



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 الأرض 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

**Activités enzymatiques des bactéries de la partie  
rhizosphérique de deux plantes médicinales  
(*Teucrium polium* et *Origanum vulgare*)**

**Présenté par : ALOUACHE Wafia**

**CHOUDEUR Wafa**

### Devant le jury :

**Président :** M<sup>émé</sup> SOUAGUI Yasmina MCA (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A)  
**Encadrant :** M<sup>émé</sup> ABED Hanane MAA (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A)  
**Examineur :** M<sup>émé</sup> ZERROUG Amina MCB (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A)

**Année universitaire : 2018/2019**

# *Remerciements*

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

*Ces quelques lignes vont nous permettre de remercier les responsables et les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Nous adressons notre gratitude et nous remercions **M<sup>me</sup> ZERROUG Amina** qui a dirigé ce travail, ça ne sera pas suffisant pour lui exprimer toute notre grande reconnaissance pour la confiance, la disponibilité, la générosité et le grand soutien qu'il nous a accordé pour faire aboutir ce travail.*

*Nous remercions particulièrement **Mr. SADRATI Nouari** pour son aide et ces précieux conseils.*

*Nous sommes très honorées par la présence de **M<sup>me</sup> SOUAGI Yasmina** Pour avoir accepté de présider le jury de la soutenance de notre thèse, qu'elle trouve ici nos vifs remerciements.*

*Nos remerciements sont aussi adressés aux membres de jury **M<sup>me</sup> ABED hanane** qui nous ont fait l'honneur d'avoir accepté l'évaluation ce travail et qu'elle accepte ici nos sentiments de gratitude.*

*Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire, particulièrement **Mr Khalil, M<sup>me</sup> Wahiba, , M<sup>me</sup> Khadija** pour leur disponibilité, leur aide et leur patience.*

*Merci à **Mr Zakaria** et **Mr Baghorra** qui nous ont beaucoup aider afin de réaliser ce travail. Un grand merci .*

***Wafia & Wafa***

## *Dédicaces*

*A DIEU, pour m'avoir donné la force dans les moments difficiles d'éditer ce mémoire.*

*À ma motivation de rester dans cette vie  
Mon Père et ma Mère Vous êtes ma priorité*

*À ceux qui m'ont accompagné dans ce travail avec tout  
l'amour et la patience  
Wafā Accepte mes excuses.*

*A mes chers sœurs Nora et zahia et Hanan et mes chers frères.*

*À mon cher fiancé, que je remercie pour le soutien et le réconfort qu'il m'a apporté.*

*A tous mes amies Katia et Razkia, Hanan, Zohran, fatiha et Daloula.*

*A mes collègues de spécialité.....votre connaissance est un honneur pour moi.*

*Wafia*

## *Dédicaces*

*A DIEU, pour m'avoir donné la force dans les moments difficiles d'éditer ce mémoire.*

*À ma motivation de rester dans cette vie  
Mon Père et ma Mère Vous êtes ma priorité*

*À ceux qui m'ont accompagné dans ce travail avec tout  
l'amour et la patience  
Wafia Acceptez mes excuses.*

*A mes chers soeurs Amina et Halima et Assma et Rima  
mes chers frères Fateh et Daoud*

*A tous mes amies Narimen, Amel, Lobna, Bouchra, Houda,  
Sara et Hafssa.*

*A mes collègues de spécialité votre connaissance est un  
honneur pour moi.*

*Wafa*

### Résumé

Ce travail s'intéresse à la mise en évidence des activités enzymatiques chez les bactéries rhizosphériques de deux plantes médicinales collectées pendant le mois d'avril (2019) dans la région de GHAILASSA de la wilaya de Bordj Bou Arreridj (Algérie). Après la purification, 40 différents isolats ont été isolés à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare*, et 52 à partir de celle de *Teucrium polium* sur le milieu PCA, en plus de 20 et 19 isolats de *Pseudomonas* spp. obtenus à partir de *Origanum vulgare* et de *Teucrium polium* respectivement sur les milieux King (A et B). Des tests d'activités enzymatiques: cellulase, amylase, protéase, estérase, et lipase ont été effectués, les résultats obtenus montrent que pour les isolats de *Origanum vulgare* l'activité protéolytique représente l'activité la plus élevée avec un pourcentage de 65% suivie par l'activité cellulasique (52,5%) puis l'activité lipolytique (42,5%), cependant les activités amylosique et estérasique elles étaient absentes chez tous les isolats. Dans le deuxième échantillon de *Teucrium polium*, l'activité cellulasique représente l'activité la plus élevée avec un pourcentage de 61,53% suivie par l'activité protéolytique avec 55,76%, suivie par l'activité lipolytique (36,53%), tandis que les pourcentages les plus faibles sont représentés par les activités amylosique et estérasique. Concernant les isolats de *Pseudomonas* spp., la caséine est le substrat le plus dégradé par les isolats de *Origanum vulgare* avec un pourcentage de 70%; suivi par la cellulose (20%), pour les activités amylosique, lipolytique et estérasique elles étaient absentes chez tous les isolats. Pour les isolats de *Pseudomonas* spp. de la rhizosphère de *Teucrium polium*, 42,10% des isolats sont capable de dégrader la cellulose et la caséine, cependant aucun d'entre eux ne dégrade ni l'amidon, ni le Tween 80 ni le Tween 20. Ces résultats montrent l'importance des bactéries rhizosphériques dans la production des différentes enzymes.

**Mots clés:** Bactéries rhizosphériques, activité enzymatique, *Origanum vulgare*, *Teucrium polium*.

### الملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى الكشف عن النشاطية الإنزيمية لـ 92 عزلة بكتيرية جذرية تم عزلها من نبتتين طبيئتين. تم جمعها خلال شهر أبريل 2019 في منطقة غيلاسة في ولاية برج بوعرييج (الجزائر). بعد تنقية 40 عزلة مختلفة تم الحصول عليها من *Origanum vulgare* و 52 عزلة من *Teucrium polium* تم عزلها على وسط الزرع PCA. بالإضافة إلى 20 و 19 عزلة من *Pseudomonas spp.* تم الحصول عليها من *Origanum vulgare* و *Teucrium polium* على التوالي والتي تم عزلها على أوساط الزرع King A و King B. تم إجراء إختبارات النشاط الأنزيمي لكل من السيلولاز، الأميلاز، البروتياز، الإستيراز، والليباز. أظهرت النتائج المتحصل عليها أنه بالنسبة لعزلات *Origanum vulgare* النشاطية الأعلى هي نشاطية البروتياز 65% تليها السيلولاز 52,5% بعدها الليباز 42,5%، بينما لا توجد نشاطية الأميلاز والاستراز. بالنسبة للعينة الثانية *Teucrium polium* فإن نشاطية السيلولاز تمثل أعلى نشاط 61,53% متبوعة بنشاطية البروتياز 55,76% تليها نشاطية الليباز 36,53%. في حين النشاطية الأدنى مثلتها نشاطية الأميلاز والاستراز. فيما يخص عزلات *Pseudomonas spp.* فقد أظهرت النتائج أن السيلولوز الكازيين هو الأكثر تحللا من طرف عزلات *Origanum vulgare* بنسبة 70% متبوع بالسيلولوز 20%. بالنسبة لعزلات *Teucrium polium* 42,10% منها قادرة على تحليل السيلولوز و الكازيين، إلا أن هذه العزلات غير قادرة على تحليل النشاء، Tween 20 و Tween 80. هذه النتائج تبين أهمية البكتيريا الجذرية في صناعة مختلف الإنزيمات

### الكلمات المفتاحية:

*Origanum vulgare, Teucrium polium*، عزلات، بكتيريا جذرية، نشاطية إنزيمية،

## Liste des abréviations

**BN:** Bouillon Nutritif

**EC:** Enzyme Commission

**KDa:** Kilo Dalton

**PCA:** Plate Count Agar

**PGPR:** Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

**UFC:** Unité Formant Colonie

## Liste des figures

<b>Figure 1</b>	Représentation de la rhizosphère	2
<b>Figure 2</b>	La plante <i>Teucrium polium</i>	18
<b>Figure 3</b>	La plante <i>Origanum vulgare</i>	19
<b>Figure 4</b>	La région de prélèvement des échantillons	20
<b>Figure 5</b>	Nombre des isolats obtenus sur les différents milieux de culture pour les deux sols	25
<b>Figure 6</b>	Quelques images des aspects des colonies obtenues sur PCA	25
<b>Figure 7</b>	Conservation des souches purifiées sur bouillon nutritif	26
<b>Figure 8</b>	Pourcentages des isolats actifs pour les deux échantillons	31
<b>Figure 9</b>	Quelques images des résultats de l'activité cellulasique	31
<b>Figure 10</b>	Répartition de l'activité cellulasique selon les index enzymatiques	32
<b>Figure 11</b>	Image des résultats de l'activité amylolytique	33
<b>Figure 12</b>	Répartition de l'activité amylolytique selon les index enzymatiques	34
<b>Figure 13</b>	Quelques images des résultats de l'activité protéolytique	35
<b>Figure 14</b>	Répartition de l'activité protéolytique selon les index enzymatiques	36
<b>Figure 15</b>	Quelques images des résultats de l'activité lipolytique	37
<b>Figure 16</b>	Répartition de l'activité lipolytique selon les index enzymatiques.	37
<b>Figure 17</b>	Pourcentages de <i>Pseudomonas</i> spp. actifs	40



### Liste des tableaux

<b>Tableau I</b>	Classification de l'espèce <i>Teucrium polium</i> d'après NCBI	17
<b>Tableau II</b>	Classification de l'espèce <i>Origanum vulgare</i> d'après Deysson 1967	19
<b>Tableau III</b>	Dénombrement des colonies des échantillons sur milieux PCA, king A et kingB	24
<b>Tableau IV</b>	Index enzymatique des différentes activités enzymatiques des bactéries isolés de la rhizosphère de <i>Origanum vulgare</i>	27
<b>Tableau V</b>	Index enzymatique des différentes activités enzymatiques des bactéries isolés de la rhizosphère de <i>Teucrium polium</i>	28
<b>Tableau VI</b>	Comparaison des moyennes des index enzymatiques des souches isolées à partir de la rhizosphère de <i>Origanum vulgare</i>	29
<b>Tableau VII</b>	Comparaison des moyennes des index enzymatiques des souches isolées à partir de la rhizosphère de <i>Teucrium polium</i>	30
<b>Tableau VIII</b>	Index enzymatiques des différentes activités enzymatiques chez les isolats de <i>Pseudomonas</i> spp. isolés à partir de la rhizosphère de <i>Origanum vulgare</i>	38
<b>Tableau IX</b>	Comparaison des moyennes des activités enzymatiques des souches de <i>Pseudomonas</i> spp. isolées à partir de la rhizosphère de <i>Origanum vulgare</i>	38
<b>Tableau X</b>	Index enzymatiques des différentes activités enzymatiques chez les isolats de <i>Pseudomonas</i> spp. à partir de la rhizosphère de <i>Teucrium polium</i>	49
<b>Tableau XI</b>	Comparaison des moyennes des activités enzymatiques des souches de <i>Pseudomonas</i> spp. isolées à partir de la rhizosphère de <i>Teucrium polium</i>	40

الملخص

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction.....01

## **Chapitre I: Synthèse bibliographique.**

I.1.Le sol .....	02
I.2.La rhizosphère et les rhizobactéries.....	02
I.2.1.Rhizosphère.....	02
I.2.2.Diversité bactérienne de la rhizosphère.....	03
I.2.2.1.Les rhizobactéries PGPR.....	03
I.2.3.Les <i>Pseudomonas</i> spp.....	04
I.2.3.1.Caractéristiques générales.....	04
I.2.3.2.Caractéristiques morphologiques.....	04
I.2.3.3. <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.....	04
I.2.3.4.Effets bénéfiques <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.....	05
I.3.Les enzymes d'intérêt industriel.....	05
I.3.1.Origine des enzymes industrielles.....	05
I.3.2.Enzymes importantes à l'échelle industrielle.....	05
I.3.2.1.Protéase.....	05
I.3.2.1.1.Définition.....	05
I.3.2.1.2.Classification des protéases .....	06
I.3.2.1.3.Sources microbiennes des protéases.....	06
I.3.2.1.4.Les applications industrielles de protéase.....	07
I.3.2.2.L'alpha-amylase.....	08
I.3.2.2.1.Définition.....	08
I.3.2.2.2.Nomenclature.....	08

I.3.2.2.2.Sources microbiennes de L'alpha-amylase.....	08
I.3.2.2.3.Classification des amylases.....	08
I.3.2.2.4.Applications industrielles des amylases.....	09
I.3.2.3.Cellulases.....	10
I.3.2.3.1.Définition des cellulases.....	10
I.3.2.3.2.Nomenclature des cellulases.....	11
I.3.2.3.3.Classification des cellulases.....	11
I.3.2.3.4.Les Sources microbiennes de cellulase.....	11
I.3.2.3.5.Applications industrielles des cellulases.....	12
I.3.2.4.Les enzymes lipolitiques.....	13
I.3.2.4.1.Les lipases.....	13
I.3.2.4.1.1.Definition.....	13
I.3.2.4.1.2.Source microbiennes des lipases.....	14
I.3.2.4.2. Les estérases.....	14
I.3.2.4.2.1.Definition.....	14
I.3.2.4.2.2. Source microbiennes des estérases.....	14
I.3.2.4.3. Applications industrielles des enzymes lipolytiques.....	15
I.4.Définition des plantes médicinales.....	16
I.5.Les plantes médicinales sélectionnées.....	17
I.5.1. <i>Teucrium polium</i> .....	17
I.5.1.1.Présentation de l'espèce.....	17
I.5.1.2.Classification botanique.....	17
I.5.1.3.Description de la plante.....	18
I.5.2. <i>Origanum vulgare</i> .....	19
I.5.2.1.Classification botanique .....	19
I.5.2.2.Description botanique .....	19

## **Chapitre II: Matériel et méthodes**

II.1. Matériel.....	20
II.1.1. Matériel végétal.....	20
II.1.2. Matériel microbien.....	20

II.1.3. Matériel lourd et chimique.....	20
II.2. Méthodes .....	20
II.2.1. Échantillonnage et isolement de bactéries rhizosphériques.....	20
II.2.1.1. Échantillonnage du sol rhizosphérique.....	20
II.2.1.2. Isolement des bactéries.....	21
II.2.1.3. Purification et conservation des isolats.....	21
II.2.2. Mise en évidence de l'activité enzymatique.....	21
II.2.2.1. Détermination de l'activité cellulasique .....	21
II.2.2.2. Détermination de l'activité estérasique.....	22
II.2.2.3. Détermination de l'activité lipolytique.....	22
II.2.2.4. Détermination de l'activité protéasique.....	22
II.2.2.5. Détermination de l'activité amylolytique.....	22

### **III. Résultats et Discussion**

III.1 Isolement des bactéries .....	24
III.2 Purification et conservation des isolats .....	25
III.3 Mise en évidence de l'activité enzymatique.....	26
III.3.1 L'activité enzymatique de la flore totale isolée sur PCA.....	26
III.3.1.1 Activité cellulasique.....	31
III.3.1.2 Activité amylolytique.....	33
III.3.1.3 Activité protéolytique.....	34
III.3.1.4 Activité lipolytique et estérasique .....	36
III.3.2 L'activité enzymatique des isolats de <i>Pseudomonas</i> spp .....	37

**Conclusion et perspectives**

**Références bibliographiques**

**Annexes**

Le sol est un fantastique réservoir de microorganismes, en termes de diversité et de densité. Il a été estimé qu'un gramme de sol contenait de  $10^{10}$  à  $10^{11}$  bactéries, et de 6000 à 50000 espèces bactériennes (**Curtis et al., 2002 ; Horner-Devine et al., 2003**).

Parmi les microorganismes établissant une symbiose associative avec la plante, se trouve un ensemble de bactéries qualifiées de PGPR (*Rhizobactéries* promotrices de la croissance des plantes) pour leurs effets stimulateurs de la croissance des plantes qu'elles colonisent. Ces rhizobactéries sont présentes dans une zone d'interface entre la plante et le sol, appelée rhizosphère qui est composée de deux parties, l'endorhizosphère, et l'exorhizosphère (**Qureshi, 2012**). Ces bactéries intéressantes libres ou liées, colonisent les racines, stimulent la croissance des plantes et augmentent le rendement. Ces PGPR sont aussi connus pour leur capacité à induire une résistance contre divers microorganismes phytopathogènes. (**Bhattacharyya et Dhruva, 2012**)

Les enzymes d'origine microbienne telles que les cellulase, amylase, lipase, protéase, etc. peuvent servir potentiellement dans les industries telles que l'industrie alimentaire humaine et animale, les détergents et l'industrie pharmaceutique, etc en raison de leur faible coût, grande productivité, protection de l'environnement, leur plasticité et leur grande disponibilité (**Burhan et al., 2003**)

C'est dans cette optique que notre travail est dirigé; il s'agit d'un isolement des bactéries à partir de la rhizosphère de deux plantes médicinales. Ces bactéries sont sélectionnées sur la base de leur production d'enzymes d'intérêt industriel

La stratégie d'étude de ce travail consiste à :

L'isolement et la purification des bactéries à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium* (pouliot de montagne) et de l'*Origanum Vulgare* (origan).

La mise en évidence des activités enzymatiques (cellulase, amylase, protéase, lipase et estérase).

Quelle sont les capacités des bactéries rizosphériques à produire des enzymes d'intérêt industrielle ?

## I. Synthèse bibliographique

### I.1. Sol

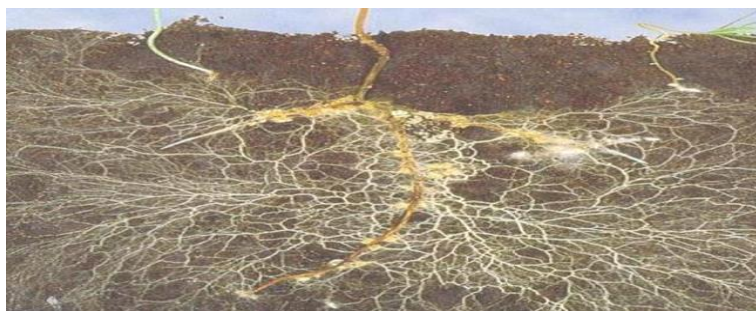
Le sol est la partie superficielle de l'écorce terrestre, plus ou moins tendre et friable, qui est le résultat de l'action conjuguée des altérations des roches mères du sous-sol; et de la décomposition de la matière organique sous l'effet de divers facteurs (climats, nature de la roche mère, activités biologiques etc., **Bouras, 2014**). Il est constitué d'une phase solide (matière inorganique et organique des organismes vivants), une phase liquide (solution du sol) et une phase gazeuse (dioxyde de carbone, oxygène, azote) (**Aminkhoudja, 2013**).

