



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

# MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Microbiologie Fondamentale et Appliquée  
Réf. : .....

---

**Présenté et soutenu par :**

**Fatima Zohra RAFAI**

Le : Mardi 9 juillet 2019

## Thème

**Caractérisation phénotypique des actinomycètes du  
sol des régions arides**

---

**Jury :**

<b>Mme. YASRI Nabila</b>	<b>MCB Université de Biskra</b>	<b>Président</b>
<b>Mme. BABA ARBI Souad</b>	<b>MCB Université de Biskra</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Mme. MOHAMMEDI Kenza</b>	<b>MAB Université de Biskra</b>	<b>Examineur</b>

## **REMERCIEMENTS**

*Avant tout je remercie " Allah " le tout puissant, le Miséricordieux, qui m'a donné le courage, la volonté, la force, la santé et la persistance pour accomplir ce modeste travail. Merci de m'avoir éclairé le chemin de la réussite et m'avoir aidé à surmonter toutes les difficultés lors de mes études.*

*Je s'adresse mes plus vifs remerciements à Mon encadreur **Mme BABA ARBI Souad**, Maître de Conférence à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Biskra, pour son encadrement, ses encouragements, ses orientations, pour ses aides, sa patience, ses conseils scientifiques judicieux, sa compétence et sa gentillesse qui m'ont permis de bien mener ce modeste travail et pour avoir participé activement à la correction de ce manuscrit.*

*Je tiens également à remercier les membres du jury pour avoir accepté l'évaluation de mon travail.*

*Je tiens de remercier l'ingénieur " Radia " du département de la chimie industriels de la faculté des sciences techniques pour me aider par donné les produits qui j'ai besoins dans mes études et les ingénieurs de laboratoire de département de la biologie.*

*Je remercie aussi tous les enseignants et les enseignantes qui m'ont formé durant ces 5 années, et m'ont préparé pour cette dernière année de master. Merci pour vos encouragements et votre gentillesse.*

*Enfin, Je remercie tous ce qui a participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*



**DÉDICACE**  
DÉDICACE

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de vos interminables conseils ; assistance et soutien moral, en témoignage de ma reconnaissance et mon affection, dans l'espoir que vous en serez fiers.*

*A mon Très **chère** père, mon exemplaire dans cette vie, qui m'a toujours soutenu et m'encouragé, et qu'a été toujours présent pour moi.*

*A la plus chère au monde, **ma mère** qui a toujours m'encouragé durant mes études. Je t'aime maman. Je demande à Dieu les protéger et leur réserver une longue vie.*

*A mes grand- parents maternels et paternels*

***"La paix a son âme"***

*A ma 2<sup>me</sup> mère, je souhaite dieux que la protégée.*

*A mes Très chères sœurs*

*A mes Très chers frères*

*A la petite fleur de la famille "**Mayar**"*

*A mes oncles et tantes paternels et maternels et leurs enfants.*

*A tous ma famille **Rafai** et **Necib***

*A toutes mes très chères amies : **Majda, Meri.***

*A mes beaux-frères*

*A toute la promotion master2018-2019 /Option Microbiologie Appliquée du Département des SNV, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
**Université Mohamed khider Biskra***

*A toute personne qui me connaît de près ou de loin.*

## Sommaire

Remerciements

Dédicace

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction	01
Chapitre 1 : Généralités sur les actinomycètes	
1.1 Définition et caractérisation d'actinomycètes	04
1.2 Morphologie des actinomycètes	04
1.3 La physiologie de développement	05
1.4 Ecologie et distribution dans la nature	05
1.5 Classification des actinomycètes	06
Chapitre 2 : L'intérêt des actinomycètes	
2.1. Importance dans le domaine agronomique	08
2.2. Production des substances biologiquement actives	08
2.2.1. Production d'antibiotique	08
2.2.2. Production des enzymes	09
Chapitre 3 : Matériels et Méthodes	
3.1. Isolement et purification des actinomycètes	11
3.1.1. Prélèvement des échantillons	11
3.1.2. Isolement des actinomycètes	11
3.1.2.1. Milieux de cultures pour l'isolement des actinomycètes	11
3.1.2.2. Milieux de cultures pour la caractérisation des actinomycètes	11
3.1.2.3. Préparation de la suspension de dilution et ensemencement des boîtes	11
3.1.2.4. L'observation microscopique des colonies (coloration de Gram)	11
3.1.2.5. Purification des souches	12
3.1.2.6. Conservations des isolats	12

