



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé

**Evaluation de l'activité enzymatique d'une souche
d'actinobactéries**

Présenté par : ALLOUANI Mohamed
RIGHI Hamza

Soutenu le : 16/09/2019

Devant le jury :

Président: M^f BENSUILAH. T MCB (Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)
Encadrant: M^{me} SOUAGUI. Y MCB (Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)
Examineur : M^{me} ABED. H MCB (Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Année universitaire : 2018/2019

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, nous tenons à remercier « Allah » qui nous a données la force et la volonté pour terminer ce modeste travail.

Nous aimerons tout d'abord à exprimer toute notre reconnaissance et notre respect à notre encadrante Dr. SOUAGUI.Y, non seulement pour nous avoir encadré tout le long de ce travail avec enthousiasme et dynamisme mais aussi pour ses précieux conseils, ses encouragements et son parfait sens de la responsabilité. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous tenons à remercier les membres de jury :

Dr. Bensouïlél T. d'avoir bien accepté de présider les membres de jury, et Dr. Abed H. d'avoir accepté d'examiner le document.

Nous remercions chaleureusement M. KHALIL l'ingénieure de laboratoire de phytopathologie et Mme. Guahfif W. pour ses précieux conseils tout au long de notre travail pratique. Merci pour votre bonne humeur.

Nous tenons à remercier tous les enseignants qui nous ont formés durant ces 5 années.

Nous tenons à exprimer nos sentiments de reconnaissance à toutes les personnes qui ont participé à ce travail, qui ont appris beaucoup de choses et qui nous ont aidé, conseillé et soutenu à tout moment afin de réalisé ce travail.

DEDICACES

Je remercie ALLAH le Généreux pour m'avoir guidé vers la lumière de la recherche du savoir et de la science.

Je dédie ce modeste travail à :

A MON CHÈRE PÈRE : SAKHRI

Qui ne cesse constamment de m'entourer de son affectation grandissant, de m'enrichir de son expérience, de me prodiguer ses conseils, et qui mon permis de mieux comprendre la vie. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance infinie pour les énormes sacrifices consentis à mon éducation.

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : SALIMA

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes frères : Tahar, Omar. A mes chères sœurs : Asma, Naïma, Assia et Hadjer

A ma famille de grande jusqu'au petit

A mes collègues : Hamza, Maria, Meriem et Imane

A mes chères amies : Seddik, Oussama, Amine, Younes, Saleh, Laid, Abdelmalek, Abdelhak, Sarra, Salim, Mohamed, Miloud, Omar, Aymen, Hamza.

A mes connaissances et à tous qui sont chères à mon cœur.

Mohamed

DEDICACES

*Je remercie **ALLAH** le Généreux pour m'avoir guidé vers la lumière de la recherche du savoir et de la science.*

Je dédie ce modeste travail à :

A MON CHÈRE PÈRE : SALEH

Qui ne cesse constamment de m'entourer de son affectation grandissant, de m'enrichir de son expérience, de me prodiguer ses conseils, et qui m'a permis de mieux comprendre la vie. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance infinie pour les énormes sacrifices consentis à mon éducation.

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE : ZAHIA

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes frères : Antar, Ayoub, Younes. A ma chère sœur : Maram

A ma famille de grande jusqu'au petit

A mes collègues : Mohamed, Maria, Meriem et Imane

A mes chères amies : Salim, Himo, Sifo, Walid, Swotch, Bachir, Zino, Jalal, Zina, Degloucha, Oussama, Abdelhak, Mostapha, Amine, Younes, Omran, Khaled, Tahar, Seddik, Aymen.

A mes connaissances et à tous qui sont chères à mon cœur.

HAMZA

Résumé

La présente étude a porté sur l'évaluation de l'activité enzymatique d'une souche d'actinobactéries du genre *Streptomyces* (dénomination BS05). Après incubation la souche donne des colonies circulaires, bombées, d'aspect poudreux et de couleur blanc pâle. Des tests de mise en évidence de l'activité enzymatique ont été réalisés, grâce à la technique des cylindres d'agar, en utilisant plusieurs substrats (amidon, cellulose, gélatine ...). La souche BS05 a montré de bonnes activités cellulase et amylase, ainsi qu'une activité lipase, une faible activité de dégradation de la caséine et absence de la dégradation de la gélatine. Les actinobactéries possèdent des activités cellulase et amylase intéressantes, ce qui corrobore avec nos résultats obtenus avec la souche BS05.

Mots clés : *Streptomyces*, Actinobactéries, Activité enzymatique, Substrat, Cylindres d'agar.

Abstract

The present study focused on the evaluation of the enzymatic activity of an *Actinobacteria* strain *Streptomyces* BS05. After incubation, the strain gives colonies circular, convex, powdery appearance of pale white color. Demonstration tests of the enzymatic activity were carried out, using agar cylinders technique and using several substrates (starch, cellulose, gelatin ...). Strain BS05 showed good cellulase and amylase activities, as well as lipase activity, low casein degradation activity and absence of gelatin degradation. The *Actinobacteria* strains have good cellulose and amylase activities, which corroborates with our results obtained with BS05 strain.

Keywords: *Streptomyces*, *Actinobacteria*, Enzymatic Activity, Substrate, Agar cylinders.

ملخص

ركزت هذه الدراسة على تقييم النشاط الإنزيمي لسلسلة الأكتينوبكتيريا من نوع *Streptomyces* (تسمية BS05). أجريت عدة اختبارات للكشف عن النشاط الإنزيمي بواسطة تقنية أسطوانات الآجار، باستعمال العديد من المواد (النشاء، السليلوز، الجيلاتين...) بعد الحضانة، السلسلة أعطت مستعمرات دائرية، محدبة، ذات مظهر مسحوقي ولون أبيض شاحب. السلسلة BS05 أظهرت قدرتها في هدم السليلوز والسكر، كذلك أظهرت نشاط دهني، نشاط ضعيف في تفكيك مادة الكازيين وغياب نشاط تفكيك مادة الجيلاتين. الأكتينوبكتيريا لديها نشاط سليلوزي واميلازي مهم جدا، والذي يتوافق مع نتائجنا للسلسلة المحصل عليها BS05.

الكلمات المفتاحية : الأكتينوبكتيريا، النشاط الإنزيمي، *Streptomyces*، مادة، أسطوانات الآجار .

Tableau N°	Titre	Page
Tableau I	Différentes classes d'enzymes	8
Tableau II	Quelques enzymes produites par les actinobactéries	8

Figure N°	Titre	Page
1	Cycle de vie des <i>Streptomyces</i> sp.	3
2	Aspect macromorphologique de la souche BS05 cultivée sur milieu M2 après 14 jours d'incubation à 30°C.	16
3	Observation microscopique des mycéliums aériens et de substrat de la souche BS05 à l'objectif x4 (A) et l'objectif x10 (B) .	17
4	Résultat de l'activité amylasique de la souche BS05. Après 7 jours (A), après 10 jours (B), après 14 jours (C) d'incubation à 30°C.	18
5	Résultat de l'activité cellulase de la souche BS05. Après 7 jours (A), après 10 jours (B), après 14 jours (C) d'incubation à 30°C.	18
6	Résultat de la dégradation de la caséine par la souche BS05 après 7 et 10 jours d'incubation à 30°C.	19
7	Résultat des tests de la dégradation de la gélatine par la souche BS05.	19
8	Résultat de l'activité lipasique de la souche BS05 après 7 et 10 jours d'incubation à 30°C.	20
9	Résultat de l'activité estérasique par la souche BS05 après 7 et 10 jours d'incubation à 30°C.	20
10	Résultat de l'activité de la dégradation de la lécithine par la souche BS05 après 7 et 10 jours d'incubation à 30°C.	21
11	Résultat du test de la catalase de la souche BS05.	22

Liste des abréviations

B.B.A : Bordj Bou Arreridj.

CMC : Carboxyméthylcellulose

ISP : International *Streptomyces* Project.

M2 : La gélose Williams.

S : *Streptomyces*.

Sp : Species (espèce).

Spp : Species plurimae (plusieurs espèces).

Table des Matières

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Le genre <i>Streptomyces</i>	2
I.1 Définition et caractéristiques principales	2
I.2. Mode de reproduction.....	3
I.2.1. Germination des spores	4
I.2.2. Mycélium primaire	4
I.2.3. Mycélium secondaire.....	4
I.2.4. Les spores	4
I.3. Génétique des <i>Streptomyces</i>	4
I.4. Ecologie des <i>Streptomyces</i>	4
I.5. Taxonomie des <i>Streptomyces</i>	5
I.5.1. Détermination des espèces du genre <i>Streptomyces</i>	6
I.6. Bioactivité des <i>Streptomyces</i>	6
Chapitre II : Les enzymes des <i>Streptomyces</i>	7
II.1. Définition des enzymes.....	7
II.2. Classification des enzymes	7
II.3. Les enzymes produites par les actinobactéries	8
II.3.1. Les Cellulases.....	9
II.3.2. Les protéases	9
II.3.3. Les kératinases	9
II.3.4. Les amylases	9
II.3.5. Les xylanases.....	10
II.3.6. Les lipases	10
II.3.7. Les chitinases	10
II.3.8. Les pectinases.....	10
II.3.9. La L-asparaginase.....	11
Matériel et méthodes	
I. Durée et lieu du travail.....	12

II. Matériels biologiques	12
II.1. Souche d'actinobactéries	12
III. Matériel non biologique	12
III.1 Matériels analytique	12
III.2. Milieux de cultures	12
IV.Méthodes	13
IV.1. Repiquage de la souche BS05	13
IV.2. Etude morphologique de la souche BS05	13
IV. 2.1. Caractères macromorphologiques.....	13
IV.2.2. Caractères micromorphologiques	13
V. Mise en évidence des activités enzymatique	13
V.1. Recherche des carbohydrases	13
V.1.1. Recherche de l'amylase.....	13
V.1.2. Recherche de la cellulase	13
V.2. Recherche des protéinases	14
V.2.1. Recherche de la caséinase.....	14
V.2.2. Recherche de la gélatinase	14
V.3. Recherche des lipases	14
V.3.1. Recherche des estérases	14
V.3.2. Recherche de la lécithinase	14
V.4. Recherche de la catalase	15
Résultats et discussion	
I. Etude morphologique de la souche BS05	16
I.1. Etude macromorphologique	16
I.2. Etude micromorphologique.....	17
II. Mise en évidence de l'activité enzymatique de la souche BS05	17
II.1. Dégradation des sucres	17
II.1.1. Dégradation de l'amidon.....	17
II. 1.2. Dégradation de la cellulose	18
II.2. Dégradation des protéines.....	19
II.2.1. Dégradation de la caséine.....	19
II.2.2. Dégradation de la gélatine.....	19
II.3. Dégradation des lipides.....	20
II.3.1. Dégradation du tween 80.....	20
II.3.2. Dégradation de la lécithine.....	21

Table des Matières

II.4. Teste de la catalase	21
Conclusion et perspectives	23
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Introduction

Les microorganismes sont de remarquables agents de dégradation. En effet, dans leur environnement naturel, ils participent à la biodégradation de la matière organique, même la plus complexe comme la cellulose, la lignine, la chitine, la pectine et le xylan, etc., et ce par production de diverses enzymes extracellulaires (**Mswaka et Magan, 1998 ; Tuomela et al., 2000 ; Perez et al., 2002**).