### I.2. La rhizosphère et les rhizobactéries

#### I.2.1. La rhizosphère

Le terme rhizosphère dérive d'un mot grec «Rhizo» ou «Rhiza» qui signifie racine et «Sphère» qui signifie champs d'influence (**Morgan et al., 2005**). La rhizosphère est une fine couche de sol qui entoure immédiatement les racines des plantes. C'est une zone extrêmement importante et active pour l'activité racinaire et le métabolisme d'un grand nombre de micro-organismes tels que les bactéries, les champignons, les protozoaires et les algues qui coexistent dans la rhizosphère. Les bactéries sont les plus abondantes d'entre eux ( $10^8$ - $10^9$ /g) (**Mwajita et al., 2013**).

La rhizosphère est définie aujourd'hui comme étant le lieu d'interaction entre le sol; la plante et les microorganismes. Ces interactions dépendent des conditions physiques du milieu et des organismes mis en jeu (**Norini, 2007**). Elle est composée de deux parties l'endo-rhizosphère ou rhizoplan (la surface des racines), et l'exo-rhizosphère ou le sol rhizosphérique figure1. (**Morgan et al., 2005**).



**Figure 1 :** Représentation de la rhizosphère (Anonyme1).

**I.2.2. Diversité bactérienne de la rhizosphère**

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants dans les sols. Un gramme de sol sec pourrait contenir  $10^7$  à  $10^{10}$  bactéries correspondant à plusieurs milliers d'espèces différentes (Amin khoudja, 2013).

La population microbienne du sol dépend de la composition de l'environnement, alors que la plupart des micro-organismes vivent comme des saprophytes, d'autres peuvent être parasites et symbiotiques par rapport aux substrats organiques vivants. (Manoharachary et Mukerji, 2006)

**I.2.2.1. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes**

Les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes par différents moyens se nomment Bactéries ou rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ou PGPR : plant growth promoting rhizobacteria (Adesemoye et Kloepper, 2009). Les rhizobactéries incluent diverses espèces de *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus Burkholderia*, *Serratia*, *Xanthomonas* et *Klebsiella* (Babalola, 2010).

Ce sont des bactéries d'intérêt agricole qui possèdent la capacité de stimuler augmenter la croissance des plantes par différents mécanismes (Adesemoye et al., 2009). Ces mécanismes influencent la croissance des plantes par des modes directs ou indirects (Govindasamy et al., 2011; Jha et al., 2012).

- **Les modes directs**, incluent la fixation d'azote atmosphérique, l'apport de nutriments non disponibles, (phosphore et autres nutriments minéraux), la production de régulateurs de croissance végétale (auxines, cytokinines et gibbérellines) et la répression de la synthèse d'éthylène (Parray et al, 2015).
- **Les modes indirects**, il s'agit de l'élimination des agents phytopathogènes par la compétition pour l'espace et les nutriments, la synthèse d'enzymes hydrolytiques, l'inhibition des enzymes ou des toxines produites par les pathogènes, et l'induction des mécanismes de résistance de la plante (Antoun et Prévost, 2005).

### I.2.3. Les *Pseudomonas* spp.

Le genre *Pseudomonas* a été découvert en 1894 par Migula, il appartient au phylum des Proteobacteria, classe des Gammaproteobacteria, famille des *Pseudomonadaceae*, ordre des Pseudomonales (Moore *et al.*, 2006).

#### I.2.3.1. Caractéristiques générales

Ce sont des bactéries ubiquistes particulièrement abondantes dans les sols, les eaux, et souvent pathogènes des animaux et des végétaux. Elles possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Ainsi leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable (Haas et Keel, 2003). Cette grande rhizocompétence vient de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres bactéries, et de leur capacité à utiliser une gamme de substrats très large, souvent issus des exsudats racinaires, comme source d'azote ou de carbone. De plus, elles sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques (Moore *et al.*, 2006).

#### I.2.3.2. Caractéristiques morphologiques

Ces bactéries sont des bacilles à Gram négatif de 0,5 à 1 µm de diamètre sur 1,5 à 5µm de long, mobiles et asporulées (Bell-Perkins et Lynch, 2002). Ce sont des aérobies obligatoires, à l'exception de certaines qui peuvent utiliser le NO<sup>3-</sup> comme accepteur d'électrons. Elles ont un métabolisme mésophile et chimio-organotrophe oxydatif (Moore *et al.*, 2006).

#### I.2.3.3. *Pseudomonas* spp. fluorescents

Les différentes espèces de *Pseudomonas* sont divisées en cinq groupes selon leur ARNr. Le sous-groupe des *Pseudomonas* fluorescents, appartenant au premier groupe génomique, est certainement le plus étudié. Il se distingue par la production de pigments jaune-vert fluorescents (pyoverdine ou pseudobactine) dans des conditions de carence en fer. Les espèces appartenant à ce groupe sont : *Pseudomonas aeruginosa*, espèce pathogène pour l'homme, *P. syringae*, espèce phytopathogène et *P. fluorescens*, *P. putida*, et *P. chlororaphis* (*P. aerufaciens*) rassemblent des espèces saprophytes (Höfte et Altier, 2010).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents associés aux plantes incluent des souches



pathogènes et des souches bénéfiques. Les souches influençant avantageusement l'hôte végétal sont désignées sous le terme « plant-probiotic fluorescent *Pseudomonas* spp. » (**Höfte et Altier, 2010**).

#### **I.2.3.4. Effets bénéfiques *Pseudomonas* spp. fluorescents**

Différents mécanismes ont été avancés pour expliquer les effets bénéfiques de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Ces bactéries s'attachent d'abord à la racine et sont donc distribuées de façon passive. Puis elles se multiplient et colonisent de façon active la rhizosphère (**Lemanceau, 1992; Brimecombe et al., 2007**). Les exsudats racinaires, et en particulier les sucres et les acides aminés, attirent les bactéries par chimiotactisme à la surface des racines. Ils stimulent notamment la mobilité flagellée des bactéries, ce qui permet à ces dernières de coloniser la rhizosphère (**de Weert et al., 2002**).

### **I.3. Les enzymes d'intérêt industriel**

#### **I.3.1. Origine des enzymes industrielles**

Les enzymes industrielles proviennent de source végétale, animale ou microbienne. L'extraction à partir des plantes et des animaux est cependant limitée par des paramètres difficiles à contrôler. En effet, les principaux avantages des enzymes de production par rapport aux enzymes d'extraction sont une production indépendante des contraintes saisonnières et géographiques, une possibilité d'utilisation de matières premières bon marché, des rendements de production pouvant être augmentés de façon importante par l'amélioration des souches microbiennes et l'optimisation des conditions de production (**Scriban, 1993**).

#### **I.3.2. Enzymes importantes à l'échelle industrielle**

##### **I.3.2.1. Protéase**

###### **I.3.2.1.1. Définition**

Les enzymes protéolytiques (protéases ou protéinases) font partie de la classe des hydrolases, ce sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des protéines dans des sites bien spécifiques en scindant la liaison peptidique qui lie deux acides aminés dans une chaîne peptidique. Elles sont produites extracellulairement comme intracellulairement (**Kumar et al., 2008**). Ces enzymes sont généralement synthétisées sous forme de zymogènes inactifs, ce qui permet de protéger la cellule contre tout effet désastreux. Elles ont beaucoup de fonctions

physiologiques, variant de la digestion générale des protéines à des processus régulateurs plus spécifiques (**Kumar et al., 2008**). La concentration élevée de cette enzyme extracellulaire est un indice de la capacité biologique présente dans le sol pour dégrader les différents substrats azotés et libérer de l'azote minéral (**Petit et Jobin, 2005**).

#### **I.3.2.1.2. Classification des protéases**

Les protéases sont classées selon la gamme du pH dans laquelle leur activité est optimale, en protéases acides, neutres et alcalines (**Kumar et al., 2008**). Elles se différencient également selon leur site d'action en deux groupes :

- **Les exopeptidases** qui agissent seulement sur les liens peptidiques présents des extrémités de la chaîne peptidique. En se basant sur la nature de l'extrémité N ou C terminale, ces exopeptidases sont classées en amino et carboxypeptidases, respectivement.
- **Les endopeptidases**, elles sont caractérisées par leur action spécifique à l'intérieur de la chaîne peptidique. La plupart des enzymes utilisées industriellement sont des endopeptidases. Celles-ci sont divisées en quatre familles en se basant sur le mécanisme catalytique; les protéases sérines, les protéases cystéines, les protéases aspartiques, et les métalloprotéases. Ces dernières forment le groupe de protéases le plus varié (**Kumar et al., 2008**).

#### **I.3.2.1.3. Sources microbiennes des protéases**

Les protéases microbiennes sont préférées à celles des autres sources car elles possèdent presque toutes les caractéristiques désirées pour leurs applications industrielles (**Sandhya et al., 2005**). Elles sont produites par une grande variété de bactéries dont, les actinomycètes, de moisissures et de levures (**Devi et al., 2008**). Elles représentent 40% des enzymes du marché mondial (**Sandhya et al., 2005**).

Quelques exemples de microorganismes producteurs de protéases :

- **Bactéries:** *Bacillus licheniformis* (**Ferrero et al., 1996**).
- **Moisissures:** *Aspergillus oryzae* (**García-Gómez et al., 2009**).
- **Levures:** *Aureobasidium pullulans* (**Chi et al., 2007**).

**I.3.2.1.4 Les applications industrielles des protéases**

Les protéases occupent une grande part du marché des enzymes industrielles; les principaux secteurs industriels employant des protéases sont :

**A. Industrie alimentaire**

Les principales industries alimentaires utilisant les protéases sont :

- **Fromageries:** L'application majeure des protéases dans l'industrie alimentaire est dans la fabrication des fromages (**Rao et al., 1998**); Les protéases utilisées à cette fin sont produites par des microorganismes tels que *Mucor miehei*, *Bacillus subtilis* et *Endothia parasitica*. Les protéases fongiques acides, alcalines et neutres produites par *Aspergillus oryzae* ont également été utilisées en industrie laitière (**Aguilar et al., 2008**).

- **Boulangeries :** Les endo et les exoprotéinases d'*Aspergillus oryzae* sont utilisées pour modifier le gluten du blé par une protéolyse limitée selon les caractéristiques désirées de la pâte; un tel traitement enzymatique permet de réduire le temps de pétrissage (**Aguilar et al., 2008**).

**B. Industrie pharmaceutique et médicale**

La grande diversité et spécificité des protéases est un avantage qui permet à ces enzymes d'être utilisées dans le développement des agents thérapeutiques efficaces. Par exemple, des protéases d'*Aspergillus oryzae* (Luizim et Nortase) sont utilisées comme aide à la digestion; des collagénases provenant de *Clostridium* sp. ou des subtilisines sont utilisées en combinaison avec des antibiotiques dans le traitement des brûlures, plaies et des ulcères dermiques (**Rao et al., 1998**).

**C. Détergents**

A l'heure actuelle, les protéases sont ajoutées comme des ingrédients clé dans la formulation des détergents pour usage domestique (détergents à lessive, détergents à vaisselles), les produits de nettoyage pour usage industriel et les produits de nettoyage pour les lentilles cornéennes et les appareils dentaires. Cependant, le marché le plus important au niveau des détergents est de loin celui des détergents à lessive (**Kumar et al., 2008**).

### I.3.2.2.L'alpha amylase

#### I.3.2.2.1. Définition

L' $\alpha$ -amylase comme toutes enzymes, est une macromolécule qui fait partie de la classe des protéines globulaires. Elle est une enzyme ubiquitaire, synthétisée dans tous les genres de la vie. (Merabati, 2006). Qui hydrolyse au hasard les liaisons osidiques (1,4), de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon et du glycogène à l'exclusion des liaisons terminales de ces chaînes. Elle provoque la libération du glucose, du maltose et surtout d' $\alpha$  –dextrines (Benaouida , 2008).

#### I.3.2.2.2.Nomenclature

**Nom systématique :**  $\alpha$ -(1-4) D-glucaneglucanohydrolase.

**Nom codifié :** E.C .3.2.1.1

**Nom recommandé :** Alpha-amylase.

**Synonymes:** glycogenase, endoamylase, maxilase, taka-amylase A, thermolase, clarase, amylopsin (Graber, 1989).

#### I.3.2.2.3. Sources microbiennes de l'alpha amylase

**A. L'amylase fongique :** La production industrielle de l'enzyme à partir des microorganismes fongiques, parmi les genres *Aspergillus* et *Penicillium*, existe depuis longtemps du fait que la première production d'  $\alpha$ -amylase a été réussie par Takamine en 1894. L' $\alpha$ -amylase fongique est d'une thermostabilité assez faible, son optimum d'action se situe entre 50°C et 55°C (Fogarty et al., 1994).

**B. L'amylase bactérienne :** Ce type d'enzyme est obtenu principalement par des fermentations des Bacillacées. *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* ont été caractérisées comme souches productrices d' $\alpha$ -amylase (Bousseboua, 2002). De nombreuses amylases de propriétés industrielles ont été découvertes chezdes bactéries acidophiles, alcalinophiles et thermophiles. Ces enzymes interviennent dans la transformation de l'amidon par fragmentation rapide en clivant les liaisons  $\alpha$  (1→4) (Nadirman et al., 2006).

#### I.3.2.2.3.Classification des amylases

Les amylases peuvent être divisées en deux catégories endoamylases et exoamylases. Les endoamylases catalysent l'hydrolyse à l'intérieur de la molécule d'amidon d'une manière

aléatoire. Cette action provoque la formation d'oligosaccharides linéaires et ramifiés de diverses longueurs de chaîne. Les exoamylases hydrolysent l'extrémité non réductrice, pour donner successivement des produits finaux plus courts. **(Gupta et al., 2003).**

#### **I.3.2.2.4. Applications industrielles des amylases**

En raison de leur productivité et leur thermostabilité, les amylases sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique, textile, papeterie, et détergent **(Prakash et Jaiswal, 2009).**

##### **A. En bioconversion de l'amidon**

Les  $\alpha$ -amylases sont largement utilisées dans l'industrie boulangère, elles interviennent dans l'hydrolyse de cette macromolécule en sirops de glucose et fructose dans les procédés de liquéfaction **(Nielsen et Borchert, 2000).**

##### **B. En panification et biscuiterie**

L'usage de l'alpha amylase « améliorant de panification » est devenu une pratique de fabrication machinale dans l'industrie panaire, non seulement pour améliorer la qualité du pain mais aussi pour contrôler le processus de fabrication. Cette industrie utilise les  $\alpha$ -amylases pour la régulation des activités diastasiques des farines par hydrolyse de l'amidon en maltose. Cette opération favorise la formation de la mie souple en boulangerie et améliore la texture des gâteaux pâtisseries et des biscuits **(Malhotra et al., 2002).**

##### **C. En sucrerie**

Parfois, les sirops de canne peuvent se trouver perturbés par la présence de contaminations amylacées augmentant aussi leur viscosité et de nuire ensuite au processus de cristallisation. Cet inconvénient est éliminé par l'introduction d'une petite quantité d'amylase bactérienne immobilisée à une température égale ou supérieure à 80°C **(Reddy et al., 2003).**

##### **D. En Désencollage des textiles**

Les procédés modernes de production de textiles exigent souvent l'application de fortes pressions entraînant le cassage des fils, notamment pendant le tissage. Une couche de protection temporaire peut être appliquée sur les fils, dont l'amidon constitue un des matériaux attrayant par son faible coût et sa disponibilité. A cause de leurs stabilités à la

chaleur, les amylases bactériennes conviennent très bien à l'industrie du textile, par dégradation de l'apprêt amylicé lors du désencollage (Ahlawat, 2009).

### **E. En industrie des détergents**

L'industrie des détergents est la première consommatrice d'enzymes, tant en termes de volume que de valeur. L'utilisation des enzymes dans la formulation des détergents améliore leur capacité à enlever les taches difficiles et la lessive, tout en respectant l'environnement. Les amylases viennent en seconde position dans la formulation de détergents enzymatiques, et elles sont représentées dans 90% de tous les détergents liquides (Hmidet, 2009; Mitidieri, 2006).

### **F. Domaine médical et pharmaceutique**

Dans le domaine pharmaceutique, les amylases sont utilisées comme agent anti-inflammatoire et aussi comme aide digestif pour éviter les dyspepsies et les fermentations intestinales. Dans le domaine médical, le taux de l' $\alpha$ -amylase dans les liquides biologiques peut être utilisé pour détecter certaines maladies: insuffisance cardiaque, oreillons, cancer du pancréas (Pandey et al., 2000).

### **G. Production d'alcool et du biocarburant**

La commercialisation d'amylases est fortement stimulée par le développement des biocarburants de première génération, en particulier pour la production de bioéthanol. L'amidon est le substrat le plus souvent utilisé en raison de son faible prix et de sa disponibilité (Chi et al., 2009). La production de l'éthanol par les levures fermentaire joue un rôle colossal dans l'économie du Brésil. Parmi les bactéries amylolytiques utilisées dans ce domaine, on citera *Bacillus licheniformis* ou bien des souches de *Escherichia coli* modifiées génétiquement ou de *Bacillus subtilis* (Pandey et al., 2004).

#### **I.3.2.3. Cellulases**

##### **I.3.2.3.1. Définition des cellulases**

Les cellulases [1,4-(1,3 ; 1,4)- $\beta$ -D-Glucanohydrolase] se rapportent à un groupe d'enzymes qui, agissant ensemble, hydrolysent la cellulose en sucres simples. Elle est l'une des principaux membres de la famille des glycosides hydrolases. (Korish, 2003).