## sommaire

---

3.2. Caractérisation des souches actinomycètes isolées	12
3.2.1. Etude morphologique	12
3.2.1.1. Macromorphologie et caractères cultureux	12
3.2.1.2. Micromorphologie	12
3.2.2. Etude phénotypique	13
3.2.2.1. Recherche de catalase	13
3.2.2.2. Recherche de la cellulase	13
3.2.2.3. Hydrolyse d'amidon	13
3.2.2.4. Hydrolyse de la caséine	14
3.2.2.5. Hydrolyse de la gélatine	14
3.2.2.6. Hydrolyse de l'xylène	14
3.2.2.7. Tests biochimiques	14
Chapitre 4 : Résultats et discussions	
4.1. Isolement des souches des actinomycètes	16
4.2. Caractérisation des souches actinomycètes isolées	17
4.2.1. Etude morphologique	17
4.2.1.1. Macromorphologique	17
4.2.1.2. Micromorphologique	19
4.2.2. Etude phénotypique	21
4.2.2.1. Résultats de la recherche de catalase	21
4.2.2.2. Résultats d'hydrolyse de la cellulose : recherche de cellulase	25
4.2.2.3. Résultats d'hydrolyse d'amidon : recherche de l'amylase	25
4.2.2.4. Résultats d'hydrolyse de la caséine : recherche de caséinase	26
4.2.2.5. Résultats d'hydrolyse de la gélatine : recherche de gélatinase	27
4.2.2.6. Résultats d'hydrolyse de l'xylène : recherche d'xylanase	28
4.2.2.7. Résultat de test d'utilisation des composés glucidique comme seule source de carbone	30
Conclusion et perspectives	33-34
Références bibliographique	36-41
Annexe	43-46
Résumés	

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 01</b> : Distribution des actinomycètes dans la nature.	06
<b>Tableau 02</b> : différents milieux de cultures pour L'étude de caractérisations culturelles des actinomycètes.	07
<b>Tableau 03</b> : Classification des actinomycètes selon le "Bergey's Manual de Systématique Bactériologie (2012).	08
<b>Tableau 04</b> : Distribution des isolats sélectionnés selon les échantillons de sol.	16
<b>Tableau 05</b> : Caractéristiques culturelle macromorphologiques de différentes souches d'actinomycètes.	17
<b>Tableau 06</b> : Résultats obtenus de test catalase sur 20 souches.	21
<b>Tableau 07</b> : Résultats des activités de dégradation des différents substrats des 20 souches étudiées.	23

## Liste des figures

---

<b>Figure 01 : Origine des antibiotiques</b>	08
<b>Figure 02 : Résultats d'isolements des actinomycètes (E6, E2) du sol sur le milieu Gausse.</b>	16
<b>Figure 03 :</b> Nombre des souches d'actinomycètes isolées à partir de chaque échantillon.	17
<b>Figure 04 :</b> L'aspect macroscopique de différentes souches d'actinomycètes.	18
<b>Figure 05 :</b> graphe présente le pourcentage de chaque aspect.	19
<b>Figure 06 :</b> Aspect microscopique de différentes souches d'actinomycètes après coloration de Gram (Gx100).	20
<b>Figure 07 :</b> Quelques résultats de la production de catalase des souches T1C1, T3C4, T3C2 et B310-1 v.	22
<b>Figure 08 :</b> Nombre des isolats d'actinomycètes présente catalase (-), catalase (+).	22
<b>Figure 09 :</b> Résultats d'hydrolyse de la cellulose par les isolats d'actinomycètes.	25
<b>Figure 10 :</b> Résultats d'hydrolyse l'amidon par les isolats d'actinomycètes.	26
<b>Figure 11 :</b> Résultats d'hydrolyse de la caséine par les différents isolats d'actinomycètes.	27
<b>Figure 12 :</b> Résultats d'hydrolyse de la gélatine par une enzyme produise par actinomycètes.	28
<b>Figure 13 :</b> Résultats d'hydrolyse d'xylène par les isolats d'actinomycètes.	29
<b>Figure 14 :</b> Pourcentage % des souches produisent les enzymes hydrolytiques.	29
<b>Figure 15 :</b> Utilisation des sources de carbone par les souches d'actinomycètes isolées.	30
<b>Figure 16 :</b> Résultats d'utilisation l'xylose par les actinomycètes.	30