Avec l'essor de la biotechnologie, des procédés exploitant cette propriété microbienne ont été développés. Les microorganismes sont alors utilisés en bioremédiation afin de dépolluer l'environnement (**Lu et al., 2004 ; Opatokun et al., 2011**), ou en diverses industries pour des applications variées.

Les actinobactéries, des bactéries à Gram positif, à haut coefficient de Chargaff (GC%), montrant une diversité morphologique marquée (**Goodfellow et O'Donnell, 1989**), ont été et demeurent la source la plus féconde pour tous les types de métabolites bioactifs (**Ravikumar et al., 2011**). Elles sont connues pour leur aptitude à dégrader des métabolites et de produire plusieurs enzymes tels que : la chitinase (**Gomez et al., 2000 ; Kim et al., 2003**) , la xylanase (**Mansour et al., 2003**) , l' α -amylase (**Syed et al., 2009**) , la cellulase (**Aboul-Enein , 2010 ; Rathan et Ambili , 2011**), la protéase (**Vonothini et al., 2008**), la lipase (**Vujaklija et al., 2002**) , la pectinase (**Arijit et al., 2013**) etc.

À ce titre, l'objectif premier de ce travail est l'étude de l'activité enzymatique d'une souche d'actinobactéries du genre *Streptomyces*.

- ❖ La première partie de ce travail est intéressé à l'étude théorique par une recherche bibliographique qui cadre le sujet.
- ❖ La seconde partie dite expérimentale portera sur l'étude morphologique de la souche d'actinobactéries ainsi que la mise en évidence de son activité enzymatique.
- ❖ Les résultats obtenus sont comparés et discutés dans la troisième partie.
- ❖ Enfin, la dernière partie concernera la conclusion finale et soulignera les perspectives de ce travail.

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

Les actinobactéries sont considérées comme étant des bactéries à Gram positif avec un coefficient de Chargaff élevé. A l'origine, ces microorganismes ont été définis comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et les mycètes (**Kuster., 1968**). Leurs caractéristiques chimiques, physiologiques, et génétiques les situent parmi les procaryotes (**Williams et al., 1973**). La paroi de ces germes ne possède ni chitine ni cellulose, par contre elle renferme le peptidoglycane qui est le constituant principal de la paroi des bactéries avec des acides tel que l'acide diaminopénilique avec ses différentes formes : LL et DL (mésos), l'acide diaminobutyrique, la lysine... etc.

Ce qui démontre qu'il s'agit vraiment de bactéries, c'est l'absence de stérols au niveau de la membrane cytoplasmique et le matériel génétique dépourvu de la membrane nucléaire (**Lechevalier, 1985 ; Mariat et Sebald, 1990**).

La morphologie de certaines de ces dernières rappelle celle des moisissures car elles se développent sous forme de filaments appelés mycélium qui porte le plus souvent des spores ou des conidies. Le mycélium peut se présenter sous deux aspects : Un mycélium végétatif et un mycélium aérien (**Sulaiman et al., 2012**).

Les actinobactéries sont surtout connues pour la production de métabolites primaires tels que les enzymes et d'autres dits secondaires tels que les antibiotiques.

Chapitre I : Le genre *Streptomyces*

I.1 Définition et caractéristiques principales

Le mot *Streptomyces* regroupe tous les membres du genre *Streptomyces*, c'est le genre d'actinobactéries le plus abondant et surtout le plus performant dans la production de métabolites secondaires importants. Les *Streptomyces* sont donc des organismes procaryotes qui possèdent une structure filamenteuse. Cela explique leur dénomination : du Grec Strepto.myces : Streptos : tordu ou courbé et myces : champignons (**Williams et al., 1989**).

Les *Streptomyces* sont des organismes aérobies, à coloration de Gram positive, chimioorganotrophes, catalase positive qui appartiennent à l'ordre *Actinomycetales*, la classe *Actinobacteria* (**Stackebrandt et al., 1997**).

Ils possèdent un métabolisme oxydatif et un taux G+C% compris entre 69 et 78% (**Korn-Wendisch et Kutzner, 1992 ; Hodgson, 2000 ; Stackebrandt et Schumann, 2006**).

Synthèse bibliographique

La présence de l'acide LL-diaminopimelique et de glycine et l'absence de sucres caractéristiques est typique pour ce type de paroi cellulaire (Uchida et Seino, 1997 ; Stackebrandt et Schumann, 2006). Ils tendent à croître lentement en formant des filaments ramifiés de 0.5 à 2 μ m de diamètre, qui fragmentent rarement c'est le mycélium végétatif ou mycélium de substrat. Le mycélium aérien forme par contre à sa maturité des chaînes de spores non mobiles. Leur croissance donne naissance à des colonies assez lisses au début qui deviennent poudreuses, floconneuses ou compacts après développement du mycélium aérien. Les *Streptomyces* produisent un grand nombre de pigments responsables des différentes couleurs du mycélium en plus des pigments diffusibles. Leur température optimale de croissance est située entre 25°C et 35°C (à l'exception des espèces thermophiles ou psychrophiles) et leur pH optimum entre 6,5 et 8 (Stackebrandt et Schumann, 2006).

I.2 Mode de reproduction

Le cycle biologique est comparable à celui de nombreux *Micromycètes* eucaryotiques. Les *Streptomycetales* possèdent une structure de procaryotes avec un cycle biologique semblable à celui de certains champignons (Figure 1, Floyd et al, 1987).

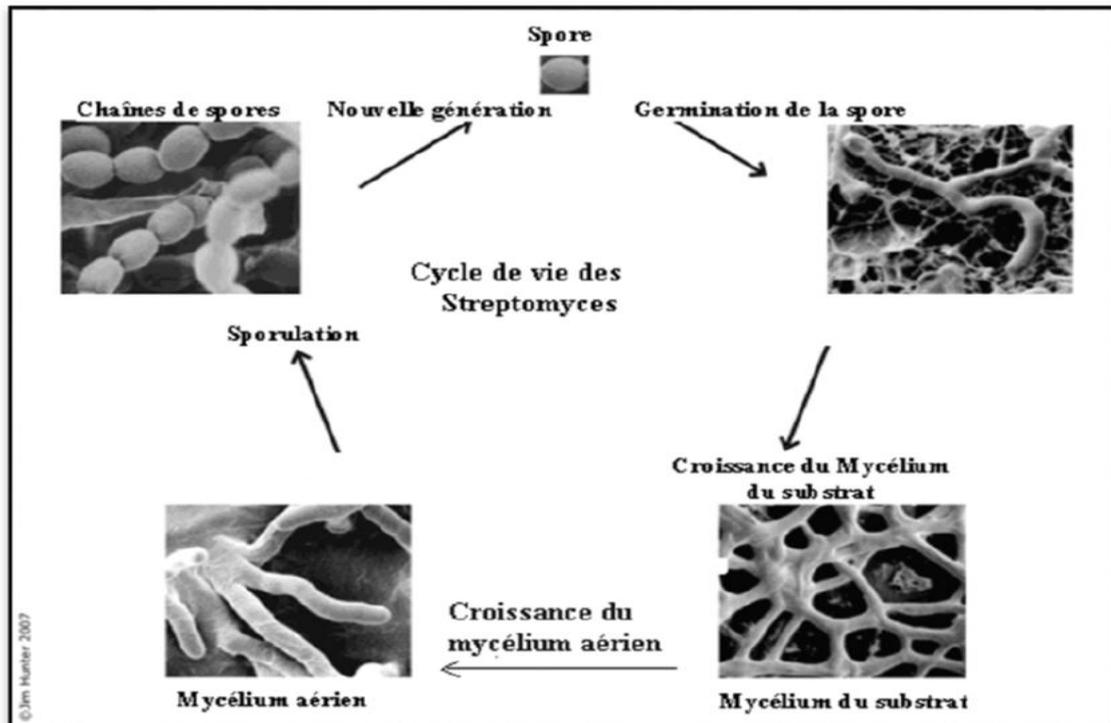


Figure 1 : Cycle de vie des *Streptomyces* sp. (Floyd et al., 1987).

Synthèse bibliographique

I.2.1. Germination des spores

Quatre étapes peuvent être distinguées ; l'activation, l'initiation, l'émergence du tube germinatif et sa croissance, pour lesquelles le degré hygrométrique joue un rôle important.

I.2.2. Mycélium primaire

Le tube de germination va croître et donner des hyphes qui se ramifient intensément. Ce mycélium se développe sur et dans le substrat. Il est dénommé mycélium primaire, mycélium végétatif ou mycélium de substrat. Eventuellement pigmenté, il forme des parois transversales isolant les zones les plus âgées.

I.2.3. Mycélium secondaire

Sur le mycélium primaire va se développer un mycélium secondaire aérien. Ces hyphes sont peu ramifiés et pourvues d'une enveloppe hydrophobe. Elles sont plus épaisses que les hyphes primaires. Ce mycélium est généralement pigmenté (gris, vert, rouge etc.) sur ce mycélium aérien se forment des spores.

I.2.4. Les spores

Les hyphes aériens subissent une série de changements qui donneront naissance aux spores. Ces spores sont soit isolées, soit groupées en chaînes ou même enfermées dans un sporange ou conidies. Ces derniers libèrent des spores isolées ou groupées en chaînes. Elles sont de diverses formes, d'aspect lisse et ridé (**Mighélez et al., 2000**).

I.3. Génétique des *Streptomyces*

Le génome des *Streptomyces* est composé d'une molécule linéaire d'ADN contenant huit millions de paires de bases ce qui en fait un des plus grands génomes bactériens. Ils possèdent également des plasmides linéaires de très grandes tailles ainsi que, plus classiquement, des plasmides circulaires. Par ailleurs, les génomes de *Streptomyces coelicolor*A3(2), souche la plus communément étudiée en laboratoire, et celui de *Streptomyces avermitili*, souche utilisée dans l'industrie, ont été intégralement séquencés (**Bentley et al. 2002 ; Ikeda et al. 2003**).

Tous les membres de ce genre sont caractérisés par leur grande teneur en GC% qui varie entre 69 et 78% (**Larpen et Sanglier, 1989**).

I.4. Ecologie des *Streptomyces*

Les *Streptomyces*, si nombreux, se rencontrent presque partout (**Lacey, 1997**). Le sol à partir duquel ils peuvent coloniser de nombreux biotopes en est le réservoir le plus riche (**Xu et al., 1996 ; Katsifas et al., 1999 ; Dhanasekaran et al., 2009**). Ils représentent une partie

Synthèse bibliographique

significative de la population microbienne du sol dont le nombre diminue au fur et à mesure que la profondeur augmente (**Waksman, 1963**).

Les *Streptomyces* sont moins prédominants que les autres bactéries mais bien plus que les moisissures. Toutefois, les streptomycètes sont en général plus nombreux que presque tous les autres groupes bactériens considérés individuellement. Leur nombre, variable selon les biotopes, atteint souvent 10^6 par gramme de terre sèche (**Larpen et Sanglier, 1989**) Dans les sols sahariens, les *Streptomyces* constituent 15 à 60% de la microflore tellurique avec une prédominance des *Streptomyces* et quelquefois des *Micromonospora*.

Ce pourcentage est encore plus élevé (jusqu'à 91%) dans les horizons de sol situés entre 1 et 2 mètres de profondeur (**Nouasri, 1996**).

