croître dans **certaines conditions physiologiques** ; de température, de pH, et à différentes concentrations en NaCl.

Les souches ont été d'abord purifiées sur le milieu **ISP2**, avant d'êtreensemencées sur des milieux spécifiques pour révéler les différentes activités enzymatiques recherchées. En fait, ces milieux contenaient du **l'amidon, de la cellulose, de la pectine, de la L-tyrosine, du lait écrémé, de l'urée, de la gélatine, du jaune d'œuf et du tween 80** et ceci pour détecter la production du **l'amylase, la cellulase, la pectinase, la L-tyrosinase, la caséinase, l'uréase, la gélatinase, la lécithinase et l'estérase** respectivement. Les souches ont été aussiensemencées sur :

- Le milieu **ISP 2**, puis incubées à différentes températures : **4°C, 20°C, 30°C, 37°C et 45°C**.
- Le milieu **ISP2** préparé et ajusté à différents **pH : 3, 5, 7 et 12** puis incubées à 30°C.
- Le milieu **ISP2** préparé à différentes **concentrations en NaCl : 7%, 10%, 12% et 15%** puis incubées à 30°C.

Les résultats ont démontré que :

- Toutes les souches étudiées, au nombre de trente-cinq (35), ont montré au moins une activité enzymatique, ce qui démontre leur importance
- **L'uréase** est l'enzyme la plus produite par nos souches (94 %), suivie par **l'amylase** (66%) puis **la caséinase** (65.71%).
- Aucune des souches n'a pu produire l'enzyme **pectinase**.
- Les souches **ID21** et **ID33** sont les plus actives, elles ont pu produire six (**06**) **enzymes** parmi neuf (09) enzymes (66.66%) : **l'amylase, la cellulase, la caséinase, la gélatinase, l'uréase et la L-tyrosinase** pour la 1<sup>ère</sup> souche et **l'amylase, la caséinase, la gélatinase, la lécithinase, l'uréase et la L-tyrosinase** pour la seconde
- La souche **ID16** est la moins active vu qu'elle n'a produit qu'une seule enzyme, **l'uréase** (11.11%).

Les tests physiologiques ont révélé que :

- Toutes les souches ont pu croître à une température de **30°C**, et la majorité ont montré une bonne croissance dans l'intervalle allant de **20°C à 45°C**.
- Toutes les souches ont pu croître à **pH= 07**, et la majorité ont montré une bonne croissance à un **pH alcalin de 12** (97.15%).
- Toutes les souches ont pu tolérer une concentration en **NaCl de 07 %**, et la majorité ont pu tolérer **une concentration élevée de 15%**, ce qui permet de les classer comme **des halotolérantes extrêmes** (71.42%).

**Mots clés :**

**Actinomycetes, enzymes, conditions physiologiques, température, pH, NaCl, amylase, cellulase , pectinase, milieu ISP2.**



## **Abstract**

The present study was attempted to determine the ability of thirty five (35) actinomycetes strains, identified from **ID 01** to **ID 35** ;to produce some enzymes and to grow under some physiological conditions.

The strains were first on **ISP<sub>2</sub> medium**, then inoculated on specific media to detect their enzymatic activities. The media contained: **starch, cellulose, pectin, tyrosin, skim milk, urea, gelatin, egg yolk and tween 80** to detect: **amylase, cellulase, pectinase, tyrosinase, caseinase, urease, gelatinase, lecithinase and esterase** production respectively.

The were also inoculated on:

- **ISP<sub>2</sub> media** then incubated at: **4°C, 20°C, 30°C, and 45°C**.
- **ISP<sub>2</sub> media** prepared and adjusted to serval **pH: 3, 5, 7 and 12**.
- **ISP<sub>2</sub> media** prepared with **7%, 10%, 12% and 15% of NaCl**.

The results revealed that:

- The strains showd the ability to produce at least one enzyme, which demonstrates their importance.
- **Urease** was the most produced at least one enzyme (94%), followed by **amylase and caseinase** (66%), then **tyrosinase** (60%).
- None of the strains was able to produce **pectinase**.
- The strains **ID 21** and **ID 33** were the most active (66.66%); they produce six (6) enzymes among nine (9): **amylase, cellulose, caseinase, lecithinase, urease, gelatinase and tyrosinase** for the first strain, **amylase, caseinase, lecithinase, urease, gelatinase and tyrosinase** for the second one.
- The strain **ID 16** was the least active; it produces just one enzyme: **urease** (11.11%).