# Liste des abréviations

---

## Liste des abréviations

**E** : échantillon

**GN** : gélose nutritive

**ISP** : The International *Streptomyces* Project

**(P/V)** : poids sur volume



# *Introduction*

## Introduction

Les Actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à coloration de Gram positif, avec une teneur élevée en G + C (69 à 78%) dans l'ADN présentant un cycle de développement très différencié que subissent des différenciations morphologique durant leur cycle de vie (**Prescott & Harley , 2003**) .En réponse à des conditions défavorable, telle que le déficit en nutriments et en eau, les Actinomycètes sporulent, c'est que lorsque les conditions redevient favorable les spores peuvent germer et former des nouveaux le mycélium végétatif. Cette propriété joue un rôle important dans leur large distribution dans la nature (**Djaballah, 2010**).

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux écologiques, ainsi, ils peuvent être dans les sols, les eaux douces ou salines et dans l'air. Toutefois, ils se trouvent abondamment dans le sol comme le réservoir principal que les autres milieux, spécialement dans les sols alcalins et les sols riches en matière organique où ils constituent une part importante de la population microbienne.

Cependant que les Actinomycètes jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique, ce qui rend le sol fertile et par conséquent l'amélioration des récoltes. (**Baldacci, 1962**).

Généralement, sont capables de métaboliser plusieurs et différents composés y compris les polysaccharides, les alcools, les acides aminés et les composés aromatiques par la production des enzymes extracellulaire (**Kitouni, 2003**). Leur aptitude de dégrader les pesticides et les herbicides et les hydrocarbures avait également été signalée, cette diversité métabolique est due à leur génome excrément large qui a une centaine de facteur de transcription qui contrôle l'expression des gènes qui leur permettent de répondre à leur besoin (**Boucheffa, 2011**).Actuellement les bactéries de la famille des Actinomycètes retiennent particulièrement notre attention et semblent être un excellent candidat productrices des substances intéressantes essentiellement les antibiotiques. On estime que les deux tiers des quelque six mille antibiotiques isolés jusqu'ici sont produits par les Actinomycètes.

Parmi les espèces appartenant aux différents genres d'Actinomycètes, les *Streptomyces* sont les plus importants producteurs d'antibiotiques et autres métabolites secondaires (**Fernandez & Sanchez, 2002**). On peut estimer que 75 % des antibiotiques isolés des Actinomycètes sont produits par des *Streptomyces*.

# Introduction

---

En Algérie, les sols sahariens et semi-arides se sont révélés très diversifiés en actinomycètes et de nombreux travaux ont été publiés sur ces microorganismes, du point de vue taxonomique dans le but de découvrir de nouvelles espèces (**Zitouni , 2004**), et pour la mise en évidence d'une activité antimicrobienne ou de découverte de nouveaux antibiotiques (**Boudemagh et al , 2005**), ou encore dans une optique de lutte biologique contre certaines maladies des plantes ou d'amélioration de la croissance des plantes (**Aouar et al , 2012**) .

L'objectif principal de notre étude consiste à l'isolement des souches bactériennes appartenant au groupe d'actinomycètes à partir d'échantillons de sols provenus de différents sites des régions arides, et la recherche des activités enzymatiques de ces souches.

L'étude a porté sur les étapes suivantes :

- L'étude phénotypiques des isolats d'Actinomycètes ce qui implique la caractérisation micro-morphologique et macromorphologiques.
- L'étude de l'activité hydrolytique (enzymatique) des souches pure d'actinomycètes.