Les *Streptomyces* colonisent les eaux douces, ils produisent des composés volatiles responsables des goûts et des odeurs terreuses qui apparaissent parfois dans les eaux de consommation tels que la geosmine et la 2- méthyle- isoborneol (**Zaitlin et al., 2003 ; Madigan et Martinko, 2007**), selon **Cavala et Eberlin (1994)**, la production de ces substances est plus importante chez les espèces possédant un mycélium végétatif abondant. Les *Streptomyces* ont également été détectés dans les eaux marines mais à de faibles concentrations en comparaison avec les eaux douces (**Xu et al., 1996**) et dans l' air ou généralement ils sont présents sous forme de spores (**Reponen et al., 1998**).

Les *Streptomyces* sont capables de se développer sur une large gamme de substrats (**Andreyuk et al., 1990**), Ils possèdent un grand pouvoir d'adaptation aux conditions de l'environnement et peuvent en même temps l'influencer, ainsi on les retrouve dans les eaux polaires gelées en permanence tout comme dans les sols chauds et secs, dans le pétrole brut, les sols alcalins, les sols hautement contaminés par les métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés (**Goodfellows et Williams, 1983 ; Lechevalier, 1988 ; Sanglier et Trujillo, 1997 ; Hasavada et al., 2006 ; Lakshmipathy et Kanabiran, 2009**). Ils sont mêmes présents, comme espèces non pathogènes a la surface des feuilles d'arbres fruitiers comme les feuilles de vigne (**Vercesi et al., 1990**) et dans les racines de blé (**Coombs et Franco, 2003**) mais d' autres provoquent des dégâts considérables sur la pomme de terre (*S. scabis* et *S. acidiscabis* responsables de la gale de pomme de terre) (**Loria et al., 1997**). Par contre, ils semblent être absents des eaux minières très acides (pH<1) et des sources thermales très chaudes d' origine volcanique (**Xu et al., 1996 ; Hwanget al., 2001**).

I.5. Taxonomie des *Streptomyces*

Le genre *Streptomyces* a été décrit pour la première fois par **Waksman et Henrici** en 1943 et classé dans la famille des *Streptomycetaceae* en se basant sur la morphologie et la

Synthèse bibliographique

composition de la paroi cellulaire. Le développement de la classification numérique a permis la reclassification de six autres genres de cette famille (*Actinopycnidium*, *Actinosporangium*, *Chainia*, *Elytrosporangium*, *Kitasatoa* et *Microellobosporia*) dans le genre *Streptomyces*. Ces anciens systèmes numériques utilisant les caractères phénotypiques sont fondamentalement changés par l'introduction des caractéristiques de la biologie moléculaire dans les systèmes de classification (**Stackebrandt et al., 1997**).

I.5.1. Détermination des espèces du genre *Streptomyces*

Le nombre d'espèces du genre *Streptomyces* a augmenté de 40 à plus de 3000, mais certaines d'entre elles étaient considérées comme synonymes. En 1964, le projet international des *Streptomyces* (ISP) a essayé de standardiser les critères de détermination de l'espèce **Shirling et Gottlieb 1968, 1969, 1972** ont décrit des critères standards clés pour la détermination des espèces :

- La forme des chaînes de spores (rectiflexible pour les chaînes droites ou flexueuses, spirale pour les chaînes hélicoïdales).
- La couleur du mycélium aérien sporule avec sept classes de couleur (blanc, gris, jaune, rouge, bleu, vert et violet).
- La production de pigments mélanoides bruns à noirs.
- L'ornementation de la paroi sporale (lisse, verruqueuses, échinulée ou chevelue).
- La présence ou non de pigments solubles.
- La capacité d'utiliser certaines sources de carbone pour se développer (D-glucose, D-xylose, D-galactose, D-raffinose, D-mannitol, D-fructose, L-arabinose, L-rhamnose, i-inositol et saccharose).
- La composition cellulaire en acides aminées, en sucres et en lipides etc.
- Détermination du (G+C) %, séquençage des gènes de l'ARNr 16S, Hybridation ADN-ADN.

I.6. Bioactivité des *Streptomyces*

Les *Streptomyces* produisent 70 à 80% des substances bioactives naturelles connues à application pharmaceutique ou agrochimique (**Berdy, 2005 ; Manteca et al., 2008**).

Continuellement de nouveaux métabolites à différentes activités biologiques sont isolés de souches de *Streptomyces* (**Getha et al., 2005 ; Dastager et al., 2009 ; Oskay, 2009 ; Kang et al., 2010**). Le premier et le plus important produit des *Streptomyces* ce sont les antibiotiques (**Watve et al., 2001**). A partir de 1955 le genre *Streptomyces* devient, et va rester le grand fournisseur d'antibiotiques nouveaux (**Hwang et al., 2001 ; Marinelli, 2009**). Ils constituent

Synthèse bibliographique

la source de substances antibactériennes, antifongiques (**Hopwood,2007**), antitumorales, antiparasitaires (**Dietera et al.,2003 ; Hopwood, 2007 ;Lakshmipathy et al., 2009**), antivirales, insecticides, pesticides et herbicides, en plus des substances pharmacologiques comme les immuno-modulateurs (substances immunosuppressives et immunostimulantes), les substances vaso-actives et les agents neurologiques(**Sanglier et Trujillo, 1997 ; Petrosyan et al., 2003**).

Les enzymes sont les plus importants produits des *Streptomyces* après les antibiotiques (**Nascimento et al.,2002**), comme les protéases, les lipases, les cellulases, les amylases, les pectinases et les xylanases (**Vonothini et al., 2008 ; Syed et al., 2009**).

Chapitre II : Les enzymes des *Streptomyces*

II.1. Définition des enzymes

Les enzymes sont des protéines qui exercent une activité catalytique spécifique d'un très grand nombre de réactions chimiques (**Navarre et Françoise, 2010**). Les principaux facteurs du milieu qui contrôlent la fonction des enzymes sont la température, le pH et l'activité de l'eau etc. En générale, leur activité croît de manière exponentielle avec l'élévation de la température du milieu réactionnel jusqu'aux environs de 60-70°C, au-delà de cet intervalle, elles perdent leur activité. Leurs pH optimum varient avec la nature des enzymes et des réactions. Le plus souvent est compris entre 4 et 9 (**Pierre, 2000**).

II.2. Classification des enzymes

Les enzymes sont classés en fonction des réactions qu'elles catalysent, on distingue six familles (**Tableau I**).

Synthèse bibliographique

Tableau I : Différentes classes d'enzymes (**Pierre Feillet., 2000**).

Classe	Réactions catalysées
EC 1 Oxydo-réductases	Oxydo-réduction (transfert d'oxygène)
EC 2 Transférases	Transfert de groupes fonctionnels
EC 3 Hydrolases	Coupure une molécule avec fixation d'eau (hydrolyse)
EC 4 Lyases	Coupure autre que l'hydrolyse
EC 5 Isomérases	Remaniement interne d'une molécule
EC 6 Ligases	Synthèses de nouvelles molécules par addition d'éléments

II.3. Les enzymes produites par les actinobactéries

Les enzymes produites par les actinobactéries sont les amylases, les protéases, les lipases, les cellulases, les xylanases, les chitinases, les pectinases, les kératinases, L-asparaginase. Elles trouvent actuellement plusieurs applications dans différentes industries (**Tableau II**).

Tableau II : Quelques enzymes produites par les actinobactéries (**Salma et al, 2017**).

Enzyme	PH optimal et Température	Applications Industriel
Cellulase	6 et 37° C 7 et 45° C	détergent, papier et pâte à papier, textile
Protease	7.5 et 40 °C 6.5 et 66° C	Pharmaceutique Cuir, Kératine Détergent, Aliments, Brassage
Keratinase	10 et 70° C	Cuir
Amylase	9 et 45° C 6 et 60° C	Détergent, Cuisson Textile, pâte à papier
Xylanase	9 et 50° C 4 et 70° C	Papier et pâte L'alimentation animale, Cuisson
Lipase	6 et 37° C 7 et 30° C	Papier et pâte Détergent Produits de beauté
Chitinase	6 et 60 C 7 et 55 C	Textile Cuir
Pectinase	60.5 et 45° C	Boisson Textile

II.3.1. Les Cellulases

Les actinobactéries sont les plus grands producteurs de cellulase connus (**Bhattacharya et al., 2007**). Les *Streptomyces drozdowiczii*, *S. lividans*, *S. longispororuber*, *S. rutgersensis*, *Streptomyces* sp. sont de meilleurs exemples pour la production de cellulase utilisé dans des industries, telles que, les pâtes et papiers, les textiles, la bioraffinerie, les matières premières animales, le vin et le brassage, cuisson (**Jacob et al., 2008** et **Gohel et Singh, 2012**).

II.3.2. Les protéases

Les protéases de *Streptomyces spp.* utilisées dans le traitement de différents déchets agroindustriels comme les plumes, les ongles, les cheveux et les déchets végétaux (**Bentley et al., 2002**). Les protéases produites par *Nocardiosis spp.* sont connues comme des enzymes d'importance industrielle, sont largement utilisées dans les pâtisseries, textiles, détergents, brasseries, fromages et épilateurs industriels (**Gohel et Singh, 2012**). La plupart des protéases montrent une tolérance aux diverses conditions de stress abiotiques comme le pH élevé, la température et la salinité (**Rathan et Ambili, 2011**).

II.3.3. Les kératinases

Les kératinases sont des enzymes industriellement importantes produites par un certain nombre de souches d'actinobactéries comme *Streptomyces spp.* et *Actinomadura*. Ces enzymes sont principalement utilisées pour l'hydrolyse de la kératine. Il y a une grande demande pour le développement biotechnologique alternative pour le recyclage des déchets (**Habbeche et al, 2014**)

II.3.4. Les amylases

Les amylases sont considérées comme un groupe important d'enzymes hydrolysant l'amidon en sirops à teneur élevée en fructose, glucose et maltose, ils peuvent être classés en endoamylases et exoamylases. Les souches par exemple : *Streptomyces erumpens* et *Thermobifida fusca* ont la capacité à sécréter des amylases à l'extérieur des cellules pour effectuer les digestions extracellulaires. Ces enzymes thermostables peuvent être utilisées dans la boulangerie, l'industrie pharmaceutique, du papier et de la pâte. Les amylases de *Streptomyces spp.* jouent un rôle important dans la biotechnologie appliquée dans différentes industries et ils présentent environ **25%** de la demande du marché mondial des enzymes (**Elsersy et al., 2010**).

II.3.5. Les xylanases

Les membres du genre *Streptomyces* sont les principaux producteurs de xylanases parmi les actinobactéries. Le xylan est la plus dominante composante des hémicelluloses et il est généralement utilisé dans l'amélioration d'industrie de la pâte et du bioblanchiment. Cellulases-libres et thermostables, les xylanases sont produites par des genres actinobactériens, *Actinomadura* et *Thermoactinomyces* avec une température optimale de 70°C (**Brzezinski et al., 1999**). Certaines espèces de *Streptomyces* sont capables d'hydrolyser divers résidus comme les déchets de paille et les tourteaux qui entraînent la production de biogaz (**Chakraborty et al., 2012**).