### I.3.2.3.2. Nomenclature des cellulases

**Nom codifié :** E.C.3.2.1.4

**Nom systématique :** 1,4-(1,3 ; 1,4)- $\beta$ -D-Glucan 4-glucanohydrolase.

**Nom recommandé :** Cellulase.

**Synonymes :** Endoglucanase, Endo-1,4- $\beta$ -Glucanase, Cellulase carboxyméthylque,  $\beta$ -1,4-endoglucanhydrolase, Celludextrinase, Avicelase, etc. (**Schamburg et Salzmann, 1991**).

### I.3.2.3.3. Classification des cellulases

C'est un système enzymatique complexe, composé de trois types principaux d'enzymes: Endo  $\beta$  (1-4)-glucanase ou endocellulase (EC 3.2.1.4), Exo  $\beta$  (1-4)- glucanase ou cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91),  $\beta$  (1-4)-glucosidase ou cellobiase (EC 3.2.1.21) (**Xu, 2002**).

**A. L'endo-cellulase (EC 3.2.1.4) :** Elle casse les liaisons internes pour perturber la structure cristalline de la cellulose et pour exposer différentes chaînes de polysaccharide de cellulose, en diminuant rapidement le degré de polymérisation du substrat. Les endoglucanases coupent la cellulose aléatoirement au niveau des zones amorphes de la cellulose, générant de nouvelles extrémités de chaînes. (**Xu et al., 2000**).

**B. L'exoglucanase (EC 3.2.1.91):** Elle attaque les liaisons  $\beta$  (1-4) glycosidiques des chaînes de cellulose par les extrémités non réductrices et libère exclusivement du cellobiose(**Xu, 2002**).

**C. La cellobiase (EC 3.2.1.21):** Elle hydrolyse les liaisons  $\beta$  (1-4) glycosidiques du cellobiose, pour donner deux molécules de glucose (**Onsori et al., 2005**).

### I.3.2.3.4. Les Sources microbiennes de cellulase

Les bactéries et les moisissures utilisent la cellulose pour la production de quantités substantielles d'enzymes extracellulaires qui sont alors facilement récupérées du milieu de culture après fermentation, bien que ces enzymes, peuvent être présentes sur la surface des cellules (**Rapp et Beerman, 1991**).

### A. Les bactéries cellulolytiques

De nombreuses bactéries sont capables de se développer sur un substrat cellulosique dans la nature (Vidaud, 1984). Le système cellulastique des bactéries est plus simple que celui des champignons; il se compose uniquement des activités endo-glucanase et  $\beta$ -glucosidase (Bekhouche et al., 1991). Parmi les bactéries cellulolytiques, certaines sont aérobies (*Bacillus subtilis*, et *Pseudomonas*), d'autres sont anaérobies strictes (*Clostridium thermocellum*, *Clostridium stercorarium*) (Vidaud, 1984) ou encore des anaérobies facultatives (*Erwinia chrysantharum*). Cette dernière et le *Clostridium* sp ont été étudiés du fait de leur potentialité à transformer la cellulose en éthanol (Nevalainen et Palva, 1978).

### B. Les champignons cellulolytiques

De nombreux champignons sont cellulolytiques. Ils produisent des endoglucanases, des exoglucanases et des  $\beta$ -glucosidases. *Trichoderma reesei* est le champignon le plus étudié, il produit au moins 2 exoglucanases, 5 endoglucanases et 2  $\beta$ -glucosidases (Barnett et al., 1991; Takashima et al., 1999). Tous ces microorganismes sont capables de dégrader la cellulose native. Chez les levures, les genres pouvant présenter une activité cellulastique sont beaucoup plus rares, néanmoins on peut citer le genre *Trichosporon*, *Candida wickerhamii* dont l'activité cellulastique est uniquement du type  $\beta$ -glucosidase (Scriban, 1999).

### I.3.2.3.5. Applications industrielles des cellulases

#### A. En industrie agro-alimentaire

Les cellulases sont utilisées pour faciliter la filtration des diverses suspensions riches en fibres cellulosiques manipulées par ce type d'industrie (Scriban, 1993). Les cellulases sont employées avec d'autres enzymes dégradant la paroi végétale, dans le traitement des fruits et de légumes et dans l'industrie des boissons.

#### B. Industrie du textile et des détergents

Les textiles et les détergents constituent les plus grands marchés mondiaux pour l'utilisation des cellulases. Les cellulases sont employées dans l'industrie du textile pour donner l'aspect aux vêtements en jean après lavage (Gusakov et al., 2000).



**C. Industrie du papier (papetière)**

L'addition de cellulases aux suspensions de pâtes (en cours de lavage) ou en suspension de pâtes de papiers de recyclage, améliore significativement leur filtrabilité et conduit à des économies importantes de consommation d'eau (**Scriban, 1999**).

**D. Nutrition animale**

C'est un autre marché qui pourrait s'ouvrir pour ces enzymes utilisées comme additifs pour l'alimentation du bétail car l'addition de cellulases aux aliments pour volailles ou porcins améliore la digestibilité de leur fraction cellulosique (**Gusakov et al., 2000**).

**E. Domaine thérapeutique**

L'utilisation quasi confidentielle de certaines cellulases dans des formules médicamenteuses à vocation d'aide digestive. Ainsi, des cellulases de *Trichoderma viride* sont utilisées en association avec des  $\alpha$ -amylases fongiques, pour éviter les dyspepsies et les fermentations intestinales (**Scriban, 1999**).

**I.3.2.4. Les enzymes lipolytiques**

Les lipases sont des enzymes largement répandues dans la nature et font partie de la famille des hydrolases qui interviennent dans l'hydrolyse des lipides. Vu la polyvalence de ces enzymes, les lipases ont attiré l'attention des chercheurs scientifiques grâce à leur large spectre d'application dans l'industrie alimentaire, la production des détergents, les produits pharmaceutiques, cuir, textile, cosmétique, et l'industrie du papier.

Les carboxylestérases (Carboxyl ester hydrolase) comprennent deux groupes d'enzymes, à savoir les estérases non spécifiques (E C 3.1.1.1) et les lipases (E C 3.1.1.3), différenciés sur la base de leur spécificité de substrat (**Chahinian and Sarda, 2009**).

**I.3.2.4.1. Les lipases****I.3.2.4.1.1. Définition**

Encore appelées les triacylglycérolacyl hydrolases ou lipases. Ce sont des enzymes atypiques de par leur mécanisme d'action et leur spécificité du substrat. Elles font partie de la classe des hydrolases d'esters carboxyliques. Elles sont largement présentes chez les plantes et chez les animaux ainsi que chez les microorganismes. Elles peuvent agir en tant

qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique. En tant qu'hydrolases, elles sont responsables du catabolisme des triglycérides, leurs substrats préférentiels sont les acides gras et le glycérol (**Reis et al., 2009**).

L'hydrolyse des liaisons esters formées par des acides gras et du glycérol est catalysée par les lipases, à l'interface eau-lipide. Elles sont également capables de catalyser la réaction réversible de synthèse et échangeuse de groupes d'esters et résolution de mélange racémique en alcools et acides optiquement actives, dans le milieu eau /solvant organique immiscible des lipases sont capables d'hydrolyser des phospholipides, des esters de cholestérol et même parfois certains esters synthétiques.

#### **I.3.2.4.1.2. Sources microbiennes des lipases**

Après les protéases et les carbohydrases, les lipases sont considérées comme le troisième plus grand groupe basé sur le volume total des ventes. Les lipases sont largement répondues chez les bactéries, les levures et les champignons filamenteux. Elles sont aussi bien produites chez les bactéries à Gram positif telles que celles des genres *Bacillus* et *Staphylococcus* que par des bactéries à Gram négatif telles que *Pseudomonas*. Elles sont également largement répondues chez les levures du genre *Candida* ou *Geotricum* ainsi que chez les champignons filamenteux tels que *Rhizopus* ou *Thermomyces* (**Fickers et al., 2008**).

#### **I.3.2.4.2. Les estérases**

##### **I.3.2.4.2.1. Définition**

Les estérases (E C 3.1.1.1) sont des lipases qui hydrolysent les solutions d'esters de chaîne acyl courte soluble dans l'eau, elles sont inactifs contre les triacylglycérols à longue chaîne insoluble dans l'eau (**Chahinian et Sarda, 2009**). Elles sont localisées dans le réticulum endoplasmique, le cytosol de différents tissus et abondantes dans le foie. Elles manifestent une large spécificité en substrat tels que amides, esters, thioesters, hydrolysent un grand nombre de composés de différentes structures et jouent un rôle très important dans l'élimination des produits toxiques et xénobiotiques (**Gilham et Lehner, 2005**).

##### **I.3.2.4.1.2. Sources microbiennes des estérases**

Les estérases sont produites par un ensemble des microorganismes, tels que *Streptomyces* sp. (**Nishimura et Inouye, 2000**), *Pseudomonas* sp. (**Prim et al., 2006**;

Tserovska et al., 2006), *Bacillus* sp. (Ding et al., 2014; Metin et al., 2006), *Lactobacillus* sp. (Choi et Lee, 2001), *Micrococcus* sp. (Fernández et al., 2004), *Ophistoma* sp. (Calero-Rueda et al., 2002), *Penicillium* sp. (Horne et al., 2002), *Aspergillus* sp. (Giuliani et al., 2001), *Humicola* sp. (Hatzakis et al., 2003), *Saccharomyces* sp. (Lomolino et al., 2003), *Candida* sp. (Ghosh et al., 1991).

#### I.3.2.4.3. Applications industrielles des enzymes lipolytiques

##### A. Les lipases en tant qu'hydrolases

###### - Applications dans l'industrie agro-alimentaire

Un grand nombre d'applications hydrolytiques additionnelles ont été décrites pour les lipases microbiennes, y compris le développement de saveur pour les produits laitiers (fromage, beurre, margarine, boissons alcooliques, chocolat et bonbons) (Najjar, 2010). Dans l'industrie agroalimentaire, les lipases sont couramment utilisées en boulangerie, en biscuiterie, en chocolaterie. Elles interviennent dans la maturation de certaines charcuteries (saucissons, salamis) (Hasan et al., 2006).

###### - Applications dans les détergents

Les taches d'huile et de graisse ont toujours été difficiles à enlever. Souvent, on n'y parvenait qu'en cuisant le linge. Mais bon nombre de textiles modernes doivent être lavés à températures modérées, ce qui rend la tâche plus ardue encore (Jaeger et Reetz, 1998; Najjar, 2010). Les lipases sont capables, en effet, de fragmenter en petites particules les taches de graisse, par exemple de beurre, d'huile et des produits de beauté. Le bain de lessive pourra ensuite évacuer ces particules (Sharma et al., 2001; Fickers et al., 2008).

##### A- Applications en oléochimie

Les applications potentielles des lipases dans l'industrie oléochimique (biotransformation des corps gras) sont nombreuses. Cette transformation est encore majoritairement réalisée par des procédés chimiques consommant beaucoup d'énergie comme l'hydrolyse, la glycérolyse et l'alcoololyse. Les procédés chimiques d'hydrolyse des graisses et de glycérolyse des huiles demandent des conditions sévères de température (240-260°C) et de pression (60 bar),. (Volkl et al., 1993).

**B. Applications en synthèse chimique**

Les lipases font partie des biocatalyseurs les plus utilisés en synthèse organique pour des raisons différentes, les lipases peuvent accepter une grande variété des substrats synthétiques tout en gardant une régiosélectivité ainsi qu'une reconnaissance des molécules chirales. Les lipases possèdent en général une structure très stable qui leur permet de résister aux effets des solvants organiques. La réaction d'hydrolyse catalysée dans l'eau peut facilement être inversée dans un milieu non-aqueux pour permettre la synthèse d'esters ou la transestérification (**Kazlauskas et Weber, 1998**).

**C. Applications en tannerie**

Les lipases sont également couramment utilisées en tannerie. Avant le tannage, les peaux sont lavées dans des bains alcalins (pH 8-13) en présence de lipases de façon à pouvoir éliminer les graisses sous cutanées. L'utilisation de lipases permet de diminuer la quantité de surfactant et de détergent à utiliser dans les bains de lavage, ce qui contribue à l'obtention de peaux plus souples et plus élastiques (**Fickers et al., 2008**).

**D. Les lipases en industries cosmétique**

Dans l'industrie des cosmétiques et de la parfumerie, les lipases sont utilisées dans la synthèse d'arôme soit par réactions de transestérification, soit par estérification directe. En effet, de nombreux esters de faibles masses moléculaires tels que l'acétate d'éthyle, l'acétate d'isoamyle sont des constituants d'arôme. Elles ont un grand potentiel commercial dans les produits de beauté et des médicaments tels que produits de soin de la peau. (**Jaeger et Eggert, 2002; Hasan et al., 2006**).

**E. Application médicale et pharmaceutique**

Elles sont impliquées dans la synthèse des médicaments ou dans la préparation d'intermédiaire homochiral optiquement actif. C'est le cas de lanikkomycin-B, des anti-inflammatoires non stéroïdiens, de certains agents antimoraux, de certains antibiotiques ou vitamines (**Jaeger et Eggert, 2002**).

**I.4. Définition des plantes médicinales**

La plante, organisme vivant, marque son identité par des spécificités morphologiques, à l'origine de la classification botanique, mais aussi biochimiques, liées à des voies de

biosynthèses inédites, représentant l'intérêt de l'usage des plantes médicinales (Bruneton, 1987).

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses". Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (Debuigne, 1974).

## I.5. Les plantes médicinales sélectionnées

### I.5.1. *Teucrium polium*

#### I.5.1.1. Présentation de l'espèce

**Nom anglais:** Mountain germander.

**Nom français:** Pouliot de montagne, germandrée tomenteuse, germandrée blanc-grisâtre.

**Nom vernaculaire:** J'ada, khayata, Katabetledjrah.

**Nom latin:** *Teucrium polium* L.

**Synonymes:** *Teucrium tomentosum*, *Teucrium gnaphalodes*, *Teucrium chamaedrys* et *Teucrium capitatum* (Autore et al., 1984; Rasekh et al., 2005).

#### 5.1.2. Classification botanique

**Tableau 1.** Classification de l'espèce *Teucrium polium* d'après NCBI

Rang taxonomique	Nomenclature
règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Astéridées
Sous-classe	Lamiidées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Teucrium</i>
Espèce	<i>Polium</i>

**I.5.1.3. Description de la plante**

Le genre *Teucrium*, encore dénommé les germandrées, regroupe environ 260 espèces de plantes herbacées ou de sous-arbrisseaux de la famille des Lamiacées. *Teucrium polium* (figure 2) est une espèce très variable; de nombreuses sous espèces ont été décrites dont certaines sont parfois érigées au rang d'espèce (Naghbi et al., 1998). C'est une plante herbacée vivace à odeur poivrée par frottement. Les tiges sont de 10-30 cm de hauteur, blanches-tomenteuses portant des feuilles opposées sessiles, linéaires-lancéolées ou oblongues, en coin et entières à la base et à dents arrondies en haut. Ces feuilles, blanches tomenteuses sur les deux faces ont les bords enroulés. Les fleurs forment des inflorescences compactes globuleuses ou ovoïdes serrées, Le calice brièvement tomenteux, à des dents courtes, la supérieure obtuse ; Corolle à lèvre supérieure tronquée et à lobes supérieurs pubescents (Boullard, 2003).



**Figure 2.** La plante *Teucrium polium*.

I.5.2. *Origanum vulgare*

## I.5.2.1. Classification botanique

Tableau II: Classification de l'espèce *Origanum vulgare* d'après Deysson 1967

Rang taxonomique	Nomenclature
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Super ordre	Tubiflorales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Népétoïdées
Genre	<i>Origanum</i>

## I.5.2.2. Description botanique

L'origan est un Sous-arbrisseau vivace, de la classe des dicotylédones qui mesure de 30 à 80 cm de haut, au feuillage et aux fleurs odorantes quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolé, épicée et chaude. (Teuscher et al., 2004; Rameau et al., 2009 ; Arvy et Gallouin, 2003)

L'origan comme la marjolaine ou le thym a des propriétés antiseptiques. Il est utilisé comme eux mais de façon plus anecdotique en infusion en cas de rhume, de grippe, et pour stimuler la digestion. L'huile essentielle d'origan est réputée être un antiseptique très puissant, recommandée pour tout type de rhume ou grippe, mais c'est aussi un remède contre les douleurs spasmodiques, la fatigue et le stress (Sahin et al., 2004).

Figure 2. La plante *Origanum vulgare* (Anonyme2).





## **II.1 Matériel**

L'objectif de notre études est déterminer la capacité des bactéries rizhosphériques à produire des enzymes d'intérêt industrielle pour cette objectif en utilise des Matériel végétal ; Matériel biologique ; Matériel lourd et chimique .

### **II.1.1 Matériel végétal**

Il consiste en deux plantes médicinales *Teucrium polium* et *Origanum vulgare*

### **II.1.2 Matériel biologique**

Le matériel microbien comprend des souches isolées à partir de la rhizosphère de deux plantes médicinales collectées pendant le mois d'avril (2019) dans la région de Ghailassa de la wilaya de Bordj Bou Arreridj (Algérie).



**Figure 4.**La région de prélèvement des échantillons.

### **II.1.3 Matériel lourd et chimique**

Le Matériel lourd et chimique est classée dans l'annexe 1.

## **II.2 Méthodes**

### **II.2.1 Échantillonnage et isolement des bactéries rhizosphériques**

#### **II.2.1.1Échantillonnage du sol rhizosphérique**

Dans le but de rechercher des bactéries productrices d'enzymes d'intérêt industriel, des échantillons du sol rhizosphérique de deux plantes médicinales *Teucrium polium* et *Origanum vulgare* (Lamiacées) ont été collectés pendant le mois d'avril (2019) dans la région

de Ghailassa de la wilaya de Bordj Bou Arreridj (Algérie). Les prélèvements ont été effectués à partir de la partie rhizosphérique du sol, et ont été mis dans des sachets fermés préalablement stérilisés dans un autoclave, puis transportés directement au laboratoire dans une glacière (4°C).