The physiological experiments showed that:

- All the strains were able to grow at **30°C**. Most of them were able to grow over a temperature rang from **20°C to 45°C**.
- All the strains were able to grow at **neutral pH (7)**. Most of them were able to grow at an **alkaline pH (12)** (97.15%).

- All the strains to tolerate NaCl concentrations of 7%. Most of them were able to tolerate NaCl concentrations of up to 15 %; they are designed as «extreme halo tolerant» (71.41%).

**Key words:**

**Actinomycete, enzyme, physiological conditions, pH, temperature, NaCl concentrations, amylase, cellulase, pectinase, ISP<sub>2</sub> media.**

ملخص

لقد تمت دراستنا على (35) عزلة اكتينومييسيا معرفة من ID 01 إلى ID 35 و هدفت إلى تحديد قدراتها على إنتاج بعض الإنزيمات و على النمو تحت شروط فيزيولوجية معينة من درجة حرارة درجة حموضة و تراكيز ملح.

تمت تقنية العزلات مسبقا على وسط الISP<sub>2</sub> ومن ثمة زرعت على أوساط مغذية خاصة لتحديد مختلف النشاطات الإنزيمية حيث احتوى كل وسط مغذي على : النشاء (L'amidon) ، السيليلوز (La cellulose) ، البكتين

(La pectine) ، التيروسين (L-tyrosine) ، الحليب الكريمي (Le lait écrémé) ، اليوريا (L'urée) ، الجيلاتين

(La gélatine) ، صفار البيض (Le jaune d'œuf) ، التوين 80 (Tween 80) ، و هذا للبحث عن :

الاميلاز (L'amylase) ، السيلولاز (La cellulase) ، البكتيناز (La pectinase) ، التيروسيناز (La tyrosinase) ، الكازيناز (La caseinase) ، اليورياز (L'uréase) ، الجيلاتيناز (La gélatinase) ، الليسيتيناز (La lécithinase) و الاستيراز (L'estérase) على التوالي.

كما زرعت في اوساط :

- ISP<sub>2</sub> و وضعت تحت الحضانة في درجة حرارة: 4°، 20°، 30°، 37° و 45° درجة مئوية.
- ISP<sub>2</sub> معدل في درجة حموضة (pH): 3, 5, 7 و 12 و وضعت تحت الحضانة في درجة حرارة 30° درجة مئوية.
- ISP<sub>2</sub> معدل في تراكيز الملح (NaCl): 7%، 10%، 12% و 15% و وضعت تحت الحضانة في درجة حرارة 30° درجة مئوية.

بينت النتائج المحصل عليها ما يلي:

- أبدت جميع العزلات نشاطا إنزيميا واحدا على الأقل و هذا ما يوضح أهمية هذه العزلات.
- اليورياز (L'uréase) هو الإنزيم الذي أنتجته غالبية العزلات بنسبة مقدرة ب (94%) ، يليه إنزيم الاميلاز (L'amylase) و الكازيناز (La caseinase) بنسبة (66%) ثم التيروسيناز (La tyrosinase) (60%).
- لم تنتج أي من العزلات إنزيم البكتيناز (La pectinase).
- العزلتان ID 21 و ID 33 كانتا أكثر عزلات الاكتينومييسيا نشاطا إذ أنتجت 6 إنزيمات من ضمن 9 (66,66%) الاميلاز (L'amylase) ، السيلولاز (La cellulase) ، الجيلاتيناز (La gélatinase) ، اليورياز (L'uréase) و التيروسيناز (La tyrosinase) بالنسبة للعزلة الاولى ، الاميلاز (L'amylase) ، الجيلاتيناز (La gélatinase) ، الليسيتيناز (La lécithinase) ، اليورياز (L'uréase) و التيروسيناز (La tyrosinase) بالنسبة للعزلة الثانية.