II.3.6. Les lipases

Un certain nombre de souches d'actinobactéries ont la capacité d'hydrolyser les huiles et les graisses. Les lipases et les estérases forment divers groupes hydrolytiques qui catalysent les lipides comme les triglycérides (**Aly MM et al., 2012**). Les *Streptomyces exfolie* et *Nocardiosis alba* produisent des lipases qui hydrolysent les liaisons ester dans les triglycérides et libère le glycérol et les acides gras. Les lipases sont utilisées dans le traitement des graisses et huiles, des additifs, des détergents, des produits cosmétiques etc (**Gandhimathi et al., 2009**).

II.3.7. Les chitinases

Les chitinases sont produites par des virus, des bactéries, les actinobactéries, les plantes supérieures et les animaux et jouent d'importants rôles physiologiques et écologiques (**Verma et al., 2007**). Les chitinases sont un autre groupe d'enzymes importantes sur le plan industriel qui ont la capacité d'hydrolyser la chitine. La chitinase des souches actinobactéries a été utilisée pour récupérer le chitibiose, un antioxydant potentiel qui a généralement des applications en biomédical et l'industrie alimentaire (**Bhattacharya et al., 2007**). Les chitinases sont thermostables et actifs à une large gamme de pH qui les rendent appropriés pour des applications industrielles. Elles sont utiles dans l'hydrolyse des oligosaccharides de chitine qui ont un potentiel d'utilisation comme antioxydant, agents *antimicrobiens*, *anticancéreux*, *anticoagulants* et *antitumoraux* (**Horikoshi K, 1999**).

II.3.8. Les pectinases

Les pectinases sont produites par plusieurs espèces de *Streptomyces* telles que *S. lydicus* (**Jacob et al., 2008**) Ces enzymes sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour l'extraction et clarification des vins, jus, composés aromatisants et industrie textile pour la préparation de

tissus de lin et de fabrication de chanvre (**Janaki et al., 2016**) La polygalacturonase est l'une des pectinases les plus importantes largement utilisé dans différentes industries.

II.3.9. La L-asparaginase

Les actinobactéries sont une excellente ressource pour la production de L-asparaginase (L-asparagine-amino-hydrolase). Une gamme d'actinobactéries du sol, *Streptomyces griseus*, *S. karnatakensis*, *S. albidoflavus* et *Nocardia sp.* ont des capacités à produire l'enzyme L-asparaginase (**Janaki et al., 2016**). Les L-asparaginases microbiennes ont été utilisées comme agents thérapeutiques dans la guérison de certains cancers humains, principalement dans la leucémie lymphoblastique aiguë (**Mostafa et Salama, 1979**).

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

Ce travail vise à l'étude morphologique de la souche d'actinobactéries ainsi que la mise en évidence de son activité enzymatique.

I. Durée et lieu du travail

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de Microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers de l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimi Bordj Bou Arréridj. Notre étude s'est étalée sur une période de deux mois du 21 Avril au 17 Juin.

II. Matériel biologique

II.1. Souche d'actinobactéries

La souche utilisée appartient au genre *Streptomyces* sous la dénomination **BS05**, elle a été isolée et identifiée par notre encadrante **Dr. SOUAGUI Y.** à partir d'un échantillon de sol prélevé dans une région aride du sud algérien (**35°10'N ; 4°9'E**), Boussaâda.

III. Matériels non biologique

III.1 Matériels analytique

➤ Le matériel analytique est présenté en annexe 1.

III.2. Milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés durant cette étude sont :

- ❖ Pour la culture de la souche BS05 : le milieu **ISP4** (International *Streptomyces* Project) (**Shirling et Gottlieb,1966**) et le milieu Williams (**M2 Williams et Kuster, 1964**).
- ❖ Pour les tests de mise en évidence de l'activité enzymatique : La gélose de Gause, la gélose au lait, la gélose au gélatine, gélose au jaune d'œuf, le milieu Sierra.
- La composition des milieux de culture est donnée en annexe 2.

IV.Méthodes

IV.1. Repiquage de la souche BS05

L'ensemencement de la souche s'est effectué par la méthode des stries serrées à la surface de la gélose Williams (M2) et ISP4. L'incubation est faite à 30°C pour une durée de 10 à 14 jours.

IV.2. Etude morphologique de la souche BS05

IV.2.1. Caractères macromorphologiques

L'aspect phénotypique des colonies et les caractères culturaux sont étudiés après 14 jours d'incubation à 30°C sur les milieux M2 et ISP4 (Shirling et Gottlieb, 1966). Cette étude consiste à déterminer les caractères culturaux des colonies (croissance, couleur des mycélium aérien et du substrat ainsi que les pigments solubles produits).

IV.2.2. Caractères micromorphologiques

Les colonies obtenues sont observées sur les milieux cités précédemment à l'aide d'un microscope optique à deux grossissements (x4 et x10) après 14 jours d'incubation. Cette étude consiste à voir les structures et la fragmentation ou non du mycélium aérien et du mycélium de substrat, ainsi que la sporulation.

V. Mise en évidence des activités enzymatique

V.1. Recherche des carbohydrases

V.1.1. Recherche de l'amylase

Ce test a été réalisé sur la gélose de Gause (Annexe 3) selon la méthode de (Williams et Cross 1971). Le milieu coulé dans des boîtes de Pétri puisensemencé par la méthode des cylindres d'agar de la souche à tester. Après 07, 10 et 14 jours d'incubation à 30°C, la gélose est recouverte d'une solution de lugol. La lecture s'est faite après 7, 10 et s'est poursuivie jusqu'aux 14 jours d'incubation. L'hydrolyse est mise en évidence par la présence d'une zone claire autour des colonies après ajout du lugol.

V.1.2. Recherche de la cellulase

Cette activité a été testée sur une gélose additionnée de CMC (Annexe 3). Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri puisensemencé par la technique des cylindres d'agar de la souche à tester et incubé à 30°C. Après 07, 10 et 14 jours, une solution de lugol pendant 15 mn permet de mettre en évidence la dégradation de la cellulose (Herculano et al. 2011).

V.2. Recherche des protéases

V.2.1. Recherche de la caséinase

L'hydrolyse de la caséine est étudiée selon la méthode de **Williams et Cross (1971)**. Sur un milieu gélosé contenant 5 % de lait écrémé, le test est réalisé par la technique des cylindres d'agar de la souche à tester et incubé à 30°C. Après 07, 10 et 14 jours l'apparition de toute zone claire autour des colonies, témoigne de l'hydrolyse de la caséine.

V.2.2. Recherche de la gélatinase

La souche estensemencée dans des tubes contenant la gélatine nutritive puis incubée à 30°C pendant 07 et 10 jours. Les tubes sont ensuite placés une heure au réfrigérateur. Si la gélatine devient solide cela implique qu'elle n'a pas été attaquée par la souche, si elle reste liquide, cela implique qu'une enzyme extracellulaire l'a hydrolysé (**Larpent et Larpent-Ghourgoud, 1985**).

V.3. Recherche des lipases

La recherche de lipases a été réalisée sur le milieu Sierra additionné de tween 20. Après 07, 10 et 14 jours d'incubation à 30°C, l'apparition d'un halo opaque autour des colonies traduit la présence d'une lipase (**Sierra, 1957**).

V.3.1. Recherche des estérases

La recherche de l'estérase a été réalisée sur le milieu Sierra additionné de tween 80. Après 14 jours d'incubation à 30°C, l'apparition d'un halo opaque autour des cylindres traduit la présence d'une estérase (**Sierra, 1957**).

V.3.2. Recherche de la lécithinase

La lécithinase a été recherchée sur une gélose au jaune d'œuf à 10%, coulée en boîtes de pétri,ensemencée avec la souche à tester par la technique des cylindres d'agar, puis incubée à 30°C.

Le jaune d'œuf est un substrat composé de lécithine, de triglycérides 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**).

V.4. Recherche de la catalase

Prendre une lame propre, déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes. A l'aide d'une pipette Pasteur, émulsionner par un peu de la colonie de la souche à tester. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence d'une catalase (**Camille, 2007**).

Résultats et discussion

Dans cette partie seront présentés les résultats et la discussion de l'étude des caractères morphologiques de la souche BS05, ainsi que les résultats de la mise en évidence de l'activité enzymatique par la méthode des cylindres d'agar.

I. Etude morphologique de la souche BS05

Les caractères culturels ont été déterminés sur les milieux de culture **M2**, et **ISP4** l'importance de la croissance, le développement du mycélium aérien sur chaque milieu, la couleur du mycélium aérien et de substrat, la sporulation ainsi que la présence ou non des pigments diffusibles dans le milieu ont été observées.

I.1. Etude macromorphologique

Après ensemencement sur les milieux **M2** et **ISP4**, les colonies de la souche sont apparues au bout de deux à trois jours d'incubation à 30°C. Ceci signifie que la croissance des souches est moyennement rapide.

Après 14 jours d'incubation la souche donne des colonies circulaires, bombées, de 3 à 5 mm de diamètre, d'aspect poudreux avec une consistance sèche. Les pigments diffusibles sont sécrétés sur milieu **M2**.

Le mycélium aérien est de couleur blanc pâle. L'observation du revers de la colonie montre la couleur du mycélium de substrat qui est pigmenté en marron foncé (**figure2**).

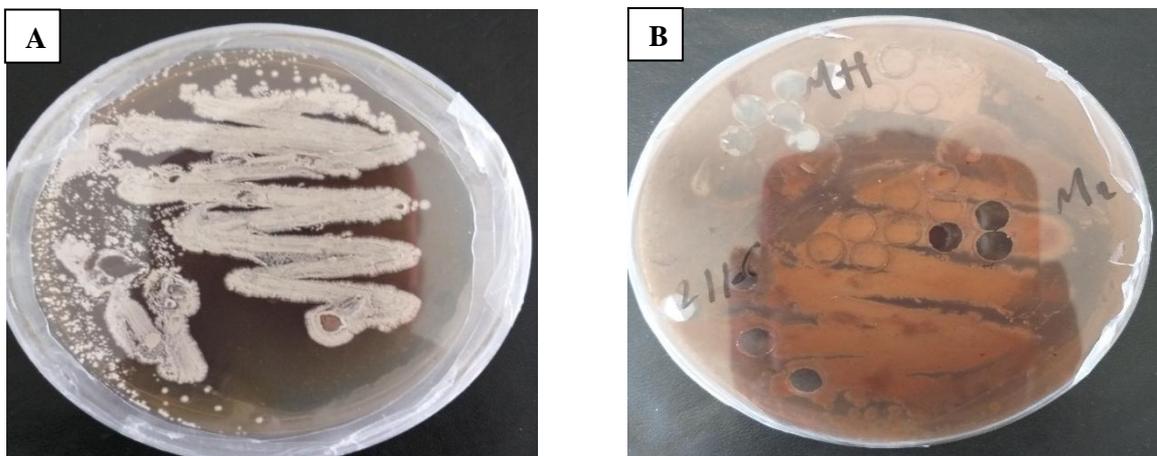


Figure 2 : Aspect macromorphologique de la souche BS05 cultivée sur milieux M2 après 14jours d'incubation à 30°C (A) aspect et couleur du mycélium aérien (B) aspect et couleur du mycélium de substrat.

I.2. Etude micromorphologique

La figure 3 présente les photographies d'observation de la souche BS05 sur le milieu M2 sous microscope optique au grossissement (**x4** et **x10**) après 14 jours d'incubation à 30°C. Les filaments des mycéliums aériens de la souche sont fragmentés, non cloisonnés portant des chaînes de spores du type RF (*Rectus flexibilis*) avec une forme droite, ce type de mycélium est caractéristique du genre *Streptomyces* (**Bergey, 1989**).