### **II.2.1.2 Isolement des bactéries**

Afin d'isoler les bactéries rhizosphériques, 1 g de chaque échantillon du sol a été dissous dans 9 ml d'eau physiologique, des dilutions décimales de ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  et  $10^{-9}$ ) ont ensuite été effectuées. 100 µl des dilutions  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  et  $10^{-9}$  ont été ensemencées en surface sur les milieux Plate Count Agar (PCA), King A et King B (Annexe 2) avec 04 répétitions pour chaque dilution, les boîtes ont été ensuite incubées à 30°C pendant 24 à 72 h (Mehenna et Mezhoud, 2017).

### **II.2.1.3 Purification et conservation des isolats**

Dans le but d'obtenir des souches pures, chaque colonie apparaissant différente phénotypiquement sur PCA, et présentant une pigmentation diffusible bleue-verte et jaune-verte sur King A et B, respectivement a été purifiée en la repiquant sur PCA par la méthode des stries serrées. La conservation des souches pures a été réalisée dans des tubes à essais contenant du bouillon nutritif (BN) (Annexe 2). Après incubation des tubes à 30°C pendant 24 h et l'apparition d'une turbidité, ces derniers ont été placés dans le réfrigérateur à 4°C.

## **II.2.2 Mise en évidence de l'activité enzymatique**

Afin de déterminer la capacité des isolats à produire des enzymes d'intérêt industriel, plusieurs enzymes ont été recherchées, telles que la protéase, cellulase, amylase, l'estérase et lipase. Après repiquage des souches à partir des tubes de conservation sur PCA, King A et B et incubation pendant 24h à 30°C, le screening a été effectué par la méthode des spots, et un index enzymatique (IE) a été calculé pour toutes les activités selon l'équation suivante:

$$\text{IE} = \text{Diamètre du halo} / \text{Diamètre de la colonie} \text{ (Carrim et al., 2006).}$$

### **II.2.2.1. Détermination de l'activité cellulosique**

La présence de cellulase est révélée par le repiquage des souches sur milieu de Carder (1986) qui contient en g/l:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (6);  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (3);  $\text{NaCl}$  (0,5);  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1); Extrait de

levure (3); Carboxyméthylcellulose (CMC) (7); Agar (15). Les boîtes ensemencées sont incubées pendant 8 jours (**Carrim et al., 2006**).

A la fin de l'incubation, une solution de lugol (Annexe 2) préalablement préparée a été dispersée sur toute la surface du milieu. Après cinq minutes de contact, l'excès a été éliminé et les boîtes lavées à l'eau distillée. La présence d'une cellulase extracellulaire se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (**Carrim et al., 2006**).

#### **II.2.2.2. Détermination de l'activité estérasique**

L'activité estérasique a été testée sur le milieu de culture utilisé par **Sierra (1957)**, il contient en g/l : peptone (10) ; NaCl (5,0); CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O (0,1); Tween 80 (1%, v/v) et Agar (18). Le pH est ajusté à 7,4. (**Carrim et al., 2006**). Après ensemencement du milieu, les boîtes sont incubées pendant 48h. La présence d'une activité estérasique est traduite par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

#### **II.2.2.3. Détermination de l'activité lipolytique**

La recherche de l'activité lipolytique est réalisée de la même manière que l'activité estérasique. Toutefois, le tween 80 est remplacé par le tween 20, et le résultat positif est déterminé par la présence d'un halo clair autour des colonies (**Carrim et al., 2006**).

#### **II.2.2.4. Détermination de l'activité protéasique**

Le milieu de culture utilisé pour cette activité contient en g/l: Extrait de levure (2,5); glucose (1) et Agar (15). Le pH du milieu a été ajusté à 7 et autoclavé pendant 20 min à 121°C. Simultanément, 100 ml d'une solution de lait à 0% matière grasse a été préparé et stérilisé à 110°C pendant 10 min et ajouté au milieu. L'activité protéolytique se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (**Bach et Munch, 2000**).

#### **II.2.2.5. Détermination de l'activité amylolytique**

Le test qui indique l'activité amylolytique a été réalisé sur une gélose à base d'amidon. Le milieu contient en (g/l): KNO<sub>3</sub> (0,5); K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1,0); MgSO<sub>4</sub> (0,2); CaCl<sub>2</sub> (1); FeCl<sub>3</sub> (0,001); amidon soluble (10,0); Agar (15). Le pH a été ensuite ajusté à 7,2 et le milieu autoclavé à 121°C pendant 20 min. Un ensemencement du milieu par la méthode des spots a été effectué pour chaque isolat.

Après incubation à 30°C pendant 48 à 72h, une solution de lugol préalablement préparée a été dispersée sur toute la surface du milieu. Après quelques minutes de contact, l'excès a été éliminé et les boîtes lavées à l'eau distillée. La lecture a été effectuée de la manière suivante:

La présence de l'amidon dans le milieu donnera une couleur bleue noirâtre, ceci implique une absence d'activité amylolytique. En revanche, si l'amidon est hydrolysé, une zone claire apparaîtrait autour des colonies. Ce qui traduit une présence d'activité amylolytique chez les isolats (**Vthino Raj et al.,2009**)



### III. Résultats et Discussion

#### III.1 Isolement des bactéries

Au départ, l'isolement des bactéries à partir des échantillons récoltés sur les milieux PCA, King A et King B nous a permis d'évaluer la charge bactérienne dans les différents échantillons. Le dénombrement a été effectué à partir de la dilution  $10^{-6}$  jusqu'à  $10^{-9}$  selon l'équation suivante:

$$N = \frac{n}{v} \times \frac{1}{d}$$

Avec:

**v** = volume de dilution;

**n** = nombres de colonies;

**d** = facteur de dilution.

Les résultats (tableau III), ont révélé que le nombre de colonies obtenu sur PCA pour l'échantillon du sol rhizosphérique de *Origanum vulgare* était de  $45.2 \times 10^6$  UFC/g de sol, tandis que l'échantillon du sol rhizosphérique de *Teucrium polium* contenait  $58.6 \times 10^6$  UFC/g de sol, un nombre supérieur de celui obtenu dans la rhizosphère de *Origanum vulgare*.

Les résultats du dénombrement sur le milieu King A a montré que le nombre de colonies isolé à partir du sol rhizosphérique de *Origanum vulgare* était de  $45 \times 10^6$  UFC/ g de sol, alors que le nombre de colonies à partir de *Teucrium polium* était de  $36 \times 10^5$  UFC/ g de sol (Tableau III).

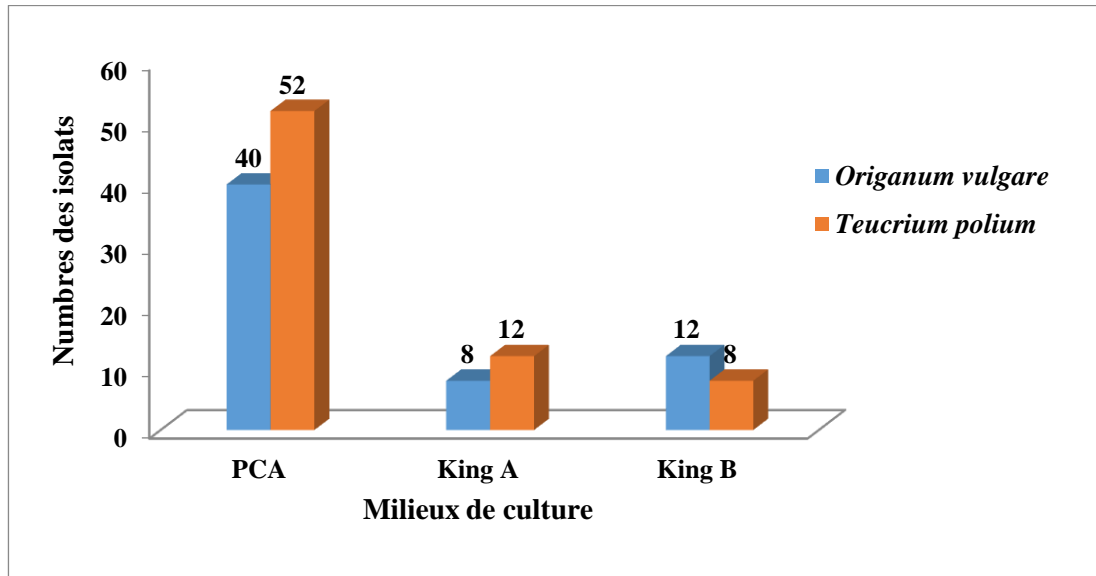
Pour le milieu King B, les résultats obtenus ont révélé que le nombre de colonies était de  $56 \times 10^6$  UFC/ g de sol rhizosphérique de *Origanum vulgare* et  $42 \times 10^5$  UFC/ g de sol rhizosphérique de *Teucrium polium* (Tableau III).

**Tableau III** : Dénombrement des colonies des échantillons sur milieux PCA, king A et kingB.

Milieux	Charge bactérienne (UFC/g de sol)	
	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Teucrium polium</i>
PCA	$45.2 \times 10^6$	$58.6 \times 10^6$
King A	$45 \times 10^6$	$36 \times 10^5$
King B	$56 \times 10^6$	$42 \times 10^5$

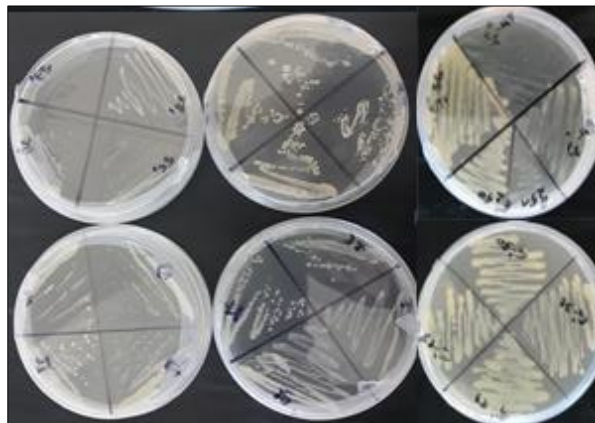
### III.2 Purification et conservation des isolats

Les isolats des bactéries obtenus ont été purifiés par un repiquage successif sur PCA jusqu'à l'obtention des souches pures. Cette purification nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans la figure 5.



**Figure 5:** Nombre des isolats obtenus sur les différents milieux de culture pour les deux sols.

En se basant sur l'aspect des colonies sur milieu solide, ces dernières représentent une grande diversité de taille (grand, petite), forme (bâtonnique; sphérique...), couleur (jeune, orange, blanc) et consistance (visqueuse, solide) (Figure 6).



**Figure 6:** Quelques images des aspects des colonies obtenues sur PCA.

Après l'incubation des isolats à 30°C pendant 24 h, les tubes caractérisés par l'apparition d'un trouble, indiquant la croissance des souches dans le bouillon nutritif ont été conservés à 4°C pour les futurs tests (Figure 7).



**Figure 7:** Conservation des isolats purifiés sur bouillon nutritif.

### **III.3 Mise en évidence de l'activité enzymatique**

Tous les isolats ont été testés pour évaluer leur capacité à produire diverses enzymes telles que la cellulase, estérase, protéase, amylase et lipase. L'activité enzymatique a été quantifiée par mesure des diamètres des colonies et ceux des zones formées autour des colonies ensemencées par spots sur la surface des milieux de culture, ce paramètre permet de calculer l'index de l'activité enzymatique.

#### **III.3.1 Activité enzymatique de la flore totale isolée sur PCA**

Les résultats des indes enzymatiques des isolats des rhizosphères de *Origanum vulgare* et *Teucrium polium* recherchées dans ce travail sont représentés dans les tableaux (IV, V) respectivement.

Le traitement des résultats des différentes activités enzymatiques de tous les isolats nous a permis de les classer selon leur index enzymatique (tableaux VI, VII) et la figure 8.



**Tableau IV:** Moyennes des index enzymatiques des différentes activités enzymatiques des bactéries isolées à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare*.

Isolats	Moyennes des index enzymatiques				
	Cellulase	Amylase	Protéase	Lipase	Estérase
E <sub>1</sub> -1	1.4	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -2	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -3	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -4	-	-	2.5	-	-
E <sub>1</sub> -5	-	-	2.21	-	-
E <sub>1</sub> -6	-	-	2.05	-	-
E <sub>1</sub> -7	-	-	3.57	2.25	-
E <sub>1</sub> -8	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -9	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -10	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -11	-	-	0.17	-	-
E <sub>1</sub> -12	-	-	1.67	-	-
E <sub>1</sub> -13	1.15	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -14	1.28	-	-	2.20	-
E <sub>1</sub> -15	-	-	-	1.55	-
E <sub>1</sub> -16	1.40	-	1.77	-	-
E <sub>1</sub> -17	2.00	-	2.45	-	-
E <sub>1</sub> -18	1.25	-	1.95	1.20	-
E <sub>1</sub> -19	1.58	-	1.46	1.25	-
E <sub>1</sub> -20	-	-	2.46	-	-
E <sub>1</sub> -21	1.85	-	2.30	1.25	-
E <sub>1</sub> -22	-	-	1.85	1.28	-
E <sub>1</sub> -23	2.70	-	-	1.31	-
E <sub>1</sub> -24	1.30	-	-	2.28	-
E <sub>1</sub> -25	1.30	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -26	-	-	1.29	-	-
E <sub>1</sub> -27	-	-	-	1.57	-
E <sub>1</sub> -28	1.57	-	-	1.55	-
E <sub>1</sub> -29	1.33	-	1.25	-	-
E <sub>1</sub> -30	-	-	1.46	-	-
E <sub>1</sub> -31	1.16	-	5.00	-	-
E <sub>1</sub> -32	1.91	-	2.04	1.30	-
E <sub>1</sub> -33	1.72	-	1.80	1.20	-
E <sub>1</sub> -34	1.80	-	1.80	2.66	-
E <sub>1</sub> -35	1.50	-	1.23	1.41	-
E <sub>1</sub> -36	2.16	-	1.75	-	-
E <sub>1</sub> -37	1.61	-	3.33	1.42	-
E <sub>1</sub> -38	-	-	2.07	-	-
E <sub>1</sub> -39	1.45	-	2.14	-	-
E <sub>1</sub> -40	-	-	1.66	-	-

E<sub>1</sub>:*Origanum vulgare*, [< 1]: Activité faible; [1-3]: Activité moyenne ;[>3]: Activité forte ;[-]: Pas d'activité.

**Tableau V:** Moyennes des index enzymatiques des différentes activités enzymatiques des bactéries isolées à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium*.

Isolats	Moyenne des index enzymatiques				
	Cellulase	Amylase	Protéase	Lipase	Estérase
E <sub>2</sub> -1	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -2	-	-	-	3.42	-
E <sub>2</sub> -3	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -4	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -5	0.40	2.28	-	3.20	-
E <sub>2</sub> -6	-	2.66	-	1.25	-
E <sub>2</sub> -7	1.12	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -8	-	1.75	-	-	-
E <sub>2</sub> -9	1.61	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -10	1.33	-	1.60	-	-
E <sub>2</sub> -11	1.71	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -12	1.33	-	3.07	-	-
E <sub>2</sub> -13	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -14	2.00	-	2.66	-	-
E <sub>2</sub> -15	1.16	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -16	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -17	3.21	-	1.75	-	-
E <sub>2</sub> -18	-	-	-	2.28	-
E <sub>2</sub> -19	2.44	-	1.66	-	-
E <sub>2</sub> -20	-	-	-	3.00	-
E <sub>2</sub> -21	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -22	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -23	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -24	1.46	-	2.60	2.60	-
E <sub>2</sub> -25	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -26	1.20	-	1.72	1.66	-
E <sub>2</sub> -27	-	-	1.66	1.71	-
E <sub>2</sub> -28	2.87	-	4.00	1.42	-
E <sub>2</sub> -29	2.60	-	3.00	-	-
E <sub>2</sub> -30	1.50	-	1.57	1.58	-
E <sub>2</sub> -31	1.86	-	1.61	1.80	-
E <sub>2</sub> -32	7.00	-	1.83	4.66	-
E <sub>2</sub> -33	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -34	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -35	3.50	-	1.50	-	-
E <sub>2</sub> -36	5.83	-	1.25	-	-
E <sub>2</sub> -37	5.16	-	1.11	2.33	-
E <sub>2</sub> -38	1.47	-	1.55	1.71	-
E <sub>2</sub> -39	1.92	-	2.16	1.55	-
E <sub>2</sub> -40	1.15	-	1.38	-	-
E <sub>2</sub> -41	2.75	-	1.83	2.00	-

E <sub>2</sub> -42	2.00	-	2.73	1.66	-
E <sub>2</sub> -43	3.30	-	0.93	1.50	-
E <sub>2</sub> -44	1.75	-	1.42	-	-
E <sub>2</sub> -45	1.66	-	2.41	-	-
E <sub>2</sub> -46	1.71	-	1.75	-	-
E <sub>2</sub> -47	1.80	-	2.25	-	-
E <sub>2</sub> -48	2.00	-	1.85	-	-
E <sub>2</sub> -49	-	-	1.76	-	-
E <sub>2</sub> -50	-	-	-	-	-
E <sub>2</sub> -51	-	-	-	1.50	-
E <sub>2</sub> -52	2.83	-	1.41	-	-

E<sub>2</sub>:*Teucrium polium*, [**1**]: Activité faible; [**1-3**]: Activité moyenne ;[>**3**]: Activité forte ; [-]: Pas d'activité enzymatique.

**Tableau VI:** Comparaison des moyennes des index enzymatiques des souches isolées à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare*.