*Chapitre 1 :*  
*Généralités sur les*  
*actinomycètes*

### 1.1. Définition et caractères généraux des actinomycètes

Étymologiquement, le mot Actinomycète a été dérivé des mots grecs «Aktis» qui veut dire rayon et «mykes» qui veut dire champignon «Champignons à rayons» ou «Champignons rayonnants» (**Lamari, 2006**). Les Actinomycètes ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactérie et champignons. Actuellement, ils sont reconnus comme des organismes procaryotes (**Andriambololona, 2010**).

Les actinomycètes constituent l'ordre des Actinomycetales. Ce sont des bactéries formant des filaments minces et ramifiés, septées, bacilles à Gram positif (**Dgigal, 2003**) ; possédant un coefficient de Chargaff (GC%) élevé compris entre 60-70% (**Larpent, 1989**) ; saprophytes. La plupart des espèces sont immobiles, hétérotrophes mais certaines sont chimio-autotrophes (**Ensign, 1993**) ; aérobies, mésophiles et croissent de façon optimale dans la gamme de pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité (**Williams, 1982**), (**Goodfellow, 1983**).

Les actinomycètes forment des colonies circulaires constituées d'hyphes (filaments) qui irradient par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Eunice, 1983**).

### 1.2. Morphologie des actinomycètes

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier : se compose d'organismes qui forment une masse de filaments ramifiés (mycélium). Le second : comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (**Lechevalier, 1985**), on peut rencontrer, en plus des filaments ramifiés, des bacilles et aussi des coccobacilles comme *Rhodococcus* et *Mycobacterium* (**prescott, 2003**).

Les colonies formées sur les milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
- des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.

• des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons (**Kalakoutskaa, 1976**).

### 1.3. La physiologie de développement

Au niveau du sol, les Actinomycètes représentent l'une des principales communautés microbiennes, leur présence est influencée par plusieurs paramètres physiologiques (conditions environnementaux) en particulier : l'oxygène, le pH, la température...etc. (**Djaballah, 2010**).

Selon le type respiratoire sont divisées en deux groupes, les premiers sont des formes fermentatives anaérobies strictes telle que le genre *Actinomyces* et l'autre sont des formes oxydatives aérobies *Streptomyces* (**Prescott, 2007**).

Selon le pH de croissance, la majorité des Actinomycètes sont des bactéries neutrophiles dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8 avec une croissance optimale (**Wang, 2006**).

Concernant la température, elles sont des bactéries mésophiles sa température optimale de croissance est entre 25 à 30 °C (**Leveau, 1993, Djaballah, 2010**).

Pour l'humidité, les actinomycètes sont isolés des sols contenant des taux faibles jusqu'à modérés d'humidité (**Oskay, 2004**).

### 1.4. Ecologie et distribution dans la nature

Les actinomycètes sont adaptés à divers milieux écologiques (**Goodfellow, 1983**) Ainsi, ils peuvent être présents dans les sols, dans les eaux douces ou salines et dans l'air. Toutefois, ils sont particulièrement abondants dans le sol, particulièrement dans les sols alcalins et les sols riches en matières organiques où ils constituent une part importante de la population microbienne (**Loqman, 2009**).

La fonction écologique principale des actinomycètes au sein des écosystèmes est la décomposition des substances organiques (**Prescott L., 2010**), grâce à leurs capacités de produire une large gamme d'enzyme hydrolytique, comme les protéases, les nucléases, les lipases ...etc. (**Prakash, 2012**).

**Tableau 01** : Distribution des actinomycètes dans la nature (**Goodfellow M. W., 1983**)

Genre	Habitats
<i>Actinomadura</i> <i>Microbispora</i> <i>Streptosporangium</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i> <i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière
<i>Frankia</i>	Nodule de racines
<i>Micromonospora</i> <i>Nocardia</i>	Sol, eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier, litière
<i>Saccharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Thermomonospora</i>	Matière en décomposition et fermentation

### 1.5. Classification des actinomycètes

La taxonomie des actinobactéries est basée sur un ensemble de caractères morphologiques, physiologiques, chimio-taxonomiques et moléculaires. L'ensemble des caractéristiques de chaque taxon bactérien est répertorié dans le Manuel de Bergey 2ème édition (**Goodfellow M., 2012**)

Morphologiques : mycélium fragmenté ou non, présence ou non de mycélium aérien, production des spores,.... etc.