Le mycélium de substrat est long, très arborescent, peut ramifié, non fragmenté et ne portant pas de spores.

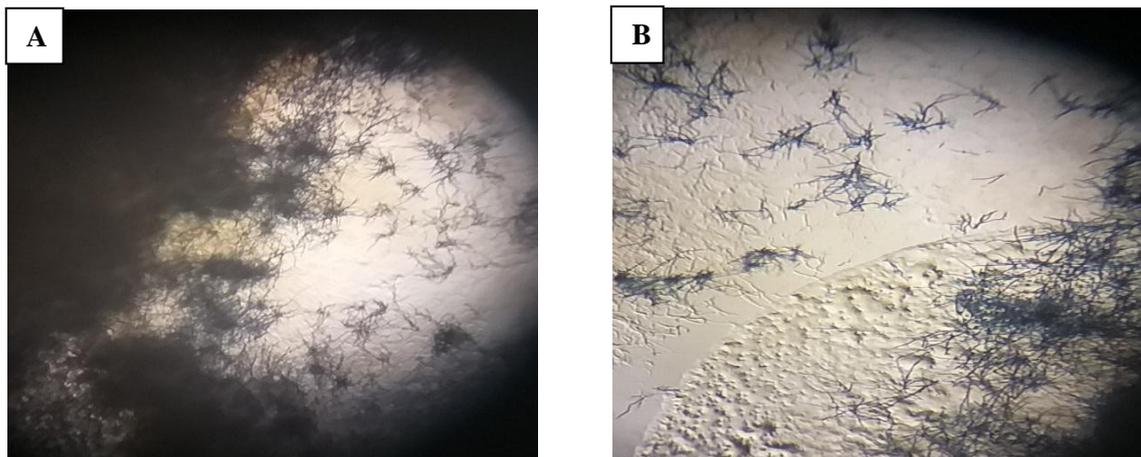


Figure 3 : Observation microscopique des mycéliums aériens et de substrat de la souche BS05 à l'objectif **x4** (A) et l'objectif **x10** (B).

II. Mise en évidence de l'activité enzymatique de la souche BS05

Dans le but d'étudier l'activité enzymatique de la souche BS05, différents milieux à base de plusieurs substrats ont été testés. Le pouvoir enzymatique de la souche BS05, est déterminé par la méthode des cylindres d'agar à l'encontre de différents substrats. L'activité est exprimée en termes d'halo de dégradation.

II.1. Dégradation des sucres

II.1.1. Dégradation de l'amidon

D'après les résultats obtenus, on remarque que la souche BS05 étudiée présente une activité amylasique sur le milieu à base d'amidon. Après addition de la solution de lugol, l'apparition d'un halo clair autour du cylindre traduit la dégradation de l'amidon (**Figure 4**), cela montre que la souche testée possède une amylase.

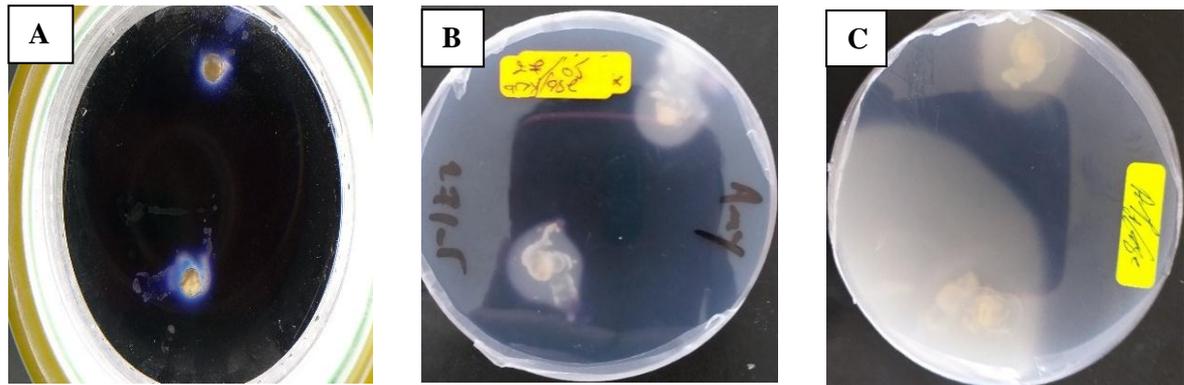


Figure 4: Résultat de l'activité amylasique de la souche BS05. Après 7 jours (A), 10 jours (B) 14 jours (C) d'incubation à 30°C.

Ces résultats ressemblent à ceux présentés par **Kuo et Hartman (1966)**, qui ont montré la production des amylases par différentes souches d'actinobactéries. Nos résultats montrent que cette enzyme est produite par notre souche BS5 à une température de 30° C.

II. 1.2. Dégradation de la cellulose

D'après les résultats obtenus, on remarque que la souche BS05 étudiée présente une activité cellulasique sur une gélose additionnée de CMC comme seule source de carbone et d'énergie. Après addition de Lugol, l'apparition d'un halo clair autour du cylindre traduit la dégradation de la cellulose (**Figure 5**), cela montre que la souche testée possède une cellulase.

Cette enzyme est généralement produite par les actinobactéries, en particulier les espèces thermophiles et les streptomycètes (**Sanglier, 1993**). Cet enzyme a été utilisées dans plusieurs domaine en biotechnologie comme les industries alimentaires, l'industrie du textile (**Ando et al., 2002**), la bioconversion des déchets cellulosiques, l'industrie du papier, et des additifs, dans l'alimentation animale, des aides digestives dans le domaine thérapeutique et plus récemment pour la production de biocarburant (**Sukumaran et al., 2005**).

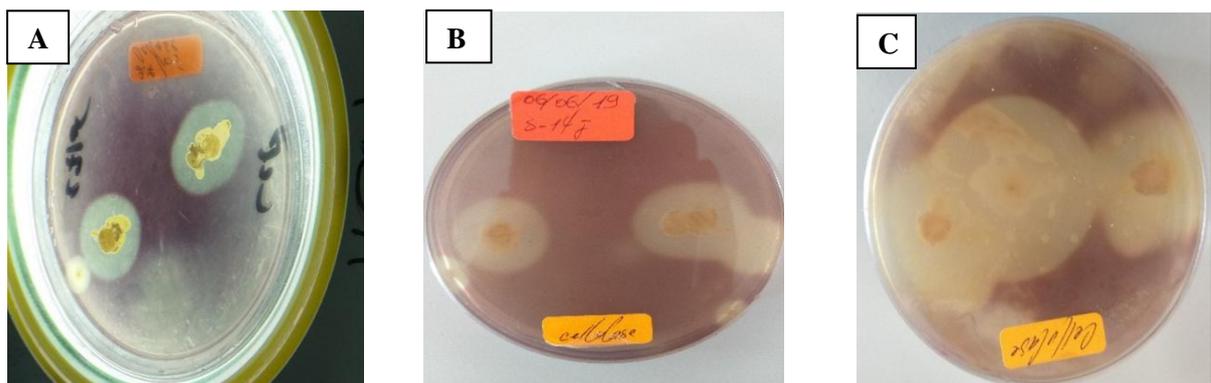


Figure 5: Résultat de l'activité cellulasique de la souche BS05. Après 7 jours (A), 10 jours (B) et 14 jours (C) d'incubation à 30°C.

II.2. Dégradation des protéines

II.2.1. Dégradation de la caséine

D'après les résultats obtenus, on remarque que la souche BS05 testée a une croissance modérée sur un milieu gélosé contenant 5 % de lait écrémé, ainsi l'apparition d'une zone claire autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la caséine (**figure 6**).

Nos résultats sont en accord avec ceux présentés par (**Djaballah 2010**) où ils ont montré que *Streptomyces albidoflavus* est productrice d'une enzyme protéolytique sur un milieu à base de lait écrémé, et ceux trouvés par **Gulve et Deshmukh, (2011)** où ils ont signalé que les genres : *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia* et *Saccharopolyspora* possèdent une activité protéolytique ; liée particulièrement à l'enzyme caséinase.

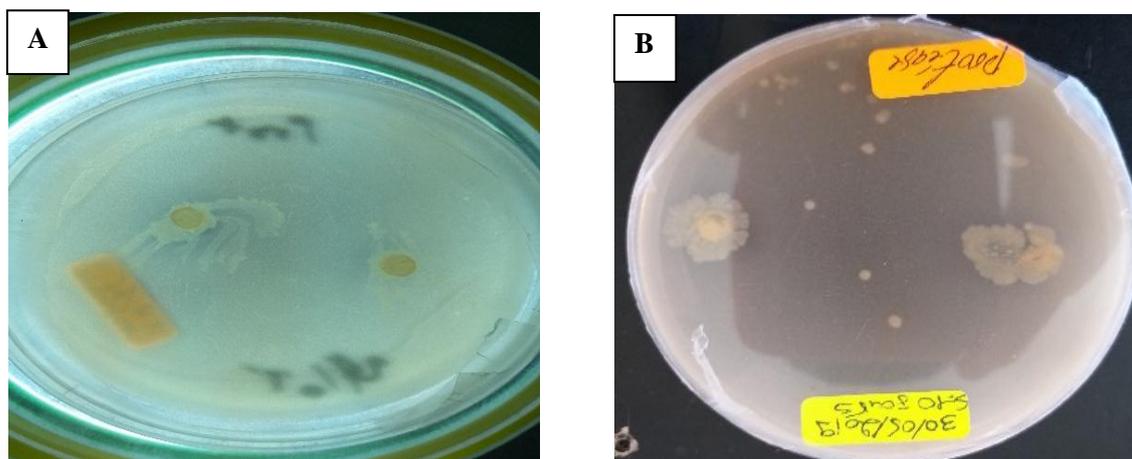


Figure 6: Résultat de la dégradation de la caséine par la souche BS05 après 7 (A) et 10 jours (B) d'incubation à 30°C.

II.2.2. Dégradation de la gélatine

Pour l'hydrolyse de la gélatine, on constate que le résultat est négatif (**figure7**).



Figure 7: Résultat du test de la dégradation de la gélatine par la souche BS05.

II.3. Dégradation des lipides

D'après les résultats obtenus, on remarque que la souche BS05 étudiée présente une activité catabolique des lipides sur le milieu Sierra additionné de tween20. L'apparition d'un halo opaque autour de la colonie traduit la dégradation des lipides (**Figure 8**), cela montre que la souche testée possède une lipase.