N	Cellulase		Amylase		Protéase		Lipase		Estérase	
	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE
1	E <sub>1</sub> -23	2.70	-	-	E <sub>1</sub> -31	5.00	E <sub>1</sub> -34	2.66	-	-
2	E <sub>1</sub> -36	2.16	-	-	E <sub>1</sub> -7	3.57	E <sub>1</sub> -24	2.28	-	-
3	E <sub>1</sub> -17	2.00	-	-	E <sub>1</sub> -37	3.33	E <sub>1</sub> -7	2.25	-	-
4	E <sub>1</sub> -32	1.91	-	-	E <sub>1</sub> -4	2.50	E <sub>1</sub> -14	2.20	-	-
5	E <sub>1</sub> -21	1.85	-	-	E <sub>1</sub> -20	2.46	E <sub>1</sub> -27	1.57	-	-
6	E <sub>1</sub> -34	1.80	-	-	E <sub>1</sub> -17	2.45	E <sub>1</sub> -15	1.55	-	-
7	E <sub>1</sub> -33	1.72	-	-	E <sub>1</sub> -21	2.30	E <sub>1</sub> -28	1.55	-	-
8	E <sub>1</sub> -37	1.61	-	-	E <sub>1</sub> -5	2.21	E <sub>1</sub> -37	1.42	-	-
9	E <sub>1</sub> -19	1.58	-	-	E <sub>1</sub> -39	2.14	E <sub>1</sub> -35	1.41	-	-
10	E <sub>1</sub> -28	1.57	-	-	E <sub>1</sub> -38	2.07	E <sub>1</sub> -23	1.31	-	-
11	E <sub>1</sub> -35	1.50	-	-	E <sub>1</sub> -6	2.05	E <sub>1</sub> -32	1.30	-	-
12	E <sub>1</sub> -39	1.45	-	-	E <sub>1</sub> -32	2.04	E <sub>1</sub> -22	1.28	-	-
13	E <sub>1</sub> -1	1.40	-	-	E <sub>1</sub> -18	1.95	E <sub>1</sub> -19	1.25	-	-
14	E <sub>1</sub> -16	1.40	-	-	E <sub>1</sub> -22	1.85	E <sub>1</sub> -21	1.25	-	-
15	E <sub>1</sub> -29	1.33	-	-	E <sub>1</sub> -33	1.80	E <sub>1</sub> -18	1.20	-	-
16	E <sub>1</sub> -24	1.30	-	-	E <sub>1</sub> -34	1.80	E <sub>1</sub> -33	1.20	-	-
17	E <sub>1</sub> -25	1.30	-	-	E <sub>1</sub> -16	1.77	-	-	-	-
18	E <sub>1</sub> -14	1.28	-	-	E <sub>1</sub> -36	1.75	-	-	-	-
19	E <sub>1</sub> -18	1.25	-	-	E <sub>1</sub> -12	1.67	-	-	-	-
20	E <sub>1</sub> -31	1.16	-	-	E <sub>1</sub> -40	1.66	-	-	-	-
21	E <sub>1</sub> -13	1.15	-	-	E <sub>1</sub> -19	1.46	-	-	-	-
22	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -30	1.46	-	-	-	-
23	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -26	1.29	-	-	-	-
24	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -29	1.25	-	-	-	-
25	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -35	1.23	-	-	-	-
26	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -11	0.17	-	-	-	-

MIE: Moyennes des index enzymatiques, E<sub>1</sub>:*Origanum vulgare*.

Tableau VII : Comparaison des moyennes des index enzymatiques des souches isolées à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium*.

N	Cellulase		Amylase		Protéase		Lipase		Estérase	
	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE
1	E <sub>2</sub> -32	7.00	E <sub>2</sub> -6	2.66	E <sub>2</sub> -28	4.00	E <sub>2</sub> -32	4.66	-	-
2	E <sub>2</sub> -36	5.83	E <sub>2</sub> -5	2.28	E <sub>2</sub> -12	3.07	E <sub>2</sub> -2	3.42	-	-
3	E <sub>2</sub> -37	5.16	E <sub>2</sub> -8	1.75	E <sub>2</sub> -29	3.00	E <sub>2</sub> -5	3.20	-	-
4	E <sub>2</sub> -35	3.50	-	-	E <sub>2</sub> -42	2.73	E <sub>2</sub> -20	3.00	-	-
5	E <sub>2</sub> -43	3.30	-	-	E <sub>2</sub> -14	2.66	E <sub>2</sub> -24	2.60	-	-
6	E <sub>2</sub> -17	3.21	-	-	E <sub>2</sub> -24	2.60	E <sub>2</sub> -37	2.33	-	-
7	E <sub>2</sub> -28	2.87	-	-	E <sub>2</sub> -45	2.41	E <sub>2</sub> -18	2.28	-	-
8	E <sub>2</sub> -52	2.83	-	-	E <sub>2</sub> -47	2.25	E <sub>2</sub> -41	2.00	-	-
9	E <sub>2</sub> -41	2.75	-	-	E <sub>2</sub> -39	2.16	E <sub>2</sub> -31	1.80	-	-
10	E <sub>2</sub> -29	2.60	-	-	E <sub>2</sub> -48	1.85	E <sub>2</sub> -27	1.71	-	-
11	E <sub>2</sub> -19	2.44	-	-	E <sub>2</sub> -32	1.83	E <sub>2</sub> -38	1.71	-	-
12	E <sub>2</sub> -14	2.00	-	-	E <sub>2</sub> -41	1.83	E <sub>2</sub> -26	1.66	-	-
13	E <sub>2</sub> -42	2.00	-	-	E <sub>2</sub> -49	1.76	E <sub>2</sub> -42	1.66	-	-
14	E <sub>2</sub> -48	2.00	-	-	E <sub>2</sub> -17	1.75	E <sub>2</sub> -30	1.58	-	-
15	E <sub>2</sub> -39	1.92	-	-	E <sub>2</sub> -46	1.75	E <sub>2</sub> -39	1.55	-	-
16	E <sub>2</sub> -31	1.86	-	-	E <sub>2</sub> -26	1.72	E <sub>2</sub> -43	1.50	-	-
17	E <sub>2</sub> -47	1.80	-	-	E <sub>2</sub> -19	1.66	E <sub>2</sub> -51	1.50	-	-
18	E <sub>2</sub> -44	1.75	-	-	E <sub>2</sub> -27	1.66	E <sub>2</sub> -28	1.42	-	-
19	E <sub>2</sub> -11	1.71	-	-	E <sub>2</sub> -31	1.61	E <sub>2</sub> -6	1.25	-	-
20	E <sub>2</sub> -46	1.71	-	-	E <sub>2</sub> -10	1.60	-	-	-	-
21	E <sub>2</sub> -45	1.66	-	-	E <sub>2</sub> -30	1.57	-	-	-	-
22	E <sub>2</sub> -9	1.61	-	-	E <sub>2</sub> -38	1.55	-	-	-	-
23	E <sub>2</sub> -30	1.50	-	-	E <sub>2</sub> -35	1.50	-	-	-	-
24	E <sub>2</sub> -38	1.47	-	-	E <sub>2</sub> -44	1.42	-	-	-	-
25	E <sub>2</sub> -24	1.46	-	-	E <sub>2</sub> -52	1.41	-	-	-	-
26	E <sub>2</sub> -10	1.33	-	-	E <sub>2</sub> -40	1.38	-	-	-	-
27	E <sub>2</sub> -12	1.33	-	-	E <sub>2</sub> -36	1.25	-	-	-	-
28	E <sub>2</sub> -26	1.20	-	-	E <sub>2</sub> -37	1.11	-	-	-	-
29	E <sub>2</sub> -15	1.16	-	-	E <sub>2</sub> -43	0.93	-	-	-	-
30	E <sub>2</sub> -40	1.15	-	-	-	-	-	-	-	-
31	E <sub>2</sub> -7	1.12	-	-	-	-	-	-	-	-
32	E <sub>2</sub> -5	0.40	-	-	-	-	-	-	-	-

MIE: Moyennes des index enzymatiques, E<sub>2</sub>: *Teucrium polium*.

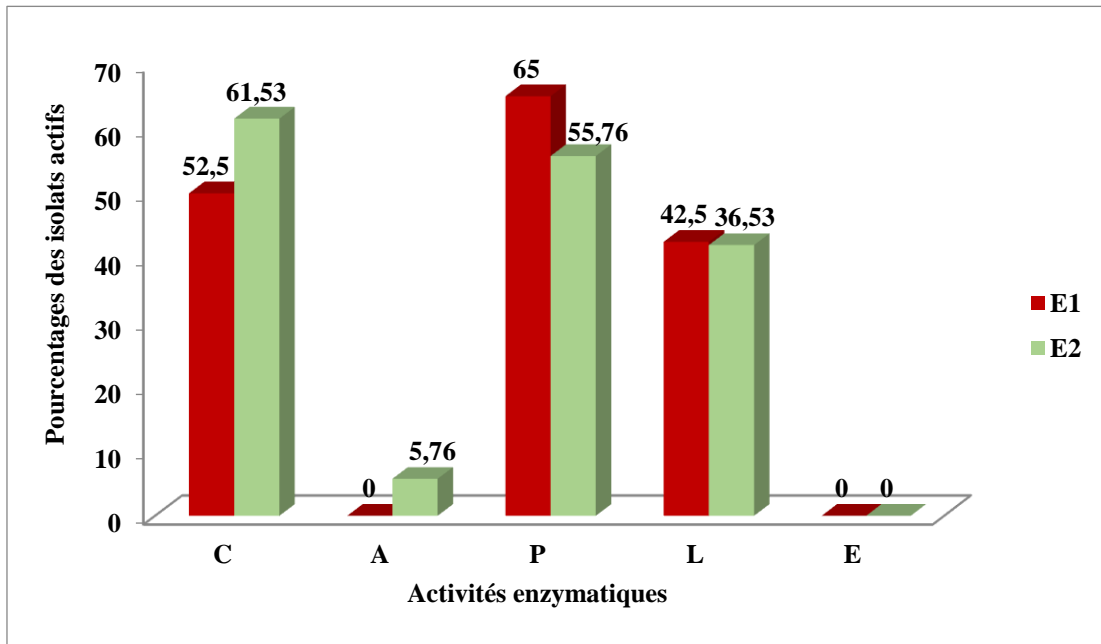


Figure 8: Pourcentages des isolats actifs pour les deux échantillons.

C: Cellulase; P: Protéase; A: Amylase; L: Lipase; E: Estérase, E1: *Origanum vulgare*, E2: *Teucrium polium*.

### III.3.1.1 Activité cellulasique

Ce test permet de mettre en évidence la capacité des bactéries à décomposer la cellulose, l'apparition d'un halo jaune orangé autour des colonies indique la présence d'une cellulase (Figure 9).

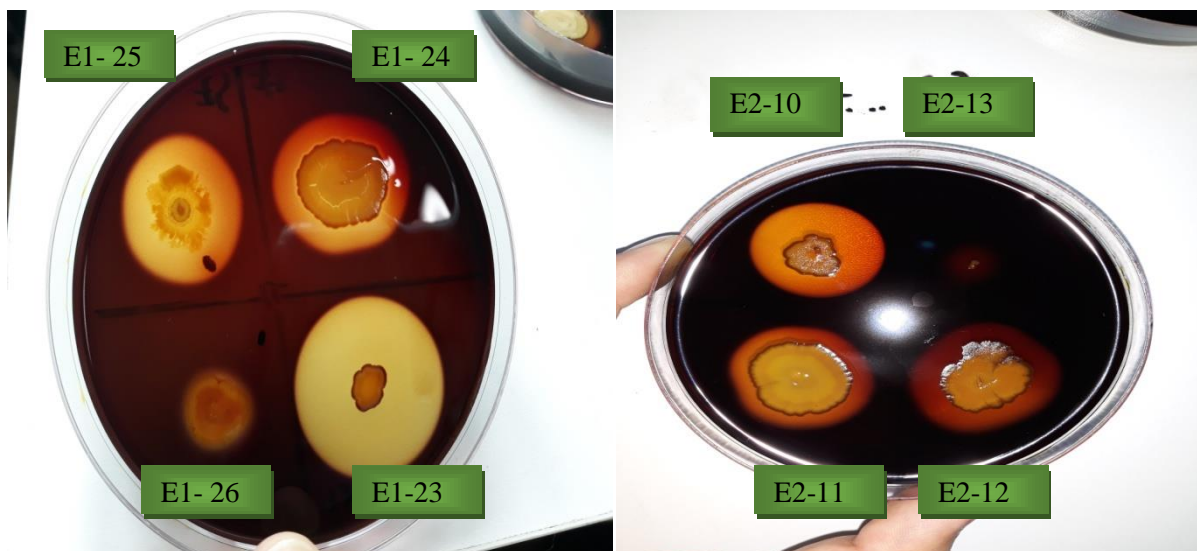
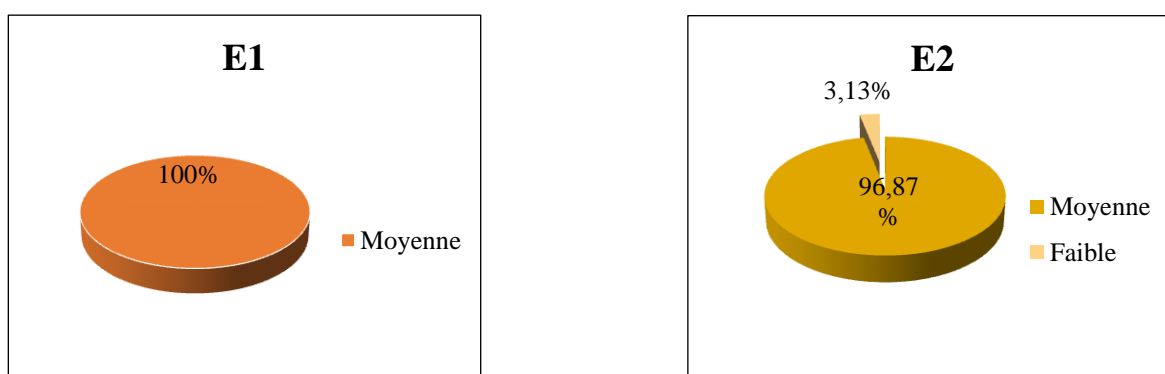


Figure 9: Quelques images des résultats de l'activité cellulasique.

Sur les 40 isolats obtenus à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare*, 52,5% (21/40) ont montré une activité cellulosique positive (Figure 8), avec une activité enzymatique moyenne chez les 21 isolats (Figure 10).

La production de la cellulase est observée chez 61.53% (32/52) des isolats obtenus à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium* (Figure 8), avec une forte activité enzymatique chez 6 isolats (18.75%), une activité enzymatique moyenne chez 25 isolats (78.12%) et une faible activité enzymatique chez 1 seul isolat (3.13%) (Figure 10).



**Figure 10:** Répartition de l'activité cellulosique selon les index enzymatiques.

**E1:** *Origanum vulgare* ; **E2:** *Teucrium polium*.

Les résultats ont démontré que la plus grande activité cellulosique était observée chez 06 isolats de *Teucrium polium* (**E<sub>2</sub>-32, E<sub>2</sub>-36, E<sub>2</sub>-37, E<sub>2</sub>-35, E<sub>2</sub>-43 et E<sub>2</sub>-17**), avec des moyennes des (**Kuhad et al., 2011**). index enzymatiques allant de 3,21 à 7 (Tableau VI,VII).

La cellulase est largement utilisées dans les aliments, la fermentation, l'agriculture, les pâtes à papiers et le textile Elles jouent un rôle dans la dégradation des débris de plantes, des parois cellulaires fongiques, l'inhibition de la germination des spores, de l'élongation du tube germinatif et de la croissance fongique, ainsi que dans le biocontrôle des pathogènes et des maladies de plantes (**Bhat, 2000**).

Nos résultats sont différents de ceux trouvés par Tabli et *al.* (2013), Ahmad et *al.* (2013), Dinesh et *al.* (2015), où 25% des isolats obtenus étaient cellulase +. Avinash et Rai, (2014), Ben sidhoum et *al.* (2016) et Gontia-Mishra et *al.* (2016) et Lafkir et Mahbous (2018), ont constaté quand à eux que 50% des isolats montrent une activité cellulosique, ce qui correspond plus à nos résultats.

## III.3.1.2 Activité amylolytique

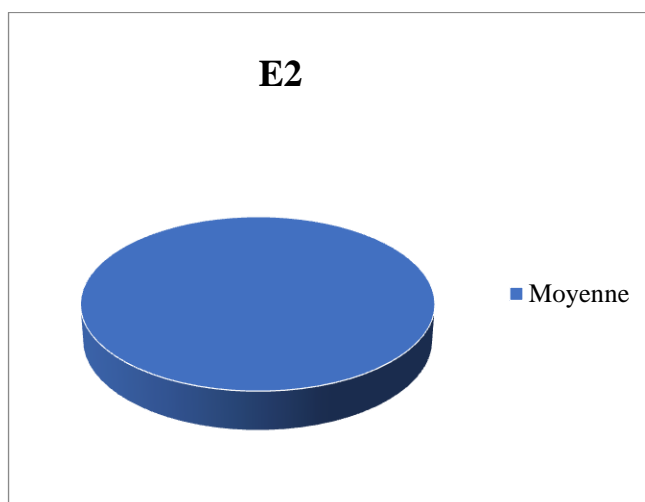
La présence de l'activité amylolytique chez les bactéries productrices d'amylase dans le milieu de culture, se manifeste par la formation d'une zone d'hydrolyse claire autour des colonies ensemencées par spots (Figure 11).



**Figure 11:** Image des résultats de l'activité amylolytique.

Dans ce travail, une absence totale de la production d'amylase 0% (0/40) a été observée chez les bactéries isolées à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare*.

Pour *Teucrium polium*, sur l'ensemble des 52 isolats testés, uniquement 3 isolats produisent de l'amylase (5,76 %) avec une activité enzymatique moyenne chez les 3 isolats (Figures 11 et 12), et une plus forte activité observée avec l'isolat **E2-6** avec une moyenne des index enzymatique de 2.66 (Tableaux VI, VII).