أظهرت الاختبارات الفيزيولوجية ما يلي :

- تمكنت جميع العزلات من النمو في درجة حرارة 30° درجة مئوية، و أبدت الغالبية القدرة على النمو في فاصل درجة الحرارة من 20° إلى 45° درجة مئوية.
- تمكنت جميع العزلات من النمو في وسط معدل الحموضة (7)، و أبدت الغالبية القدرة على النمو في وسط قاعدي (12) (97,15%).
- تمكنت جميع العزلات من النمو في وسط يحتوي على تركيز ملح مقدر ب 7%، و أبدت الغالبية القدرة على النمو في وسط ذو تركيز عالي من الملح (15%) (71,42%).

### الكلمات المفتاحية :

اكتينوميسيا، إنزيمات، شروط فيزيولوجية، درجة حرارة، درجة حموضة، تراكيز ملح، اميلاز، سيلولاز، بكتيناز، ISP<sub>2</sub>.

Annexe

## Milieu de purification

- **Milieu ISP2 à 50% (International *Streptomyces* Project 2)**

Glucose	04g
Extrait de levure	04g
Extrait de malt	10g
Eau distillée	500 ml
Eau marine	500 ml
Agar	20 g

pH= 7.2

## Milieus pour tests enzymatiques

- **Gélose de Gause**

KNO <sub>3</sub>	01 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
MgSO <sub>4</sub>	0.5 g
NaCl	0.5 g
FeSO <sub>4</sub>	0.01 g
Amidon	20 g
Agar	30 g
Eau distillée	1000 ml

pH=7.4

- **Gélose à la cellulose**

Cellulose	0.5 g
NaNO <sub>3</sub>	0.1 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.1g
MgSO <sub>4</sub>	0.05 g
Extrait de levure	0.05 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH=7	

- **Gélose au lait écrémé**

Peptone	10 g
NaCl	05 g
Extrait de levure	03 g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml
Lait écrémé	100 g dans 1000 ml d'eau distillée

- **Gélose à la gélatine**

Peptone	05 g
Extrait de bœuf	03 g
Gélatine	04 g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml

pH=7

- **Milieu de Sierra additionné de tween 80**

Peptone	10 g
NaCl	05 g
CaCl <sub>2</sub> -1H <sub>2</sub> O	0.1 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	18 g
Tween 80	10 ml

pH=7.4



- **Gélose au jaune d'œuf (à 10%)**

Peptone	10 g
NaCl	10 g
Extrait de levure	05 g
Agar	20 g
Jaune d'œuf	100 ml
Eau distillée	1000 ml

pH=7

- **Gélose à la tyrosine**

Peptone	05 g
Extrait de viande	03 g
L-tyrosine	05 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH=7

- **La gélose MP7**

Glucose	05g
Pectine	05 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	04 g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	06 g
Extrait de levure	01 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	02 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.001 g
$\text{MgSO}_4$	0.2 g
$\text{CaCl}_2$	0.001 g
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0.00001 g
$\text{MnSO}_4$	0.00001 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.00007 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.00005 g
$\text{MoO}_3$	0.00001 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	15 g

pH=7.2-7.4

## Milieu pour testes physico-chimiques

### Croissance à différentes températures

- **Milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project 2)**

Glucose	04g
Extrait de levure	04g
Extrait de malt	10g
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g

pH= 7.2

### Croissance à différentes pH

- **Milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project 2) à pH= 03**

Glucose	04g
Extrait de levure	04g
Extrait de malt	10g
Eau distillée	1000 ml

pH= 03

- **Milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project 2) à pH= 05, pH=07, pH=12**

Glucose	04g
Extrait de levure	04g
Extrait de malt	10g

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

pH= 05 , pH=07, pH=12

## Croissance à différentes concentrations de NaCl

- **Milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project 2) à 7% NaCl**

Glucose 04g

Extrait de levure 04g

Extrait de malt 10g

NaCl 70 g

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

pH= 7.2

- **Milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project 2) à 10% NaCl**

Glucose 04g

Extrait de levure 04g

Extrait de malt 10g

NaCl 100g

Eau distillée 1000 ml

Agar 20 g

pH= 7.2

- **Milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project 2) à 12% NaCl**

Glucose	04g
Extrait de levure	04g
Extrait de malt	10g
NaCl	120 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g

pH= 7.2

- **Milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project 2) à 15% NaCl**

Glucose	04g
Extrait de levure	04g
Extrait de malt	10g
NaCl	150 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 g

pH= 7.2

## Réactifs

- **La solution de lugol**

Iodure de potassium	02 g
Iode métalloïde I <sub>2</sub>	01 g
Eau distillée	100 ml