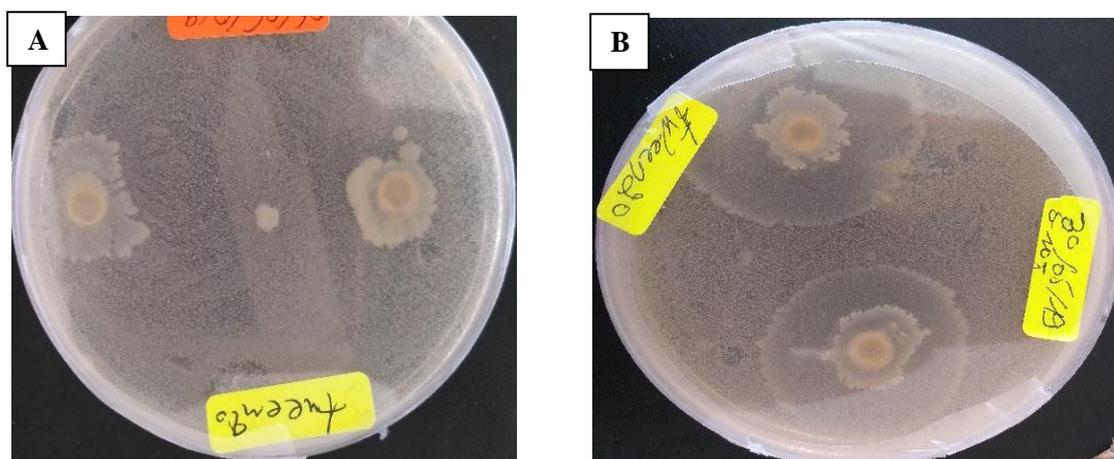


Figure 8: Résultat de l'activité lipasique de la souche BS05 après 7 (A) et 10 (B) jours d'incubation à 30°C.

II.3.1. Dégradation du tween 80

Le résultat de la dégradation du tween 80 est positif, sur le milieu Sierra additionné de tween 80 ce qui se traduit par l'apparition d'un halo opaque autour de la colonie ce qui témoigne de la dégradation du tween 80 (**Figure 9**), cela montre que la souche testée possède une estérase.

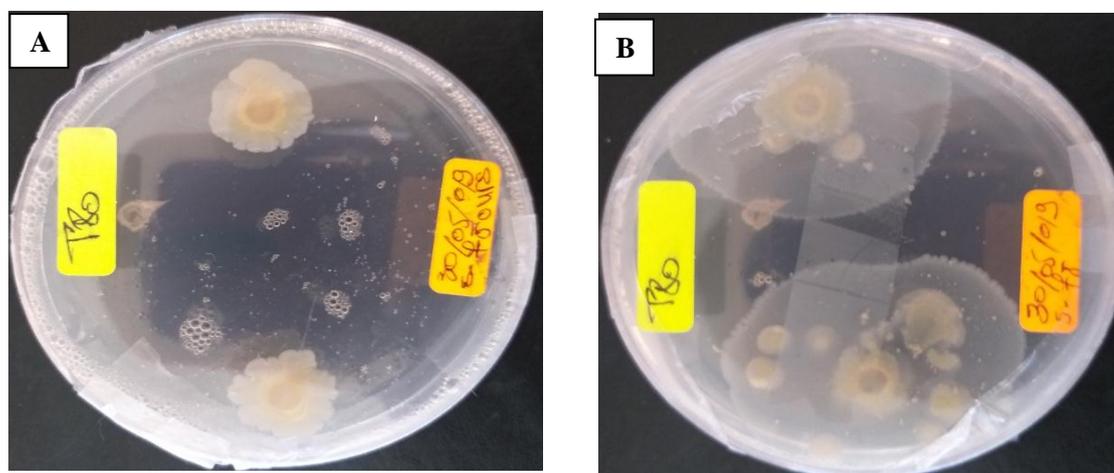


Figure 9: Résultat de l'activité estirasiqque par la souche BS05 après 7 (A) et 10 jours (B) d'incubation à 30°C.

Différentes lipases ont été mises en évidence dans des espèces appartenant aux actinobactéries il s'agit principalement de *Streptomyces fradiae* (Sztajer *etal.*, 1988), *Streptomyces coelicolor* (Hou., 1994).

II.3.2. Dégradation de la lécithine

D'après les résultats obtenus, on remarque que la souche BS05 étudiée présente une activité catabolique de la lécithine sur une gélose au jaune d'œuf à 10%.

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 10).

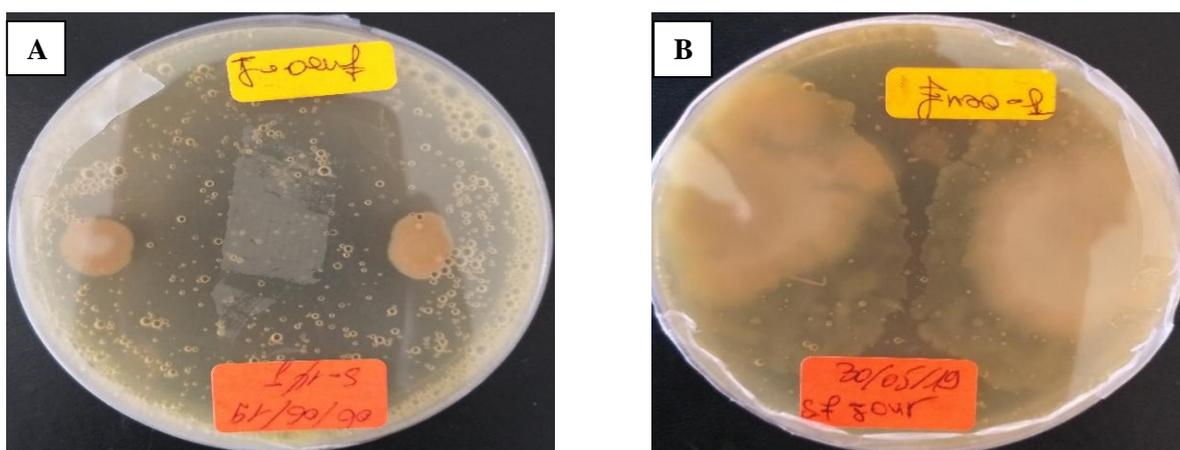


Figure 10 : Résultat de la dégradation de la lécithine par la souche BS05 après 7 (A) et 10 jours(B) d'incubation à 30°C.

Sanglier, 1993 a rapporté la production d'une phospholipase C (lécithinase) chez *Streptomyces griseus*.

II.4. Teste de la catalase

Le teste de la catalase montre un résultat positif pour la souche BS05 étudiée. La présence de la catalase est détectée par la production de bulles d'air lors d'un contact de la culture avec l'eau oxygénée (Figure 11). Les actinobactéries sont aérobies et ont normalement toutes une catalase. S'il y avait eu des résultats négatifs, cela mériterait plus d'attention.



Figure11 : Résultat positif du teste de la catalase de la souche BS05.

On a constaté un changement du diamètre de l'halo dans les boites a base de CMC et amidon après le 10^{ème} jour jusqu'au 14^{ème} jour, le diamètre des halos augmentent considérablement. Cela montre que l'activité amylasique et cellulasique sont produites en quantités plus importantes après le 10^{ème} jour.

Ces deux activités sont plus importantes comparé aux autres activités (lécithinase, estérase, lipase, caseinase) ou il n'y a une faible voir aucune activité.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Rodrigues, (2006)** pour l'étude des activités enzymatiques de 188 souches d'actinobactéries où il a mentionné la prédominance de l'activité amylasique par rapport aux autres activités enzymatiques étudiées et que les genres :*Nocardia*, *Nocardiosis*, *Streptomyces* et *Terrabacter* étaient les plus actifs.

D'autres travaux ont montré qu'il y a eu production maximale dans un milieu contenant du CMC à 10% chez *Streptomyces drozdowiczii* (**Grigorevski de lima et al., 2005**).

On a constaté également une très faible activité vis-à-vis de la caséine et absence d'activité vis-à-vis de la gélatine.

Mais nos résultats sont loin de ceux rapportés par **Gulve et Deshmukh, (2011)** pour l'étude des activités enzymatiques de 90 souches d'actinobactéries isolées à partir des sédiments marins, où leurs isolats ont dominé quant à la production des enzymes protéolytiques pour l'action sur le lait écrémé et la dégradation de la gélatine consécutivement.

Conclusion
et
Perspectives

Conclusion et perspectives

Les enzymes réveillent une grande importance biotechnologique dans de nombreuses industries : l'agroalimentaire, pharmaceutique, chimie industrielle, l'écologie etc. Comme les actinobactéries sont l'un des producteurs majeurs des métabolites secondaires, les chercheurs se sont orientés vers l'étude des capacités enzymatiques de ces microorganismes.

Ce travail a été réalisé dans le but d'étudier l'activité enzymatique de la souche d'actinobactérie BS05 du genre *Streptomyces*.

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

- La caractérisation macro et micro morphologique de la souche BS05 sur les milieux ISP4 et M2 nous a amené à assigner la souche d'actinobactérie au genre *Streptomyces*.
- La souche BS05 étudiée présente une activité enzymatique caractérisée par la production de plusieurs enzymes : l'amylase, la cellulase, la caséinase, estérases, la lécithinase, la catalase et des lipases.
- La souche BS05 étudiée présente une meilleure activité enzymatique vis-à-vis de l'amidon et la cellulose, elle montre également une très faible activité vis-à-vis de la caséine et absence d'activité vis-à-vis de la gélatine.

En perspectives pour cette étude, il serait recommandé de :

- Chercher d'autres activités enzymatiques de la souche BS05.
- Étudier les cinétiques de production notamment de l'amylase et de la cellulase ainsi que l'étude et l'optimisation des différents paramètres de culture (composition du milieu, pH, températures...) pour des utilisations industrielles.
- Etudier ces activités sur milieux solides (FMS : fermentation sur milieux solides), pour la valorisation de déchets végétaux, agricoles, industriels...
- Extraire, purifier et caractériser les enzymes concernées.

Références Bibliographiques

Références et bibliographiques

A

- Abou-Elela.G.M; and Ghanem.N.B., (2005).** Phenotypic characterization and numerical taxonomy of some actinomycetes strains isolated from burullos lake. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, **31** (2), 125-144.
- Aly M.M., Tork S., Al-Garni SM., Nawar L., (2012).***Streptomyces* exfoliates LP10 isolated from oil contaminated soil. *Afr. J. Microbiol. Res.* **6**: 1125-1137.
- Ando S., Ishia H., Kosugi Y., and Ishiakawa K., (2002).**Hyperthermostable Endoglucanase from *Pyrococcus horikoshii*.*Applied and Environmental Microbiology*.**68**(1): 430-433.
- Andreyuk K.I., Halagurova H.V., et Myatilkova K.A.,(1990)** Streptomycetes of standy biotopes at various stages of natural overgrowth. *Actinomycetes*. **1**(3):75-78.
- Arijit D., Sourav B., Naimisha RV and Rajan SS., (2013).** Improved Production and Purification of Pectinase from *Streptomyces* sp. GHBA10 isolated from Valapattanam.

B

- Bentley S.D., Chater K.F., Cerdeno-Tarraga A.M., Challis G.I., Thomson N.R., James K.d., Harris D.E. et al., (2002)** Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*.**417**(6885): 141-147.
- Berdy J., (2005).**Bioactive microbial metabolites.*J Antibiot*.**58** :1-26.
- Bergey's manuel,William B Whitman., M Goodfellow., Peter Kämpfer., Hans-Jürgen Busse., (2012).**Systematic bacteriology, 5, the actinobacteria.*Springer Edition New York*, 795194336.
- Bergey's Manual of systematic bacteriology., (2012).**Whitman WB., Goodfellow M., Kampfer P., Bausse HJ., Trujillo ME., Ludwig W. & Suzuki K, Parte A (Eds). The Actinobacteria.2ème edition, Springer, New York.5, 1750.
- Bergey's Manual of systematic bacteriology., (1989).** Williams S.T., Sharpe M.E, and Holt J.G. (Eds) Williams and Wilkins Co., Baltimore **14** 2648.
- Bhattacharya D., Nagpure A., Gupta R.K., (2007).** Bacterial chitinases: properties and potential. *Crit. Rev. Biotechnol* **27**: 21-28.
- Brzezinski R., Dery CV., Beaulieu C., (1999).** Thermostable xylanase DNA, protein and methods in use," USA patent (587) 1730-1999.