**Figure 12:** Répartition de l'activité amylolytique selon les index enzymatiques.

**E<sub>2</sub>:** *Teucrium polium*.

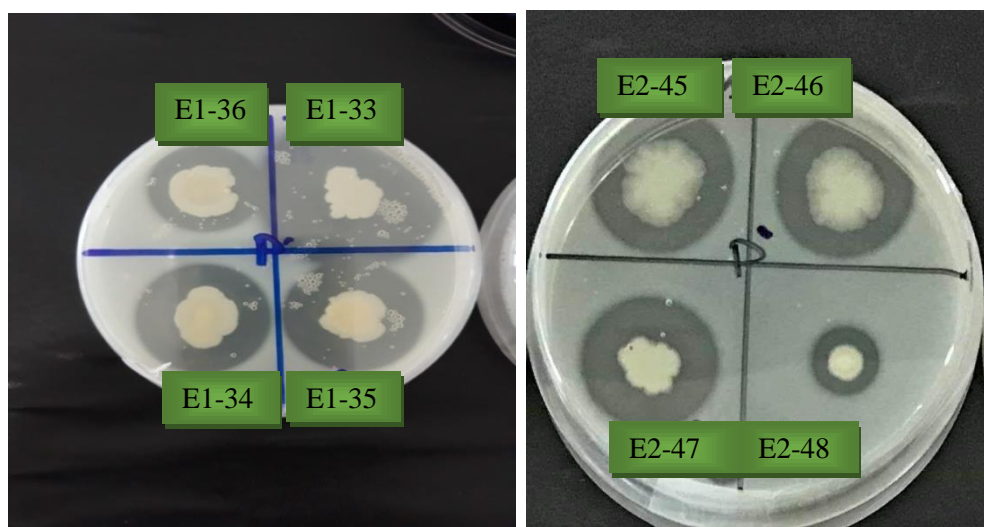
Les amylases sont des enzymes qui hydrolysent l'amidon ou le glycogène. Elles peuvent dériver de plusieurs sources comme les plantes, les animaux et les microorganismes, ces derniers sont plus favorisés grâce à leur large disponibilité et leur production volumineuse à l'échelle industrielle (**Vidyalakshmi et al., 2009**).

Nos résultats sont différents de ceux trouvés par Dinesh et al. (2015), ayant trouvé que 25% des souches ayant une activité amyolasique. Tandis que Tabli et al. (2013), Nabti et al. (2014) ont constaté que 100% des souches avaient montrés une activité positive pour ce test. Alors que Lafkir et Mahbous (2018) ont trouvé que 27% des souches ont une activité amyolasique. Les résultats obtenus par Gontia-Mishra et al. (2016) sont tous négatifs pour ce test, ce qui correspond plus à nos résultats. Ces différences peuvent être dues à la différence du site de prélèvement ainsi qu'à la variabilité et la diversité génétique des isolats.

### III.3.1.3 Activité protéolytique

Cette activité se traduit par la présence d'un halo clair autour des colonies, visible sans l'ajout d'aucun réactif (Figure 13).



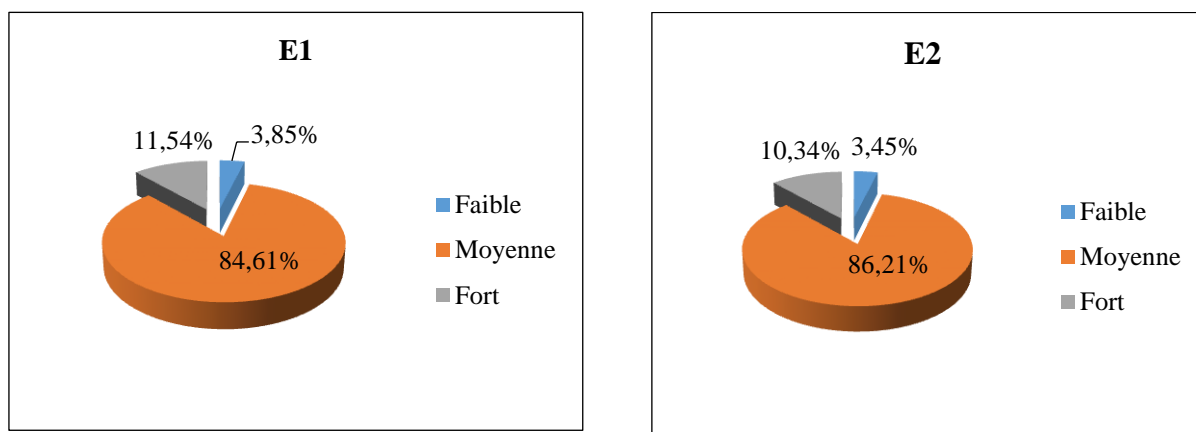


**Figure 13:** Quelques images des résultats de l'activité protéolytique.

Dans notre travail 65% (26/40) des isolats collectés à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare* ont été capables de dégrader les protéines sur gélose au lait écrémé (Figure 13). Parmi ces isolats 11,54% (3/40) possèdent une forte activité, alors que 84,61% (22/40) possèdent une activité moyenne et 3,85 (1/40) une faible activité (Figure 14).

Les résultats obtenus avec les bactéries isolées à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium* montrent que 55,76% (29/52) des isolats ont une activité positive. La meilleure activité a été observée chez 10,34% des isolats, 86,21% ont démontré une activité moyenne et 3,45 % ont démontré une activité faible (Figure 14).

La plus grande activité était observée chez 3 isolats (**E<sub>1</sub>-3**, **E<sub>1</sub>-7**, **E<sub>1</sub>-37**) de *Origanum vulgare* avec des moyennes des index enzymatiques allant de 3 à 5. Tandis que chez les isolats de *Teucrium polium*, la meilleure activité protéolytique a été observée chez 03 isolats (**E<sub>2</sub>-28** , **E<sub>2</sub>-12**, **E<sub>1</sub>-29**) avec des moyennes des index enzymatiques de 3 à 4 (Tableaux VI, VII).



**Figure 14:** Répartition de l'activité protéolytique selon les index enzymatiques.

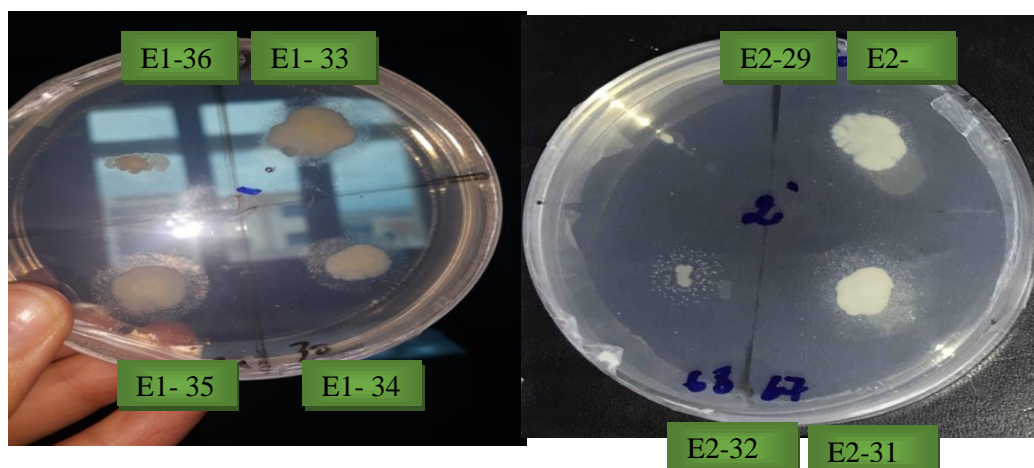
E1: *Origanum vulgare* ; E2: *Teucrium polium*.

Les protéases constituent un groupe important des enzymes jouant un rôle important dans la régulation nutritionnelle et la dégradation de la matière organique. Les protéases sont les enzymes les plus importantes dans le domaine industriel, elles comptent environ 40% des ventes mondiales. Elles sont généralement utilisées dans les détergents, l'industrie alimentaires, le cuir, le traitement de la fabrication du fromage, la récupération de l'argent et certains traitements médicaux et pharmaceutiques (Muthulakshmi *et al.*, 2011).

Dans les études réalisées par Ahmad *et al.*, (2013) et Dinesh *et al.*, (2015), 75% des isolats ont montré un résultat positif. Alors que dans d'autres études similaires et Gontia-Mishra *et al.* (2016), 25% des isolats produisent des protéases, d'Avinash et Rai. (2014) ont trouvé 50% des isolats productrices ce qui correspond plus à nos résultats.

#### III.3.1.4 Activités lipolytique et estérasique

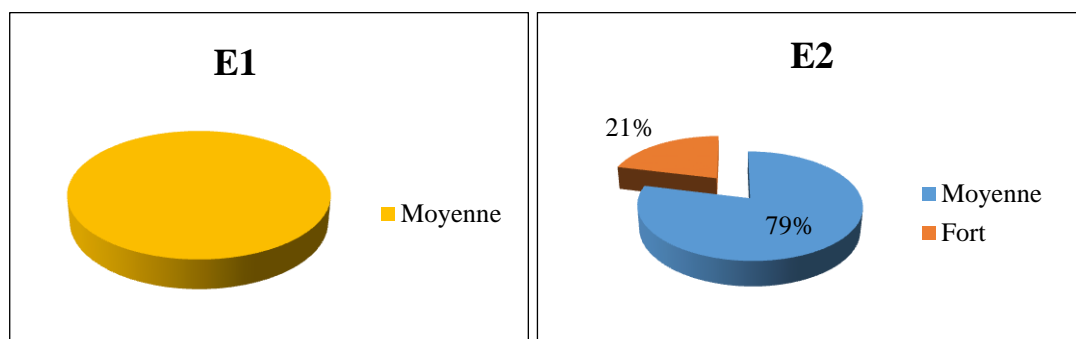
La présence d'une activité estérasique et lipolytique s'exprime par la présence d'un halo autour des colonies (Figure 15).



**Figure 15:** Quelques images des résultats de l'activité lipolytique

L'activité lipolytique est observée chez 42,5 % (16/40) des souches isolées à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare* ayant tous une activité moyenne (Figure 16). Tandis qu'un pourcentage d'isolats actifs de 36.53% (19/52) a été observé chez les isolats de *Teucrium polium*, où 78.9% des isolats possèdent une activité moyenne et 4 isolats (21%) présentent une forte activité (Figure 16).

Les résultats obtenus pour l'activité estérasique sont tous négatifs.



**Figure 16:** Répartition de l'activité lipolytique selon les index enzymatiques.

**E1:** *Origanum vulgare* ; **E2:** *Teucrium polium*.

L'analyse des résultats montre que la meilleure activité protéolytique a été observée chez 04 isolats de la rhizosphère de *Teucrium polium* (**E2-32, E2-2, E2-5, E2-20**) avec des moyennes des index enzymatiques de 3 à 4,66.

### III.3.2 L'activité enzymatique des isolats de *Pseudomonas* spp.

Le tableau VIII et la figure 17 montrent que la caséine est le substrat le plus dégradé (20 isolats de *Origanum vulgare*) avec un pourcentage de 70%; suivi par la cellulose avec un pourcentage de 20%, cependant ces isolats ne dégradent ni l'amidon, ni le Tween 80 ni le Tween 20.

La plus grande activité protéolytique était observée chez 2 isolats (**E<sub>1</sub>-B12**, **E<sub>1</sub>-B14**) avec des moyennes des index enzymatiques de 8 et 3,50 respectivement, les autres isolats ont manifestés une moyenne activité. Pour la cellulase, l'isolat **E<sub>1</sub>-B14** a démontré la plus forte activité avec une moyenne des index enzymatiques de 4.40 (Tableau IX).

**Tableau VIII:** Moyennes des index enzymatiques des différentes activités enzymatiques chez les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare*

Isolats	Moyennes des index enzymatiques				
	Cellulase	Amylase	Protéase	Lipase	Estérase
E <sub>1</sub> -A1	-	-	1.20	-	-
E <sub>1</sub> -A2	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -A3	-	-	1.15	-	-
E <sub>1</sub> -A4	-	-	1.25	-	-
E <sub>1</sub> -A5	-	-	1.46	-	-
E <sub>1</sub> -A6	-	-	1.22	-	-
E <sub>1</sub> -A7	-	-	1.66	-	-
E <sub>1</sub> -A8	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -B9	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -B10	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -B11	-	-	1.05	-	-
E <sub>1</sub> -B12	-	-	8.00	-	-
E <sub>1</sub> -B13	2.40	-	2.00	-	-
E <sub>1</sub> -B14	4.40	-	3.50	-	-
E <sub>1</sub> -B15	1.66	-	2.28	-	-
E <sub>1</sub> -B16	1.42	-	2.23	-	-
E <sub>1</sub> -B17	-	-	-	-	-
E <sub>1</sub> -B18	-	-	2.00	-	-
E <sub>1</sub> -B19	-	-	1.15	-	-
E <sub>1</sub> -B20	-	-	-	-	-

E<sub>1</sub>-A: Les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare* sur King A.

E<sub>1</sub>-B: Les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare* sur King B.

**Tableau IX:** Comparaison des moyennes des activités enzymatiques des souches de *Pseudomonas* spp. isolées à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare*.

N	Cellulase		Amylase		Protéase		Lipase		Estérase	
	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE
1	E <sub>1</sub> -B14	4.40	-	-	E <sub>1</sub> -B12	8.00	-	-	-	-
2	E <sub>1</sub> -B13	2.40	-	-	E <sub>1</sub> -B14	3.50	-	-	-	-
3	E <sub>1</sub> -B15	1.66	-	-	E <sub>1</sub> -B15	2.28	-	-	-	-
4	E <sub>1</sub> -B16	1.42	-	-	E <sub>1</sub> -B16	2.23	-	-	-	-
5	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -B13	2.00	-	-	-	-
6	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -B18	2.00	-	-	-	-
7	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -A7	1.66	-	-	-	-
8	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -A5	1.46	-	-	-	-
9	-	-	-	-	E <sub>1</sub> -A4	1.25	-	-	-	-

10	-	-	-	-	<b>E<sub>1</sub>-A6</b>	1.22	-	-	-	-
11	-	-	-	-	<b>E<sub>1</sub>-A1</b>	1.20	-	-	-	-
12	-	-	-	-	<b>E<sub>1</sub>-A3</b>	1.15	-	-	-	-
13	-	-	-	-	<b>E<sub>1</sub>-B19</b>	1.15	-	-	-	-
14	-	-	-	-	<b>E<sub>1</sub>-B11</b>	1.05	-	-	-	-

MIE: Moyennes des index enzymatiques,

**E<sub>1</sub>-A:** Les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare* sur King A.

**E<sub>1</sub>-B:** Les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare* sur King B.

**Tableau X:** Moyennes des index enzymatiques des différentes activités enzymatiques chez les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium*.

Isolats	Moyennes des index enzymatiques				
	Cellulase	Amylase	Protéase	Lipase	Estérase
<b>E<sub>2</sub>-A1</b>	3.5	-	1.36	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A2</b>	1.25	-	3.75	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A3</b>	5.00	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A4</b>	2.18	-	1.69	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A5</b>	-	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A6</b>	-	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A7</b>	-	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A8</b>	-	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A9</b>	2.40	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A10</b>	4.40	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A11</b>	1.31	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-A12</b>	1.42	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-B13</b>	-	-	1.33	-	-
<b>E<sub>2</sub>-B14</b>	-	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-B15</b>	-	-	3.85	-	-
<b>E<sub>2</sub>-B16</b>	-	-	4.20	-	-
<b>E<sub>2</sub>-B17</b>	-	-	1.16	-	-
<b>E<sub>2</sub>-B18</b>	-	-	-	-	-
<b>E<sub>2</sub>-B19</b>	-	-	1.44	-	-

**E<sub>2</sub>-A:** Les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium* sur King A.

**E<sub>2</sub>-B:** Les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium* sur King B.

Parmi les 19 isolats bactériens isolés à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium*, 42,10% sont capable de dégrader la cellulose. En deuxième position, on trouve la caséine avec un pourcentage de 42,10%, cependant ces isolats ne dégradent ni l'amidon, ni le Tween 80 ni le Tween 20 (Tableau X, Figure 17).

L'activité cellulastique était meilleur chez 03 isolats (**E<sub>2</sub>-A3**, **E<sub>2</sub>-A3**, **E<sub>2</sub>-A3**), où les moyennes des index enzymatiques allaient de 3,5 à 5, alors que pour l'activité protéolytique, les isolats **E<sub>2</sub>-B16**, **E<sub>2</sub>-B15** et **E<sub>2</sub>-A2** étaient les meilleurs producteur de l'enzyme avec des moyennes des index enzymatiques de 4.20, 3.85 et 3.75 respectivement (Tableau XI)

Pour les activités amylolytique, lipolytique et estérasique elles étaient absentes chez tous les isolats.

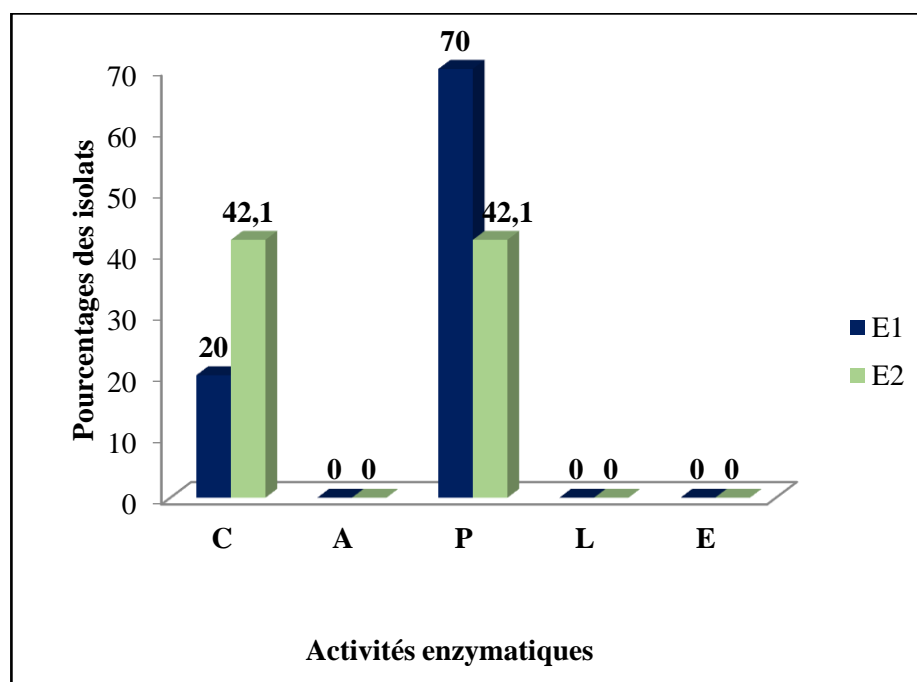
**Tableau XI:** Comparaison des moyennes des activités enzymatiques des souches de *Pseudomonas* spp. isolées à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium*.