- **La solution aqueuse de Rouge Congo à 1%**

Rouge Congo	01 g
Eau distillée	100 ml

- **La solution de chlorure de mercure**

HgCl <sub>2</sub>	15 g
HCl concentré	20 ml
Eau distillée	100 ml

- **La solution d'acétate de cuivre à 10 %**

Acétate de cuivre	10 g
Eau distillée	100 ml

- **La solution du NaCl (1N)**

NaCl	56,5 g
Eau distillée	1000 ml

# La liste des références

## A

- **Adriana E. Alvarenga, Claudia E. Pereira, Héctor A. Cristóbal and Carlos M. Abate (2013).** Cold-active Enzymes Bioprospecting from Actinobacteria Isolated from Beagle Channel, in South Extreme of Argentina. In : Actinobacteria Application in Bioremediation and Production of Industrial Enzymes edited by María Julia Amoroso, Claudia Susana Benimeli and Sergio Antonio Cuzzo , CRC Press 2013. Pages 274–284.
- **Avramenko SV and Galynkin VA (2010).** Features of biosynthesis of chitinolytic enzymes by *Streptomyces griseus* Var. *Streptomycini*. Applied Biochemistry and Microbiology. Vol.46, No4, pp. 405-408. .

## B

- **Becker B., Lechevalier M.P., Gordon R.E. and Lechevalier H.A. (1964).** Rapid differentiation between *Nocardia* and *Streptomyces* by paper chromatography of whole-cell hydrolysates. *Appl. Microbiol.*, **12**, 421-423
- **Bhat MK (2000).** Cellulase and related enzymes. In *Biotechnology Advances* 18: 355-383.

## C

- **Chacraborty, S., Khopade, A., Biao, Jian, W., Liu, X., et al., (2011)** Characterization and stability studies on surfactant, detergent and oxydant stable  $\alpha$ -amylase from marine haloalkaliphilic *Saccharopolyspora* sp. A9. *J. Mol. Cat. B: Enz.* 68(1), 52-58.
- **Chacraborty, S., Khopade, A., Kokarea, C., Mahadika, K. and Chopade, B. (2009)** Isolation and characterization of novel  $\alpha$ -amylase marine *Streptomyces* sp. D1. *J. Mol. Cat. B: ENZ.* 58, 17-23.

## D

- **Djaballah, C. (2010).** Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha de Ain M'lila. Mémoire de Magister en Microbiologie. Université Mentouri Constantine. 73 p.



## G

- **Ghanem, N.B., Sabry, S.A, El-Sherif, Z.M., Abu El-Elal, G.A. (2000).** Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *J Gen Appl Microbiol*, 46(3): 105–111.
- **Gazenko S. V., Reponen T. A., Grinshpan S. A., Willeke IC, (1998).** Analysis of airborne actinomyete spores with flurogenic substrates. *Applied and Environmental Microbiology*. 64:4410-4415.
- **.Goodfellow M and Williams ST (1983).** Ecology of actinomycetes. -Ann. Rev. Microbial. 37.p 189-216.
- **Goodfellow M and O'Donnell AG (1989).** Search and discovery of industrially significant actinomycetes. Proceeding of the 44th Symposium on Society for General Microbiology, (SCGM'89).Cambridge University Press, Cambridge.pp 343-383.
- **Gordon, R.E., Barnett, D.A., Handarhan, J.E., Pang, C.H.-N. (1974).** *Nocardia* *coeliaca*, *Nocardia* *autotrophica*, and the nocardin strains. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 24, 54, 63.
- **Gulve R and Deshmukh A (2012).** Enzymatic activity of Actinomycetes isolated from marine sediments. *Recent Research in Science and Technology*, 3(5):80-83.

## H

- **Hankin I, Zucher Mand Sands CC (1971).** Solid medium for the detection and enumeration of pectolytic bacteria. *Applied microbiology*. Vol 02, n°2. P 205-209.
- **Hirsch AM and Valdes M (2010).** *Micromonospora* : an important microbe for biomedicine and potentially for biocontrol and biofuels. *Soil Biol Biochem* 42:536–542
- **Hozzein WN (2015 ).** Biodiversity of Halophilic and Halotolerant Actinobacteria. In : *Halophiles Biodiversity and Sustainable Exploitation*. Dinesh K. Maheshwari and Meenu Saraf Editors. Springer. P 6-7.