C

- Camille D., (2007).** Microbiologie pratiques pour le laboratoire d'analyse et de controle sanitaire. Lavoisier. 126-173.
- Cavala M. et Eberlin T., (1994).** Isolement des Streptomycètes du sol. *L'opéron*.**4** : 13-17.
- Chakraborty S., Raut G., Khopade A., Mahadik K., Kokare C., (2012).** Study on calcium ion independent amylase from halo-alkaliphilic marine *Streptomyces* strain A3. *Indian J Biotechnol* **11**: 427-437.
- Coombs J.T. et Franco C.M. M.,(2003).**Isolation and identification of actinobacteria from surface sterilized wheat roots. *Appl Environ Microbiol*. **69**(9): 5603-5608.

D

- Dastager G. S., Agasar D. et Pandey A., (2009).**Production and partial purification of amylase from a novel isolate *Streptomyces gulbargensis*. *J Ind Microbiol Biotechnol*. **36**:189-194.
- Dhanasekaran D., Selvamani S., Panneerselvam A. et Thajuddin N. (2009).** Isolation and characterization of actinomycetes in Vellar Estuary, Annagkoil, Tamil Nadu. *Afr J Biotechnol*.**8** (17): 4159-4162.
- Dietera A., Hamm A., Fiedler H.P., Goodfellow M., Muller W.E., Brun R. et Bringmann G., (2003).**Pyrocoll, an antibiotic, antiparasitic and antitumor compound produced by a novel alkaliphilic *Streptomyces* strain. *J Antibiot*. **56**: 639-46.

Djaballah C.E., (2010). Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolerants isolées de la sebkha d'Ain M'Lila. Université de Constantine. Algerie. 28-64

Dhanasekaran D., Selvamani S., Panneerselvam A. et Thajuddin N. (2009). Isolation and characterization of actinomycetes in Vellar Estuary, Annagkoil, Tamil Nadu. *Afr J Biotechnol.* **8** (17): 4159-4162.

E

El-Sersy N.A., Abd-Elnaby H., Abou-Elela G.M., Ibrahim H., El-Toukhy N.M.K., (2010). Optimization, economization and characterization of cellulose produced by marine *Streptomyces ruber*. *Afr. J. Biotechnol* **9**: 6355-6364.

F

Floyd M.H., pieper R. L., et Mert F. P., (1987). Sporulation of *Streptomyces roseoporus* in submerged culture. *J. Ind. Microbiol.* **2** : 235-241.

G

Gandhimathi R., Seghal Kiran G., Hema T.A., Selvin J., Rajeetha Raviji T., (2009). Production and characterization of lipopeptidebiosurfactant by a sponge-associated marine actinomycetes *Nocardioopsis alba* MSA10. *Bioprocess Biosyst Eng* **32**: 825-35.

Getha K., Vikineswary S., Wong W. H., Seki T., Ward A. et Goodfellow M. (2005) Evaluation of *Streptomyces* sp. strain g10 for suppression of *Fusarium* wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. *J Ind Microbiol Biotechnol.* **32**: 24-32.

Gomez RC., Semedo LTAS., Soares RMA., Alviano CS., Linhares LF and Coelho RR., (2000). Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potential in biocontrol. *Lett Appl Microbiol* **30**, 146-150.

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.

Gohel S.D., Singh S.P., (2012). Purification strategies, characteristics and thermodynamic analysis of a highly thermostable alkaline protease from a salttolerant alkaliphilic actinomycete, *Nocardioopsis alba*. *J. Chromatogr. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci* **889**: 61- 68.

Grigorevski de Lima A.L, Nascimento R.P, Bon E.P.S. and Coelho. R.R.R.,(2005). *Streptomyces drozdowiczii* cellulose production using agro industrial by-products and its potential use in the detergent and textile industries. *Enzyme.Microbial. Technol.*; **37**: 272-277.

Gulve R.M., and Deshmukh A.M., (2011). Enzymatic activity of actinomycetes isolated from marine sediments. *Recent Reserch in Science and technology.* **3**(5), 80-83.

H

Hasavada S. H., Thumar J.T et Singh S. P.,(2006). Secretion of a potent antibiotic by salt-tolerant and alkaliphilic actinomycete *Streptomyces sannanensis* strain RJT-1. *Current Science.* **91**(10): 1393-1397.

Habbeche A., Saoudi B., Jaouadi B., Haberra S., Kerouaz B., (2014). Purification and biochemical characterization of a detergent-stable keratinase from a newly thermophilic Actinomycete actinomadura keratinilytica strain Cpt29 isolated from poultry compost. *J Biosci Bioeng* **117**: 413-421.

Herculano P.N., Lim D. M. M., Fernandes M. J. S., Neves R. P., Souza – Motta C. M. (2011). Isolation of Cellulolytic Fungi from Wast of Castor (*Ricinus communis*). *Curr Microbiol.*, **62**, 1416-1422

Hodgson D.A., (2000). Primary metabolism and its control in *Streptomyces*: a most unusual group of bacteria. *Adv Microb Physiol.* **42**:47-238.

Hopwood D., (2007). An introduction to the actinobacteria. *Microbiology Today*: 60-61.

Horikoshi K., (1999). Alkaliphiles: some applications of their products for biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev* **63**: 735-750.

Hou CT., (1994). PH dependence and thermostability of lipases from culture collection. *J. Ind Microbiol.* **13**: 242-248.

Hwang B.K., Lim S.W., Kim B.S., Lee J.Y. et Moon S.S.,(2001). Isolation and *in vivo* and *in vitro* antifungal activity of phenylacetic acid and sodium phenyl acetate from *Streptomyces humidus*. *Appl Environ Microbiol.* **67**: 3730-3745.

I

Ikeda H., Ishikawa J., Hanamoto A., Shinose M., Kikuchi H., Shiba T., Sakaki Y., Hattori M. et Omura S.,(2003). Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. *Nature Biotechnology.* **21**(5): 526- 531.

J

Jacob N., Poorna C.A., Prema P., (2008). Purification and partial characterization of polygalacturonase from *Streptomyces lydicus*. *Biores.Technol* **99**: 6697- 6701.

Janaki T., Nayak B.K., Ganesan T., (2016). Antifungal activity of soil actinomycetes from the mangrove *Avicennia marina*. *J Med Plants Res* **4**: 05-08.

K

Kang M. J., Strap J. L. et Crawford D.L., (2010). Isolation and characterization of potent antifungal strains of the *Streptomyces violaceusniger* clade active against *Candida albicans*. *J Ind Microbiol Biotechnol.* **37**: 35-41.

Katsifas E. A., Gianoutsou E.P. et Karagouni A.D., (1999). Diversity of Streptomycetes among specific greek terrestrial ecosystems. *Let App Microbiol.* **29**: 48-51.

Kim K.J., Yang YJ and Kim JG., (2003). Purification and characterization of chitinase from *Streptomyces sp.* m-20. *J. Biochem. Mol. Biol.* **36**(2), 185–189.

Korn-Wendisch F. et Kutzner H. J.,(1992). The family *Streptomycetaceae*, dans: Balows A., Truper H. G., Dworkin M., Harder W et Schleifer K. H. *The Prokaryotes. Springer Edition New York* : 921-995.

Kuo M.J., and Hartman P.A., (1966). Isolation of amyolytic stains of *Thermo-actinomyces vulgaris* and production of thermophilic actinomycete amylases, *J. Bacteriol.* Vol. 92.No.3.

Kuster E., (1968). The actinomycetes. *In: Soil Biology*, eds. Burges (A.) & Raw (F.), Academic Press, London. pp. 111-124.

L

Lacey J. (1997) Actinomycetes in composts. *Ann Agric Environ Med.* **4**: 113-121.

Lakshmipathy D.T. et Kannabiran K.,(2009). A morphological, biochemical and biological studies of halophilic *Streptomyces sp.* isolated from Saltpan environment. *Am J Infect Dis.* **5** (3): 207-213.

Larpent J.P. et Sanglier J.J., (1989). .Biotechnologie des antibiotiques. Masson. Paris. **130** pages (31-61).

Larpent JP., Larpent-Gourgaud M. (1985). Éléments de Microbiologie. Hermann Paris. 264 p.

Lechevalier M.P., Lechevalier H., (1985). Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces*. *Biology of industrial microorganisms*. The Benjamin Cummings Publishing Company, INC. pp 315-360.

Loria R., Bukhalid R.A., Fry B.A. et King R.R.,(1997). Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease.* **81**(8): 836-846.

Lu WJ., Wang HT., and Nie YF., (2004).“Effect of inoculating flower stalks and vegetable waste with ligno-cellulolytic microorganisms on the composting process,” *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, Vol. 39, N° 5-6, pp 871– 887.

M

Madigan M. T et Martinko J.M. (2007) *Biologie des microorganismes*. Pearson Education France, 11e édition : 331-423, 686-718.

Mansour FA., Sherief AA., El-Dein MMN., Dora MIA and Ball AS., (2003). Purification and characterisation of xylanase from a thermophilic *Streptomyces* sp. k37. *Acta Microbiologica Polonica.*, **52**: 159-172.

Manteca A., Alvarez R., Salazar N., Yague P. et Sanchez J., (2008). Mycelium differentiation and antibiotic production in submerged culture of *Streptomyces coelicolor*. *Appl & Environ Microb.* **74**: 3877-3886.

Mariat F., Sebald M., (1990). Actinomycétales. In: Le Minor. L., Véron M. *Bactériologie médicale*. Médecine-Sciences. Flammarion. France. Deuxième partie : 933-999.

Marinelli F., (2009). Antibiotics and *Streptomyces*: the futur and antibiotic discovery. *Microbiology today.* **2**: 20-23.

Miguez E.M., Hardisson C. et Manzanal M.B., (2000). Streptomycete : a new model to study cell death. *Inter Microbiol.* **3**: 153-158.

Mostafa S.A., and Salama M.S., (1979). L-asparaginase producing *Streptomyces* from soil of Kuwait. *Zentralbl Bakteriol Natur wiss.*, **134**(4): 325 - 334.

Mswaka Ay and Magan N., (1998). Wood degradation, and cellulase and ligninase production by *Trametes* and other wood-inhabiting basidiomycetes from indigenous forests of Zimbabwe. *Mycological Research*, Vol. 102, no. **11**, 1399–1404.

N

Nascimento R.P., Coelho R.R. R., Marques S., Alves L., Girio F.M., Bon E.P.S. et Amaral-Collaco M.T.,(2002). Production and partial characterization of xylanase from *Streptomyces* sp. Strain AMT-3 isolated from brazilian cerrado soil. *Enzyme Microb Technol.* **31**: 549-555.

Navarre, Françoise I., (2010). *L'œnologie* 7e Edition. Pp39 et 42.