N	Cellulase		Amylase		Protéase		Lipase		Estérase	
	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE	Isolats	MIE
1	E <sub>2</sub> -A3	5.00	-	-	E <sub>2</sub> -B16	4.20	-	-	-	-
2	E <sub>2</sub> -A10	4.40	-	-	E <sub>2</sub> -B15	3.85	-	-	-	-
3	E <sub>2</sub> -A1	3.5	-	-	E <sub>2</sub> -A2	3.75	-	-	-	-
4	E <sub>2</sub> -A9	2.40	-	-	E <sub>2</sub> -A4	1.69	-	-	-	-
5	E <sub>2</sub> -A4	2.18	-	-	E <sub>2</sub> -B19	1.44	-	-	-	-
6	E <sub>2</sub> -A12	1.42	-	-	E <sub>2</sub> -A1	1.36	-	-	-	-
7	E <sub>2</sub> -A11	1.31	-	-	E <sub>2</sub> -B13	1.33	-	-	-	-
8	E <sub>2</sub> -A2	1.25	-	-	E <sub>2</sub> -B17	1.16	-	-	-	-

MIE: Moyennes des index enzymatiques

E<sub>2</sub>-A: Les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium* sur King A.

E<sub>2</sub>-B: Les isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de la rhizosphère de *Teucrium polium* sur King B.



**Figure 17:** Pourcentages des *Pseudomonas* spp. actifs

C: Cellulase; P: Protéase; A: Amylase; L: Lipase; E: Estérase, E1: *Origanum vulgare* ; E2: *Teucrium polium*.

Les *Pseudomonas* ont une capacité élevée à coloniser la rhizosphère ainsi que les racines des plantes et sont capables de former des associations intimes avec leurs hôtes. Les différentes espèces de *Pseudomonas* qui colonisent la rhizosphère possèdent plusieurs

caractéristiques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Elles sont connues pour produire des composés antimicrobiens et les enzymes extracellulaires (lipase, estérase, xylanase, pectinase, amylase, protéase et cellulase) (**Allaire, 2005**).

### Conclusion et perspectives

Les rhizobactéries représentent le groupe le plus important des microorganismes de la rhizosphère, sont devenues dernièrement un sujet intéressant qui a pour objectif principal d'étudier les microorganismes présents dans la rhizosphère et d'exploiter leurs particularités qui offrent des perspectives biotechnologiques.

Dans cette étude, deux échantillons sont prélevés à partir de la rhizosphère de deux plantes médicinales dans la région de GHAILASSA de la wilaya de Bordj Bou Arreridj. Ces échantillons ont fait l'objet d'un isolement des bactéries d'intérêt industriel productrices de différentes enzymes hydrolytiques tels que la cellulase, amylase, protéase, lipase, et l'estérase.

40 isolats différents sont isolés à partir de *Origanum vulgare*, et 52 à partir de *Teucrium polium* sur le milieu PCA. En plus de 20 et 19 isolats de *Pseudomonas* spp. isolés à partir de *Origanum vulgare* et *Teucrium polium* respectivement sur les milieux King A et King B. Ces isolats ont été purifiés sur la base de leurs aspects visuels. La recherche des activités enzymatiques a montré que les bactéries étudiées lors de ce travail produisent la majorité des enzymes ciblées.

Pour les isolats de *Origanum vulgare* l'activité protéolytique représente l'activité la plus élevée avec un pourcentage de 65% suivie par l'activité cellulase 52,5% puis l'activité lipolytique 42,5%. Cependant les activités amylasique et estérasique elles étaient absentes chez tous les isolats.

Dans le deuxième échantillon de *Teucrium polium*, l'activité cellulase représente l'activité la plus élevée avec un pourcentage de 61,53% suivie par l'activité protéolytique avec 55,76%. suivie par l'activité lipolytique 36,53%. Tandis que les pourcentages les plus faibles sont représentés par les activités amylasique et estérasique.

Concernant les isolats de *Pseudomonas* spp. la caséine est le substrat le plus dégradé par les isolats de *Origanum vulgare* avec un pourcentage de 70%; suivi par la cellulose 20%. Pour les activités amylolytique, lipolytique et estérasique elles étaient absentes chez tous les isolats.

Pour les isolats de *Pseudomonas* spp. de *Teucrium polium*, 42,10% des isolats sont capables de dégrader la cellulose et caséine, cependant ces isolats ne dégradent ni l'amidon, ni le Tween 80 ni le Tween 20.



D'après les résultats obtenus on conclue que les bactéries rizhosphériques étudiées dans ce travail sont capables de produire de différentes enzymes hydrolytiques et possèdent une importance et une utilité dans des domaines industriels.

Le travail qu'on a effectué constitue une étape préliminaire pour des études plus larges, approfondies et accomplies incluant:

- Des tests supplémentaires pour la présence d'autres enzymes; uréase et Phosphatase
- Une identification des espèces bactériennes isolées possédant des activités enzymatiques plus importantes
- Une étude quantitative et plus approfondie des activités enzymatiques de ces isolats  
Une étude du pouvoir de stimulation de la croissance de ces bactéries des plantes à importance agronomique.
- Evaluation de l'activité antifongique contre les champignons phytopathogènes

## *Références Bibliographiques*

---

**Adesemoye A.O., Kloepper J.W. (2009):** Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer-use.

**Aguilar C.N., Gutiérrez-Sánchez G., Rado-Barragán P. A., Rodríguez-Herrera R., Martínez-Hernandez J.L., Contreras-Esquivel J.C. (2008):** Perspectives of solid state fermentation for production of food enzymes. *American J. Biochem. Biotechnol.* 4:354-366p.

**Ahlawat S., Dhiman S., Battan B., Mandhan R. P., Sharma J. (2009):** Pectinase productionn by *Bacillus subtilis* and its potential application in biopreparation of cotton and micropoly fabric.*Process Biochemistry.*44: 521-526p.

**Ahmad N., Shinwari Z. K., Bashir S. et Yasir M. (2013):** Function and Pylogenetic Characterization Of Rhizospheric Bacteria Associated With GM And Non GM Maize. *Pak. J. Bot.* 45: 1781-1788p.

**Amin khoudja I. (2013) :** Bactéries minéralisant le phytate dans la rhizosphère d’haricot *phaseolus vulgaris* L. Dans un agro écosystème Algérien, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine . 90p.

**Antoun H. and Prévost D. (2005):** Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. *Z. Siddiqui (ed.).*5: 72-87p.

**Arvy Marie-Pierre et Gallouin français . (2003):** épices, aromates et condiments - éditions Belin.11: 43-66p.

**Autore G., Capasso F., De Fusco R., Fasulo M.P., Lembo, M. ,Mascolo N., Menghini A. (1984):** Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium* (L.) *Pharmacal.l Res. Commun.* 1: 16p.

**Avinash T.S. et Rai R.V. (2014).** Antifungal Activity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria against *Fusarium oxysporum* and *Phomas*. Of *Cucurbitaceae*. In: R. N. Kharwar et al. (eds.), *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security*. Mysore, Karnataka. 257-264p.

**Babalola O.O. (2010):** Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett* 32:1559–1570p.

**Bach H. J., Munch J. C., (2000):** Identification of bacterial sources of soil peptidases. *Biol Fertil Soils* 31: 219–224p.

## *Références Bibliographiques*

---

**Barnett C.C., Berka R.M., Fowler T. (1991):** Cloning and amplification of the gene encoding an extracellular  $\beta$ -glucosidase from *Trichoderma reesei*: evidence for improved rates of saccharification of cellulosic substrates. *Bio/Technology*.9: 562-567p.

**Bekhouche F. (1991) :** Recherche de champignons cellulolytiques du sol des zones arides du Sahara algérien. Etude comparée des cellulases de *Lasiobolium Orbiculoides* et *Aspergillus Terreus*. Institut de la Nutrition de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaire. Constantine.235-237p.

**Bell-Perkins L. J., Lynch J.M. (2002):** Encyclopedia of environmental microbiology, A Wiley-Interscience Publication, Canada, Rhizosphere microbiology, *In* G. Bitton (ed.). 2713-2728p.

**Benaouida K. (2008):** Etude de l'alpha amylase de levures isolées d'un écosystème extrême (sol environnant des sources thermales) et cultivées sur un milieu à base de lactosérum. Mémoire Magistère. Université Mentouri. Constantine. 104p.

**Bensidhoum L., Rai A., Tabli N., Kahouadji N., Khaber M.et Nabti El-H. (2015) ,Bhat M.K. (2000):** Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*. 18: 355-383.

**Bhattacharyya et Dhruva K. (2012):** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) : emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28 (4): 1327-1350. *Bot.* 45: 1781-1788p.

**Boullard B. (2003):** Plantes médicinales du monde : réalités et croyances. Paris. 1092-1107p.

**Bouras M. (2014):** Isolement et identification des pseudomonas spp fluorescents à partir de la rhizosphère des plantes actinorhiziennes, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 94p.

**Bousseboua H. (2002):** Eléments de Microbiologie Générale. Programmes de graduation. Editions de l'Université Mentouri.Constantine Algerie .230-231p.

**Brimecombe M. J., De Leij F.A., Lynch J.M. (2007):** Rhizodeposition and microbial population, *In* R. Pinto, Z. Varanini, P. Nannipieri (ed.), *The rhizosphere : biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. CRC Press. New York. 74-98p.

## *Références Bibliographiques*

---

**Bruneton J. (1987):** Éléments de phytochimie et de pharmacognosie, Ed. Tec&Doc Lavoisier . 123p.

**Burhan A., Nisa U., Gokhan C., Ömer C., Ashabil A.&OsmanG. (2003):** Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic, alkalineand chelator resistant amylase from an alkaliphilic *Bacillus* Sp. Isolate ANT-6. *Process Biochem.* 38: 1397-1403p.

**Calero-Rueda O., Plou F.J., Ballesteros A., Martinez A.T., and Martinez M.J., (2002):** Production, isolation and characterization of a sterol esterase from *Ophiostoma piceae*. *Biochem. Biophys. Acta.* 1599: 28–35p.

**Carrim A. J. I., Barbosa E. C., Gonçalves V. J.D. (2006):** Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 49 : 353-359p.

**Chahinian H., Sarda L. (2009):** Distinction between esterases and lipases: comparative biochemical properties of sequence-related carboxylesterases. *Protein. Pept. Lett.* 16: 1149-1161p.

**Chi Z., Liu G., Wang F., Ju L., Zhang T. (2009):** *Saccharomycopsis fibuligera* and its applications in biotechnology. *Biotechnol Adv.*27: 423-431p.

**Chi Z., Ma C., Wang P., Li H.F. (2007):** Optimization of medium and cultivation conditions for alkaline protease production by the marine yeast *Aureobasidium pullulans*. *Bioresour. Technol.* 98: 534–538p.

**Choi Y.-J., Lee B.H., (2001):** Culture conditions for the production of esterase from *Lactobacillus casei* CL96. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 24: 59–63p.

**Curtis T.P., Sloan W.T., Scannell J.W. (2002):** Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 6(99): 10494-10499p.

**Debuigne G. (1974):** Larousse des plantes qui guérissent, Ed. Larousse.

**Devi M.K., Banu A.R., Gnanaprabhal G.R., Pradeep B.V., Palaniswamy M., (2008):** Purification, characterization of alkaline protease enzyme from native isolate *Aspergillus niger* and its compatibility with commercial detergents. *Indian J. Sci. Technol.* 1(7): 1–6p.

## Références Bibliographiques

---

**Dinesh R., Anandaraja M., Kumarb A., Binia Y.K., Subilaa K.P., Aravind R., (2015):** Isolation, characterization, and evaluation of multi-trait plant growth promoting rhizobacteria for their growth promoting and disease suppressing effects. *Microbiological Research*. 173: 34–43p.

**Ding J., Yu T., Liang L., Xie Z., Yang Y., Zhou J., et al. (2014):** Biochemical characterization of a GDSL-motif esterase from *Bacillus* sp. K91 with a new putative catalytic mechanism. *J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 1551–1558p.

**Drouin M., (2005):** Etude de production de protéases alcalines par *Bacillus licheniformis* en utilisant des boues d'épuration municipales comme substrat. Mémoire de *Maître ès sciences* (M.Sc.). Canada.

**Fernández J., Mohedano A.F., Fernández-García E., Medina M., Nuñez M. (2004):** Purification and characterization of an extracellular tributyrin esterase produced by a cheese isolate, *Micrococcus* sp. INIA 528. *Int. Dairy J.* 14: 135–142p.

**Ferrero M.A., Castro G.R., Abate C.M., Baigori M.D., Sineriz F. (1996):** Thermostable alkaline proteases of *Bacillus licheniformis* MIR 29: isolation, production and characterization. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45: 327–32p.

**Fickers P., Destain J., Thonart P. (2008):** Les lipases sont des hydrolases atypiques : Principales caractéristiques et application. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12: 119-130p.

**Fogarty W. M., Kelly C.T. (1994):** *Microbial Enzymes and Biotechnology Applied Science*, London, New York. (43):71-132p.

**Fossi B. T., Tavea F., Ndjouenkeu R. (2005) :** Production and partial characterization of a thermostable amylase from ascomycetes yeast strain isolated from starchy soils. *African Journal of Biotechnology.* 4(1): 14p.

**García-Gómez M.J., Huerta-Ochoa S., Loera-Corral O., Prado-Barragán L.A. (2009):** Advantages of a proteolytic extract by *Aspergillus oryzae* from fish flour over a commercial proteolytic preparation. *Food Chem.* 112: 604–608p.

## *Références Bibliographiques*

---

**Ghosh D., Erman M., Duax, W.L., (1991):** Crystallization and preliminary diffraction analysis of cholesterol esterase from *Candida cylindracea*. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 38: 663– 665p.

**Gilham D., Lehner R. (2005):** Techniques to measure lipase and esterase activity in vitro. *Methods.* 36: 139-147p.

**Giuliani S., Piana C., Setti L., Hochkoepler A., Pifferi P.G., Williamson G., Faulds C.B. (2001):** Synthesis of pentylferulate by a feruloyl esterase from *Aspergillus niger* using water-in-oil microemulsions. *Biotechnol. Lett.* 23: 325–330p.

**Graber M., Combes D. (1989):** Microbial  $\alpha$ -amylases: Enzyme and *MicrobiolTechnology.* 2:663-687p.

**Gonita-Mishra I., Sapre S., Sharam A., Tiwari S. (2016):** Alleviation of Mercury Toxicity in Wheat by the Interaction of Mercury-Tolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *J Plant Growth Regul.* DOI 10.1007/s00344-016-9598-x. Biological Control of *Botrytis cinerea* by *Bacillus* sp. Strain S7LiBe Under Abiotic Stress. *International Journal of Scientific Research in Science and Technology.* 6: 07-14p.

**Govindasamy V., Senthilkumar M., Bose P., Vithal K. L., Ramadoss D. and Annapurna K. (2011):** ACC deaminase Containing PGPR for potential exploitation in agriculture. D.K. Maheshwari (ed.), *Bacteria in Agrobiolology: Plant Nutrient Management.* 183-208p.

**Gusakov A V., Sinitsyn A P., Markov A V., Skomarovsky A., Sinitsyna O. A., Berlin A. G., Ankudimova N. V. (2000):** Indigo-binding domain in cellulase molecule. *Biocatalysis fundamantals and applications.* 11 (6): 77-80p.

**Haas D., Keel C. (2003):** Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Ann. Rev. Phytopathol.* 41: 117-153p.

## *Références Bibliographiques*

---

**Hasan F., Shah A.A., et Hameed A. (2006):** Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*. 39: 235-51p.

**Hatzakis N.S., Daphnomili D., Smonou I. (2003):** Ferulic acid esterase from *Humicola insolens* catalyzes enantioselective transesterification of secondary alcohols. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 21: 309–311p.

**Headon D., Walsh G (1994):** The industrial production of enzymes. *Biotechnology advances*. 12(4) : 635-646p.

**Hmidet N., El Hadj A, N., Haddar A., Kanoun S., Alya S., Nasri M. (2009):** Alkaline proteases and thermostable  $\alpha$ - amylase co-produced by *Bacillus licheniformis* NH1: Characterization and potential application as detergent additive. *Biochemical Engineering Journal*. 47: 71-79p.

**Höfte, M., et N. Altier. (2010):** Fluorescent pseudomonads as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. *Res. Microbiol.* 161: 464-471 p.

**Horne I., Harcourt R.L., Sutherland T.D., Russell R.J., Oakeshott J.G. (2002):** Isolation of a *Pseudomonas monteilli* strain with a novel phosphotriesterase. *FEMS Microbiol. Lett.* 206: 51– 55p.

**Horner-Devine M.C., Leibold M.A., Smith V.H., Bohannon B.J.M. (2003):** Bacterial diversity patterns along a gradient of primary productivity. *Ecology Letters*. 6(7): 613-622p.

**Jaeger K. E., Schneidinger B , Rosenau F, Werner M, Lang D, Dijkstra B. W., Reetz M. T. (1997):** Bacterial lipases for biotechnological applications. *Journal of Molecular Catalysis - B Enzymatic*. 3(1-4) : 3–12p.

**Jaeger K. E., Eggert T. (2002):** Lipases for biotechnology. *Current opinion in biotechnology*. 13:390-397p.

**Jean-Yves Chabrier. (2010):** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. *Sciences pharmaceutiques*.

**Jha B., Gontia I., Hartmann A. (2012):** The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential *Plant Soil*. 356: 265–277p.

## Références Bibliographiques

---

**Kazlauskas R.J., Weber H.K. (1998):** Improving hydrolases for organic synthesis. *Curr Opin Chem Biol*, vol. 2: 121-126p.

**Korish M. (2003):** Production, Purification, Properties and Application of the Cellulase from a Wild type Strain of a Yeast isolate. Faculty of Biology, Johannes Gutenberg- University, Mainz, Germany.

**Kuhad R.C., Gupta R., Singh A. (2011):** Microbial Cellulases and Their Industrial Applications. *Enzyme Research*. Volume 2011, Article ID 280696. 10p.

**Kumar A.G., Nagesh N., Prabhakar T.G., Sekaran G., (2008):** Purification of extracellular acid protease and analysis of fermentation metabolites by *Synergistes* sp. Utilizing proteinaceous solid waste from tanneries. *Bioresour. Technol.* 99: 2364–2372p.

**Kumar D., Savitri., Thakur N., Verma R., Bhalla T.C. (2008):** Microbial proteases and application as laundry detergent additive. *Res. J. Microbiol.* 3(12) : 661–672p.