- **Hristova I , Nedelcheva P , Gushterova A, Paskaleva D and Krastanov A (2012).** Isolation of thermophilic actinomycetes producers of thermostable proteases. *Microbes in Applied Research*: pp. 423-426.

## J

- **Jang HD and Chang KS (2005).** “Thermostable cellulases from *Streptomyces* sp: scale-up production in a 50-l fermenter,” *Biotechnology Letters*, 27(4), pp. 239–242.
- **Jensen, P.R., Dwight, R., Fenical, W. (1991).** Distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. *Appl Environ Microbiol*, 57(4):1102–1108.
- **Jiang C and Xu L (1993).** Actinomycete diversity in unusual habitats. *Actinomycetes*. 4(2): 47-57.

## K

- **Keyhani NO et Roseman S (1999).** Physiological aspect of chitin catabolism in marine bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta*. (14)73: 108-112.
- **Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Hamdiken, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., Boiron, P. (2005).** Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north–east of Algeria. *J Med Mycol*, 15(1) : 45–51.

## L

- **Larpent, J.-P., Larpent-Gourgaud, M. (1985).** *Éléments de Microbiologie*. Hermann. Paris. 264 p.
- **Lechevalier, M. P. and Lechevalier, H. (1970):** Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 20,435-443.

## M

- **McKinney. R.E (2004).** Environmental Pollution Control Microbiology. CRC Press : New York. P: 448.
- **Minitto E, Pasqualini ML, Trindade OM and Van Der Stand ST (2014).** Enzyme characterization of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants. Journal of Advanced Scientific Research. 5(2): 16-23.
- **Mariat F et Sebald M (1990).** Actinomycètes. In : Bactériologie Médicale. Le Minor et Véron Eds. 2ème édition. Flammarion. Paris. P 935- 945.
- **Mobini-Dehkordi M and Fahime AJ (2012).** Application of alpha-amylase in Biotechnology. Journal of Biology and Today's world. pp: 39-50.

## N

- **NaziaChaudhary and ShraddhaPrabhu(2016).** ThermophilicActinomycetesfrom Hot Water Spring Capable of Producing Enzymes of Industrial Importance. International Journal of ResearchStudies in Biosciences (IJRSB) Volume 4, Issue 6, June 2016, PP 29-35.
- **Narasaiah BC, Leelavathi V, Manne AK, Swapna G, Paul M and Dasu M (2015).**Screening of *Streptomyces albus* CN-4 for enzyme Production and Optimization of L-Asparaginase. International Journal of Scientific and Research Publications. 5(3).pp1-8.

## O

- **Omura, S. (1992).** The search for bioactive compounds from microorganisms. Springer, Verlag, New York
- **Oskay M., Tamer A. and Azeri C., (2004).** Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. Afr J Biotechnol., 3(9), 441–446.

## P

- **Perry J.J., Staley J.T., Lory S (2004).** Microbiologie .Édition Dunod
- **Pincky P (2012).** In vitro Cellulose Rich Organic Materiel Degradation by Cellulytic *Streptomyces albaspinus* ( MTCC 8768).Mal.J.Microbiol.Vol 8(3)2012,pp.164-169.
- **Prescott L. M., Harley J.P. et Klein .D.A.(2003).** Microbiologie. De Boeck et Larcier. France. P 537
- **Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein D.A. (2007).** Microbiologie. De Boek & Larcier, Bruxelle: 805–825.
- **Pridham and Gottlieb (1948):** The utilization of carbon compounds by actinomycetales as an aid for species determination. J. Bacteriol. 56 ; 107-114.

## R

- **Rangaswami. G. Bagyaraj. D. J. Bagyaraj D.G (2004).** Agricultural Microbiology. PHI: New Delhi. P: 440.
- **Raval (2012).**Biotransformation of a single amino acid L-tyrosine into bioactive molecular L-DOPA. Int JSci;2:2250-3153
- **Roy S, Das I, Munjal M, Karthinkl, Kumar G, Kumar S, and Rao RVB (2014).**Isolation and characterization of tyrosinase produced by marine anterobactéria and its application in the removal of phenol from aqueous environment. Front. Biol.9(4): 306-316.