Nazneen A, Alam MM., Azim U., Feroza B., Tipu S, Abul KA., Nitsh B and Kutzner HJ., (1969). Production of Pectinase by *Aspergillus niger* Cultured in Solid State Media. *International Journal of Biosciences (IJB)*, ISSN: 2220-6655 (Print), Vol. **1**. pp: 33- 42.

Nitsh B and Kutzner HJ (1969). Production of Pectinase by *Aspergillus niger* Cultured in Solid State Media. *International Journal of Biosciences (IJB)*, ISSN: 2220-6655 (Print), Vol. **1**, No. **1**. pp: 3342.

O

Opatokun SA, Kabbashi N, Alam MZ, Salihu A, Abass A and Ruqayyah TLD (2011). Composting of food and yard wastes by locally isolated fungal strains. *Afr J Biotechnol* **10**:18800–18806.

Oskay M. (2009) Antifungal and antibacterial compound from *Streptomyces* strains. *Afr J Biotechnol.* **8** (13) : 3007-3017.

P

Perez J., Munoz-Dorado J., de la rubia T and Martinez J., (2002). Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose. *Int Microbiol* **5**:53–63.

Petrosyan P., Gartia-Varela M., Luz-Madrigal A., Huitron C. et Flores M.E.,(2003). *Streptomyces mexicanus*, a xylanolytic microorganism isolated from soil. *Int J Sys Budevo Microbiol.* **53**: 269-273.

Pierre F., (2000). *Livre le grain de blé : Composition et utilisation*. Edition Quae. Pp123.

Pinky P., (2012). In vitro Cellulose Rich Organic Material Degradation by Cellulolytic *Streptomyces albospinus* (MTCC 8768). *Mal. J. Microbiol.* **8**(3), pp. 164-169.

R

- Rathan R.K., and Ambili M., (2011).** Cellulase enzyme production by *Streptomyces sp.* using fruit waste as substrate. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, pp. 1114–1118.
- Ravikumar S., Inbaneson S.J., Uthiraselvam M., Priya S.R., Ramu A and Banerjee M.B., (2011).** Diversity of endophytic actinomycetes from Karangkadu mangrove ecosystem and its antibacterial potential against bacterial pathogens. J Pharm res ;4 (1): 294-296.
- Reponen T.A., Gazonko S.V., Grinshpun S.A., Willeke K. et Cole E.C.,(1998).** Characteristics of airborne actinomycete spores. *Appl Environ Microbiol.* 64 : 3807-3812.
- Rodrigues K (2006).** Identificação, produção de antimicrobianos e complexos enzimáticos de isolados de actinomicetos. MSc Dissertation. Agricultural and Environmental Microbiology Post-Graduation. Universidade Federal Rio Grande do Sul, Brazil. p. 129.

S

- Salma I., Rawashdeh R., Dayeh T., Ababneh Q., and Mahasneh A., (2007).** Isolation, characterization and screening for fiber hydrolytic enzymes-producing Streptomyces of Jordanian forest soils. *Biotechnology*, 6 (1), 120-128.
- Sanglier J.J., Wellington E. M. II, Kamoun A., Kelly C., Mercer D. K., Prinzi S. and Tngo C., (1993).** Novel bioactive compound from Actinomycetes. *Res. Microbiol.* 144: 661663.
- Sanglier J.J., et Trujillo M.,(1997).** Substances bioactives produites par les actinomycètes et stratégie de sélection de souches. *Bull Soc Fr Microbiol.* 12: 13.
- Shirling E.B. & Gottlieb D., (1966).** Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International journal of systematic Bacteriology* 16(3), 313-340.
- Shirling E.B. et Gottlieb D., (1968a).** Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. II. Species descriptions from first study. *Int J Syst Bacteriol.* 18: 69-189.
- Shirling E. B. et Gottlieb D.,(1969).** Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. IV. Species descriptions from the second, third and fourth studies. *Int J Syst Bacteriol.* 19: 391-512.
- Shirling E. B. et Gottlieb D., (1972).** Cooperative description of type strains of *Streptomyces*. V. Additional descriptions. *Int J Syst Bacteriol.* 22: 265-394.
- 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.
- Stackebrandt E., Rainey F. A. et Ward-Rainey N. L., (1997).** Proposal for a new hierarchic classification system *Actinobacteria* classis nov. *Int J Syst Bacteriol.* 47: 479- 491.
- Stackebrandt E. et Schumann P. (2006)** Introduction to the Taxonomy of Actinobacteria, dans: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K., Stackebrandt E. Prokaryotes. Springer Science, Business Media, LLC edition New York, USA : 297-321.
- Sukumaran R.K., Singhanian R.R., and Pandey A.,(2005).** Microbial cellulases production, application, and challenges. *Journal of Scientific and industrial Research.* 64, 832-844.
- Sulaiman O., Salim N., Hashim R., Yusof L. H. M., Razak, W. and Yunus, N. Y. M., (2012).** “Evaluation on the suitability of some adhesives for laminated veneer lumber from oil palm trunks,” *Mater Design* 30, 3572-3580
- Syed D.G., Dayanand A. et Pandey A.,(2009).** Production and partial purification of amylase from a novel isolate *Streptomyces gulbargensis*. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 36: 189-194.
- Sztajer H., Maliszewska L, Weiczorek J., (1988).** Production of exogenous lipase by bacteria, Fungi and actinomycetes enzyme. *Microbiol. Technol.* 10: 492-7.

T

- Tuomela M., Vikman M., Hatakka A and Itavaara M., (2000).** Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bio resour technol* 7:169–183.

U

Uchida A. et Seino A., (1997).Intra and inter generic relationships of various actinomycete strains based on the acyl types of the muramyl residue in cell wall peptidoglycane examined in glycolate test. *Int J Syst Bacteriol.* **47**: 182-190.

V

Vercesi A., Volpi E. et Locci R., (1990).Preliminary investigations of the *Streptomyces* flora of grapevine berries.*Actinomycetes* **1**(1): 1-2.

Verma N., et al., (2007). L-asparaginase: a promising chemotherapeutic agent. *Crit. Rev. Biotechnol.*, **27**(1): 45-62.

Vonothini G., Murugan M., Sivakumar K. et Sudha S., (2008).Optimization of protease production by an actinomycete Strain, PS-18A isolated from an estuarine shrimp pond. *Afr J Biotechnol.* **7**(18): 3225-3230.

Vujaklija D., Schroder W and Abramic M., (2002). A novel streptomycete lipase: cloning, sequencing and high-level expression of the *Streptomyces rimosus* GDS (L)-lipase gene. *Arch. Microbiol.* **178**(2), 124–30.

W

Waksman S.A.,(1963). Ma vie avec les microbes. *Albin Michel Edition USA*: 280.

Waksman S. A. et Henrici A. T.,(1943).The nomenclature and classification of the actinomycetes.*J Bacteriol.***46**: 337-341.

Watve M.G., Tickoo R., Jog M.M., et Bhole B.D.,(2001). How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces**Arch Microbiol.***176**: 386-390.

Williams., Charles K., Angel, J. Lawrence, Burns, Peter & Fisher, Joan E Hesper., (1973). Corinth, 1972: The Forum Area, 1-44.

Willams S.T. AND Cross T., (1971).Methods in microbiology.Academic press, London.**4** : 295-334.

Williams S.T. & Kuster E., (1964).Selection of media for isolation of *Streptomyces*. *Nature*, 202-928.

Williams S.T., Goodfellow M. et Alderson G., (1989). Genus *Streptomyces*, dans : **Williams S.T., Sharpe M.E. & Holt J.H.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, **4. Williams & Wilkins**, USA, 2452-2492.

X

Xu L.H., Li Q.R. et Jiang C.L.,(1996).Diversity of soil actinomycetes in Yunnan, China.*Appl Environ Microbiol.***62**: 244-248.

Z

Zaitlin B., Watson S., Dixon J. et Steel D., (2003).Actinomyetes in Elbow River Basin Alberta Canada.*Water Qual Res J Canada.* **38**(1): 115-125.

Annexes

Annexes 1

Matériel analytique

- Autoclave (PRESOCLAVE-II)
- Anse de platine
- Balance analytique(KERN_{KB})
- Barreaux magnétiques
- Bec bunsen
- Béchers
- Boites de pétri 90 mm
- Bain Marie (Memmert)
- Centrifugeuse (SIGMA[®])
- Distillateur
- Ecouvillons
- Eprouvette
- Erlenmeyers
- Etuve à 28 °C et à 37 °C (Memmert)
- Flacons
- Lame et Lamelle
- Micropipette de 100 ul avec embouts plastiques
- Microscope optique (OPTIKA B-350)
- pH mètre (inolab wtW SERIES)
- Pipette Pasteur
- Pince
- Plaque chauffante agitatrice (AGIMATIC-E P SELECTER[®])
- Règle graduée millimétrée
- Spatule
- Spectrophotomètre
- Tube à essais
- Vortex (TopMIX FB15024 fisher Scientific)

Annexe 2**Milieux de culture****❖ Milieu ISP4 (International Streptomyces Project 4)**

-Modification :40g/l d'NaCl ; PH 9.8

Agar	20g
Amidon soluble	10g
NaCl	1g
CaCO ₃	2g
K ₂ HPO ₄	1g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1g
Solution saline	1ml
Eau distillée	1000 ml
pH	7.4

❖ Milieu de Williams et Kuster (Williams et Kuster, 1964)

Amidon soluble	10g
Agar	20g
FeSO ₄	0.01 g
NaCl	4%
KNO ₃	2 g
K ₂ HPO ₄	2 g
MgSO ₄	0.05 g
CaCO ₃	0.0 2g
FeSO ₄	0.01 g
Eau distillée	1000 ml
pH	9

Annexe 3**Milieux pour tests enzymatiques****❖ La gélose de Gause**

KNO ₃	1.0 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄	0.5 g
NaCl	0.5 g
FeSO ₄	0.01 g
Amidon	20.0 g
Agar	30.0 g
Eau distillée	1000 ml

pH 7,4

❖ La gélose à la cellulose

Cellulose	0.5 g
NaNO ₃	0.1 g
K ₂ HPO ₄	0.1 g
MgSO ₄	0.05 g
Extrait de levure	0.05 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH 7

❖ La gélose au lait écrémé

Peptone	10 g
NaCl	05 g
Extrait de levure	03 g
Agar	20 g
Lait écrémé	50ml
Eau distillée	1000 ml

❖ **Le milieu de Sierra additionné de tween 80**

Peptone	10 g
NaCl	5g
CaC12- 1H2O	0.1g
Eau distillée	1000 ml
Agar	18 g
Tween 80	10 ml

pH 7.4

❖ **Le milieu de Sierra additionné de tween 20**

Peptone	10 g
NaCl	5g
CaC12- 1H2O	0.1g
Eau distillée	1000 ml
Agar	18 g
Tween 20	10 ml

pH 7.4

❖ **Milieu gélatine**

Peptone	10g
Extrait de viande	4g
Sodium de chlorure	2.5g
Gélatine	120g

pH 7

❖ **La gélose au jaune d'œuf (à 1%)**

Peptone	10 g
Extrait de levure	5 g
NaCl	10 g
Agar	20 g
Jaune d'œuf	100 ml
Eau distillée	1000 ml

PH 7

Colorants

❖ **La solution de lugol**

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

❖ **La solution de fuchsine**

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

❖ **Violet de Gentiane**

Violet de Gentiane	1g
Ethanol	10ml
Phénol	2g
Eau distillée	100 ml