**Lafkir S. et Mahbous A. (2018):** Activités enzymatiques des bactéries rhizosphériques de deux plantes médicinales (*Matricaria chamomilla* et *Rosmarinus officinalis*). 22 – 45p.

**Lemanceau P. (1992) :** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents. *Agronomie.* 12: 413-437p.

**Lomolino G., Rizzi C., Spettoli P., Curioni A., Lante A. (2003):** Cell vitality and esterase activity of *Saccharomyces cerevisiae* is affected by increasing calcium concentration. *Agro Food Industry Hi Tech.* 14(6): 32–35p.

**Malhotra N. S. M., Satyanarayana T. (2002):** Production and partial characterization of thermostable and calcium-independent alpha-amylase of an extreme thermophile *Bacillus thermooleovorans* NP54. *Letter of Applied Microbiology.* 31(5):378-384p.

**Manoharachary C., Mukerj K. J. (2006);** Rhizosphere Biology-an Overview. (Eds), *Microbia Activity in the Rhizosphere.* p7.

**Mehenna F., Mezhoud H. (2017):** Isolement de bactéries rhizosphériques résistantes aux métaux lourds. thèse de Master. Université *Abderrahmane Mira de Bejaia* .p11.

**Merabtir. (2006):** Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien. Thèse de Magistère. Université Mentouri Constantine. 85p.



## *Références Bibliographiques*

---

- Metin K., Burcu Bakir Ateslier Z., Basbulbul G., and Halil Biyik H. (2006):** Characterization of esterase activity in *Geobacillus* sp. HBB-4. *J. Basic Microbiol.* 46: 400–409p.
- Mitidieri S., Souza M., Schrank A. H., Vainstein M.H. (2006):** Enzymatic detergent formulation containing amylase from *Aspergillus niger*: a comparative study with commercial detergent formulations. *Bioresour Technol.* 97: 1217-1224p.
- Moore E.R.B., Tindall B.J., Martins Dos Santos V.A.P., Pieper D.H., Ramos J.L., et Palleroni N.J. (2006):** Nonmedical: *Pseudomonas*, In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, et E. Stackebrandt (ed.), *Prokaryotes*, Springer, USA. 646-703p.
- Morgan J. A. W., Bending G. D. and White P. J. (2005):** Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany.* 56: 1729-1739p.
- Muthulakshmi C., Gomathi D., Kumar D.G., Ravikumar G., Kalaiselvi M. et Uma C. (2011):** Purification and Characterization of Protease by *Aspergillus flavus* under Solid State Fermentation. *Journal of Biological Sciences Production.* Volume 4, Number. 3: 137 – 148p.
- Mwajita M. (2013):** R, Murage H, Tani A, Kahangi E. M., Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters, *Kenya Agricultural Research Institute.* 8: 1-9p.
- Nabti E. H., Bensidhoum L., Tabli N., Dahel D., Weiss A., Rothballer M., Schmid M., Hartmann A. (2014):** Growth stimulation of barley and biocontrol effect on plant pathogenic fungi by a *Cellulsi* microbium sp. Strain isolated from salt-affected rhizosphere soil in north western Algeria *European Journal of Soil Biology.* 61: 20-26p.
- Nadirman H., Yoshiyuki O. (2006):** Mechanism of Hydrolysis of the Treated Starch Granules by Raw Starch Digesting Amylase from *Penicillium brunneum*, *Journal Starch Starke.* 7: 25-28p.
- Naghbi F., Mosaddegh M., Motamed S. M., Ghorbani A. (2005):** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* 2: 63-79p.

## Références Bibliographiques

---

**Najjar A. (2010):** Etude quantitative de la sécrétion de lipase, de la lipolyse et du stockage de lipides chez *Yarrowia lipolytica* lors de sa croissance en présence d'huile d'olive. Thèse. Microbiologie et Biotechnologies.

**Nevalainen K.M.H., Palva E.J. (1978):** Production of extracellular enzymes in mutant isolated from *Trichoderma viride* unable to hydrolyse cellulose. *Appl Envir Microbiol.* 33: 11-16p.

**Nielsen J. E. and Borchet T. V. (2000):** *Biochim. Biophys. Acta.* 1543: 253-274p.

**Nishimura M., and Inouye S. (2000):** Inhibitory effects of carbohydrates on cholesterol esterase biosynthesis in *Streptomyces lavendulae* H646-SY2. *J. Biosci. Bioeng.* 90: 564–566p.

**Norini M. P. (2007):** Ecodynamique des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des communautés microbiennes dans des sols dans des sols à pollution mixte (HAP, métaux, avant et après traitement par biopile et par désorption thermique : influence de la rhizosphère et de mycorhization . thèse de Doctorat en Géosciences .Université Henri Poincaré Nancy. p33.

**Onsori H., Zamani M. R., Motallbei M., Zarghami N. (2005):** Identification of over producing strain of endo- $\beta$ -1, 4-glucanase in *Aspergillus* species: characterization of crude carboxymethyl cellulose. *African.Jour. Biotechnol.* 4 (1): 26-30p.

**Pandey A. (2004):** Alpha amylase from a fungal culture grown on oil cakes and its properties. *Braz. arch. biol. technol.* (2): 47p.

**Pandey A., Nigam P., Soccol C. R., Soccol V. T., Singh D., Mohan R. (2000):** Advances in microbial amylases. *Biotechnol Appl Biochem.* 31:135-52p.

**Parray J. A., Jan S., Kamili A. N., Qadri R. A., et al. (2015):** Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *J Plant Growth Regul.* 121 : 325-334p.

**Petit J. and Jobin P. (2005):** La fertilisation organique des cultures Les bases. Fédération d'agriculture biologique du Québec . PGPR: Biocontrol and Biofertilization. 1–38p.

**Prakash B., Vidyasagar M., Madhukumar M.S., Muralikrishna G.,Sreeramulu K. (2010):** Production, purification, and characterization of twoextremely halotolerant, thermostable, and alkali-stable  $\alpha$ -amylases from *Chromohalobacter* sp. TVSP 101. *Process Biochem.* 44:210–215p.

## Références Bibliographiques

---

**Prim N., Bofill C., Pastor F.I.J., and Diaz P. (2006):** Esterase EstA6 from *Pseudomonas* sp. CR-611 is a novel member in the utmost conserved cluster of family VI bacterial lipolytic enzymes. *Biochimie*. 88: 859–867p.

**Qureshi M. A., Ahmad Z. A., Akhtar N., Iqbal A., Mujeeb F., and Shakir M. A. (2012):** Role of phosphate solubilizing bacteria (psb) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 22(1): 204-210p.

**Rameau J. C., Mansion D., Dumé G., ET Gauberville C. (2009).** Flore forestière- Tome 3: Région méditerranéenne- Institut pour le développement forestière 67p.

**Rao M.B., Tanksale A.M., Ghatge M.S., Deshpande V.V. (1998):** Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 597–635p.

**Rapp P., and Berman A. (1991):** Bacterial cellulases. In C. H. Haigler and P. J. Weimer (ed.), *Biosynthesis and biodegradation of cellulose*. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. 535-595p.

**Rasekh H.R., Yazdanpanah H., Hosseinzadeh L., Bazmohammadi N., Kamalinejad. (2005):** M. Acute and subchronic toxicity of *Teucrium polium* total extract in rats .Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 4: 245-249p.

**Reddy N. S., Nimmagadda A., Sambasiva Rao K.R.S. (2003):** An overview of the microbial alpha-amylase family. *Afr. J. Biotechnol.* 2: 645-648p.

**Reis P., Holmberg K., Watzke H., Leser M. E., Miller R. (2009):** Lipases at interfaces: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*. 147-148(C) : 237–250p.

**Sahin F., Güllüce M., Daferera D., Sökmen A., Sökmen M., Polissiou M., Agar G., Özer H. (2003):** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. 15: 549–557p.

**Sandhya C., Sumantha A., Szakacs G., Pandey A. (2005):** Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Proc. Biochem.* 40: 2689–2694p.

**Sankaralingam S., Shankar T., Ramasubburayan R., Prakash S., & Kumar C. (2012):** Optimization of culture conditions for the production of amylase from *Bacillus licheniformis*

## *Références Bibliographiques*

---

on submerged fermentation. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences.12(11) : 1507-1513p.

**Schamburg D., Salzman M. G. B. F. (1991).** Cellulase. In: Enzyme Handbook, Vol IV. Springer-Verlag Berlin . 1-11p.

**Scriban R. (1993):** Biotechnologie. 4<sup>ème</sup> édition. Technique et Documentation – Lavoisier, Paris. 40p.

**Scriban R. (1999):** Biotechnology. 5<sup>ème</sup> édition. Technique et Documentation – Lavoisier, Paris. 149- 156-157p.

**Sharma R., Chisti Y., Banerjee U. C. (2001):** Production, purification, characterization, application of lipases. Biotechnology advances. 19: 627-662p.

**Sierra G.A. (1957):** A simple method for the detection of lypolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substracts. Antonine van Leeuwenhoeck. 28: 15-22p.

**Tabli N., Nabti EH., Dahel D., Mokrane N., Manyani H., Dary M., et Megias M G. (2013):** Impact of diazotrophic bacteria on germination and growth of tomato, with bio-control effect, isolated from Algerian soil. J. Eco. Heal. Env. Vol. 1, No. 1: 19-25p.

**Takashima S., Nakamura A., Hidaka M., Masaki H., Uozumi T. (1999):** Molecular cloning and expression of the novel fungal beta-glucosidase genes from *Humicola grisea* and *Trichoderma reesei*. J. Biochem. 125 :728-736p.

**Teucher E., Anton R., Lobstein A. (2004):** Origan. In « Plantes aromatiques : Epices, aromates, condiments et huiles essentielles ». *Ed Tec & Doc, Lavoisier, Paris*: 361-364p.

**Tserovska L., Dimkov R., Rasheva T., Yordanova T. (2006).** Extra- and intracellular esterases involved in dimethylterephthalate catabolism by *Pseudomonas* sp. J. Culture Collections, 5: 35–37p.

**Vidaud C. (1984):** Contribution à l'étude de l'introduction du système cellulastique de *Trichoderma* sp par utilisation d'analogie de substrat thiosaccharidique. Thèse de 3<sup>ème</sup> Cycle. Université de Grenoble.98p

## *Références Bibliographiques*

---

**Vinoth Raj S., Kanikkai Raja A., Babu Vimalanathan A., Manoj G., Tyagi NamanHirenkumar Shah., Johnson Amala Justin N.A., Infant Santhos B., Sathiyaseelan K. (2009);** Study of starch degrading bacteria from kitchen waste soil in the production of amylase by using paddy straw. *Recent Research in Science and Technology* 1(1): 8–13p.

**Volkl p., Huber R., Drobner E., Rachel R., Burggraf S., Trincone A., Stetter Ko. (1993):** *Pyrobaculum aerophilum* sp. nov., a novel nitrate-reducing hyperthermophilic archaeum. *Appl. and Environ. Microbiol.* 59:2918-2926p.

**Weert, Hans Vermereiren. (2002):** Flagella-Driven Chemotaxis Towards Exudate Components Is an Important Trait for Tomato Root Colonization by *Pseudomonas fluorescens*. 103-120p.

**Xu B. (2002):** Endoglucanase and Mannanase from Blue Mussel, *Mytilus edulis*: Purification, Characterization, Gene and Three Dimensional Structure. Thèse de doctorat. Faculty of Science and Technology, Uppsala University, Sweden. 32p.

**Xu B., Hellman U., Ersson B., Janson J C. (2000):** Purification, characterization and amino acid sequence analysis of a thermostable, low molecular mass endo- $\beta$ -1,4-glucanase from Blue Mussel, *Mytilus edulis*. *Euro J Biochem.* 267: 4970 - 4977p.

**Annexe 1.**  
**Matériel lourd**

Tout le matériel lourd utilisé durant cette étude est présenté dans le tableau ci-dessous :

<b>Matériels</b>	<b>Marques</b>	<b>Origines</b>
Hotte microbiologique	STERIL-GEMINI	Italy
Compteur de colonies	J.P.SELECTA,s.a	Spain
Etuves à 30°C	memmert	Germany
Microscope optique	OPTIKA B-350	Italy
Autoclave	SANOCLAV LaM-3-20-ECZ-J	/
Balance de précision	KERN ALS 220-4N	/
Balance électrique	/	Germany
Four Pasteur	memmert type UNB400	Germany
Bain marie	memmert	Germany
pH mètre	Inolab pH730	Germany
Distillateur	BuchI Distillation Unit K-350	Switzer land
Réfrigérateur/Congélateur	CONDOR	Algeria
Agitateur magnétique (plaque chauffante)	AGIMATIC-E	/
Vortex	Fisher Scientific FB 15024	/
Bec Bunsen	INTEGRA Biosciences®, model FIREBOY eco, bec Bunsen	/

## Annexe 2

### Milieux de culture et réactifs

#### **PCA (Plate Count Agar)**

Caséine	5 g
Extrait de levure	2.5 g
Glucose	1 g
Agar	15 g
Eau distillée	1 L
pH	07

#### **King A**

Peptone	20 g
Glycérol	10 g
Sulfate de potassium	10 g
Chlorure de magnésium	1.4 g
Agar	12 g
Eau distillée	1 L
pH	7.2

#### **King B**

Peptone	20 g
Glycérol	10 g
Phosphate dipotassique	1.5 g
Sulfate de magnésium, 7 H <sub>2</sub> O	1.5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1L
pH	7.2

#### **Bouillon Nutritif (BN)**

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Na Cl	5 g
Eau distillée	1L

pH	<b>7.3</b>
----	------------

### **Eau physiologie**

Chlorure de sodium (Na cl)	<b>9 g</b>
Eau distillée	<b>1L</b>

### **Lugol**

Iode	<b>5 g</b>
Iodure de potassium	<b>10 g</b>
Eau distillée	<b>100 ml</b>



## Résumé

Ce travail s'intéresse à la mise en évidence des activités enzymatiques chez les bactéries rhizosphériques de deux plantes médicinales collectées pendant le mois d'avril (2019) dans la région de GHAILASSA de la wilaya de Bordj Bou Arreridj (Algérie). Après la purification, 40 différents isolats ont été isolés à partir de la rhizosphère de *Origanum vulgare*, et 52 à partir de celle de *Teucrium polium* sur le milieu PCA, en plus de 20 et 19 isolats de *Pseudomonas* spp. obtenus à partir de *Origanum vulgare* et de *Teucrium polium* respectivement sur les milieux King (A et B). Des tests d'activités enzymatiques: cellulase, amylase, protéase, estérase, et lipase ont été effectués, les résultats obtenus montrent que pour les isolats de *Origanum vulgare* l'activité protéolytique représente l'activité la plus élevée avec un pourcentage de 65% suivie par l'activité cellulosique (52,5%) puis l'activité lipolytique (42,5%), cependant les activités amyliques et estérasiques elles étaient absentes chez tous les isolats. Dans le deuxième échantillon de *Teucrium polium*, l'activité cellulosique représente l'activité la plus élevée avec un pourcentage de 61,53% suivie par l'activité protéolytique avec 55,76%, suivie par l'activité lipolytique (36,53%), tandis que les pourcentages les plus faibles sont représentés par les activités amyliques et estérasiques. Concernant les isolats de *Pseudomonas* spp., la caséine est le substrat le plus dégradé par les isolats de *Origanum vulgare* avec un pourcentage de 70%; suivi par la cellulose (20%), pour les activités amyliques, lipolytiques et estérasiques elles étaient absentes chez tous les isolats. Pour les isolats de *Pseudomonas* spp. de la rhizosphère de *Teucrium polium*, 42,10% des isolats sont capables de dégrader la cellulose et la caséine, cependant aucun d'entre eux ne dégrade ni l'amidon, ni le Tween 80 ni le Tween 20. Ces résultats montrent l'importance des bactéries rhizosphériques dans la production des différentes enzymes.

**Mots clés:** Bactéries rhizosphériques, activité enzymatique, *Origanum vulgare*, *Teucrium polium*.

## المخلص:

تهدف هذه الدراسة إلى الكشف عن النشاطية الإنزيمية لـ 92 عزلة بكتيرية جذرية تم عزلها من نباتين طبيين تم جمعها خلال شهر أبريل 2019 في منطقة غيلاسة في ولاية برج بوعريش (الجزائر). بعد تنقية 40 عزلة مختلفة تم الحصول عليها من *Origanum vulgare* و 52 عزلة من *Teucrium polium* تم عزلها على وسط الزرع PCA. بالإضافة إلى 20 و 19 عزلة من *Pseudomonas* spp. تم الحصول عليها من *Origanum vulgare* و *Teucrium polium* على التوالي والتي تم عزلها على أوساط الزرع King A و King B. تم إجراء اختبارات النشاط الأنزيمي لكل من السيلولاز، الأميلاز، البروتياز، الإستيراز، والليباز. أظهرت النتائج المتحصل عليها أنه بالنسبة لعزلات *Origanum vulgare* النشاطية الأعلى هي نشاطية البروتياز 65% تليها السيلولاز 52,5% بعدها الليباز 42,5%، بينما لا توجد نشاطية الأميلاز والإسترز. بالنسبة للعينة الثانية *Teucrium polium* فإن نشاطية السيلولاز تمثل أعلى نشاط 61,53% متبوعة بنشاطية البروتياز 55,76% تليها نشاطية الليباز 36,53%. في حين النشاطية الأدنى مثلتها نشاطية الأميلاز والإسترز. فيما يخص عزلات *Pseudomonas* spp. فقد أظهرت النتائج أن السيلولوز الكازيين هو الأكثر تحللا من طرف عزلات *Origanum vulgare* بنسبة 70% متبوع بالسيلولوز 20%. بالنسبة لعزلات *Teucrium polium* 42,10% منها قادرة على تحليل السيلولوز و الكازيين، إلا أن هذه العزلات غير قادرة على تحليل النشاء، Tween 20 و Tween 80. هذه النتائج تبين أهمية البكتيريا الجذرية في صناعة مختلف الإنزيمات

**الكلمات المفتاحية:** عزلات، بكتيريا جذرية، نشاطية إنزيمية، *Origanum vulgare*, *Teucrium polium*.