## S

- **Shirling, E.B. and Gottlieb, D (1966).**Methods for characterization of *Streptomycesspecies*. Int. J. Syst. Bacteriol. 16: 313–340.
- **Sierra G (1957).** A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. J. Microbial Seriol., 23: 15-22.
- **Stamford TLM, Stamford NP, Coelho LCBB and Araujo JM (2001).** Production and characterization of a thermostable  $\alpha$ -amylase from *Nocardioopsis sp.* endophyte of yambean . Bioresource Technology,vol.76, no.2,pp. 137–141,2001.

- **Staneck J. L. and Roberts G. D. (1974)**. Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. *Appl Microbiol* 28, 226–231.
- **Suntari M., Lignell U., Hyvarinen A. and Nevalainen A., (2002)**. Media for cultivation of indoor *streptomycetes*. *J. Microbiol. Meth.* 1668-1674.

## T

- **Tresner et al., (1968)**: Differential tolerance of *Streptomycetes* to sodium chloride as a taxonomic aid. *Applied microbiology*, Vol. 16, No. 8, p. 1134-1136.
- **Tsukamura M (1966)**. Adansonian classification of mycobacteria. *J Gen Microbiol.* 45:253–273.

## V

- **Ventura. M; Canchaya. C; Tauch. A; Chandra. G; Fitzgerald. G.F; Chater. K.F and Van Sinderen.D. (2007)**. Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 71 (3), 495–548.

## W

- **Wang L; Huang. Y; Liu. Z; Goodfellow. M & Rodriguez. C (2006)**. *Streptacidiphilus oryzae sp. nov.* an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. In. *J. Sys. Ev. Microbiol.* Vol 56. Pp: 1257-1261.
- **Williams and Cross (1971)**. Isolation, purification, cultivation and preservation of actinomycetes. *Methods Microbiol.* 4 : 295-334.

## Y

- **Yugal Kishore Mohanta (2014).** Isolation of Cellulose-Degrading Actinomycetes and Evaluation of their Cellulolytic Potential, Bioengineering and Bioscience. 2(1),1-5.

**Z**

- **Zhou X, Huang J, Ou Z, Wang H and Wang R (2000).** Conditions of enzyme production and properties of alkaline lipase by *Streptomyces* Z94-2. Wei sheng Wu Xue Bao.40, 75-79.

# Diversité métabolique et physiologique de quelques souches d'actinomycètes

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

## Résumé

Notre travail s'est intéressé à l'étude de trente cinq (35) souches actinomycétales, nommées **ID 01** jusqu'au **ID35**, et a porté sur la mise en évidence de leur aptitude à produire quelques **enzymes** et à croître dans **certaines conditions physiologiques** ; de température, de pH, et à différentes concentrations en NaCl.

Les résultats ont démontré que :

- Toutes les souches étudiées, au nombre de trente-cinq (35), ont montré au moins une activité enzymatique, ce qui démontre leur importance
- **L'uréase** est l'enzyme la plus produite par nos souches (94 %), suivie par **l'amylase** et **la caséinase** (66%) puis la L-tyrosine (60%).
- Aucune des souches n'a pu produire l'enzyme pectinase.
- Les souches ID21 et ID33 sont les plus actives, elles ont pu produire six (06) enzymes parmi neuf (09) enzymes (66.66%). La souche **ID16** est la moins active vu qu'elle n'a produit qu'une seule enzyme, **l'uréase** (11.11%).

Les tests physiologiques ont révélé que :

- Toutes les souches ont pu croître à une température de **30°C**, et la majorité ont montré une bonne croissance dans l'intervalle allant de **20°C à 45°C**.
- Toutes les souches ont pu croître à **pH= 07**, et la majorité ont montré une bonne croissance à un **pH alcalin de 12** (97.15%).
- Toutes les souches ont pu tolérer une concentration en **NaCl de 07 %**, et la majorité ont pu tolérer **une concentration élevée de 15%**

**Mots clés :** Actinomycetes, enzymes, conditions physiologiques, température, pH, NaCl, amylase, cellulase , pectinase, milieu ISP2.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Boudmagh Alaou Eddine

Rapporteuse : Meriane Ilhem

Examineur : Kitouni Mahmoud

(PR. UFM, Constantine I).

(M. A. UFM, Constantine I).

(PR. UFM, Constantine I).

Date de soutenance : 29/06/2017