Chimio-taxonomiques : la composition de paroi cellulaire en acides aminées, en sucres et en lipides, ...etc. (**prescott, 2003**).

Moléculaires : détermination du (G+C)%, séquençage des gènes de l'ARNr 16S, hybridation ADN-ADN (**Stackebrandt, 1997**).

Physiologiques : en plus de ces caractères, la détermination des espèces se base également sur les caractères physiologiques. Ceux-ci consistent en des tests de dégradation de différents composés glucidiques, lipidiques et protidiques, polymères complexes, stéroïdes,... etc. D'autres tests interviennent parfois dans la détermination des espèces, comme la résistance aux différents agents chimiques (antibiotiques, divers autres agents), et la tolérance à des conditions extrêmes (température, pH, salinité, etc.).

C'est une méthode de classification développée à la fin des années 1950 qui consiste à utiliser un grand nombre de caractères physiologiques et biochimiques, tous considérés d'égale importance, et permet de définir des pourcentages de similarité entre les organismes

grâce à l'utilisation de coefficients (de Jaccard, ... etc.). Plusieurs groupes ou « cluster » sont ainsi formés suivant les ressemblances des souches définies par un indice de similarité (**Sneath, 1989**).

Au cours des 20 dernières années, que le genre *Streptomyces* était la pierre angulaire de la recherche de nouveaux antibiotiques, a conduit à la recherche de nouveaux isolats pour cela **SHIRLING** and **GOTTLI** ont fait recommandées The International *Streptomyces* Project (ISP) pour les types de *Streptomyces* étudiée composée de 13 tableaux , pour la classification et l'identification de 274 taxons nommés , Les participants à l'International *Streptomyces* Project (ISP) ont examiné 300 souches de l'espèce *Streptomyces* nommée par des méthodes standardisées.

Les caractères choisis et utilisés dans ce travail sont les suivants: la morphologie des spores, la couleur du mycélium aérien, la couleur du revers du végétatif donnée dans ces descriptions peuvent être utilisées à des fins de classification et pour l'identification de nouveaux isolats dans les études ISP, et les méthodes qui ont été utilisées avec succès par les collaborateurs dans le cadre du projet international *Streptomyces* (ISP) visant à modifier les descriptions des souches de type et de néotype du genre *Streptomyces* a représenté.

L'international *Streptomyces* Project (ISP) contenant 9 milieux de cultures (ISP1, ISP2,...ISP9) divisées en 2 phylum : les milieux qui étudie la morphologie d'actinomycètes et les milieux qui étudie la biodégradation (**Gottlieb, 1967**).

**Tableau 02** : différents milieux de cultures pour L'étude de caractérisations culturelles des actinomycètes.

<b>Le milieu</b>	<b>La fonction</b>
ISP1, ISP2, ISP3, ISP4, ISP6	Pour identification
ISP7	Etudie la dégradation des glucides
ISP8	Etudie la morphologie des actinomycètes
ISP9	Etudie la biodégradation

Selon le manuel de Bergey, (2012), les actinomycètes sont classés dans le domaine *Bactéria* et phylum des *Actinobacteria* qui est subdivisé en 06 classes dont celle de *Actinobacteria* se divise en 15 ordres les plus important sons ceux des *Actinomycetales* et *Streptomycetales* (voir tableau 1) (**Goodfellow M., 2012**)



**Tableau 03 :** Classification des actinomycètes selon le “Bergey’s Manual de Systematique Bactériologic (2012).

<b>Domaine</b>	<i>Bactéria</i>					
<b>Phylum</b>	<i>Actinobacteria</i>					
<b>Classe</b>	<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Rubrobacteria</i>	<i>Coriobacteria</i>	<i>Thermoleophilia</i>
<b>Ordre</b>	- <i>Actinomycetales</i> - <i>Streptomycetales</i> plus les 13 Ordres.					
<b>Famille</b>	<i>Actinomycetaceae</i>			<i>Streptomycetaceae</i>		
<b>Genre</b>	<i>Actinomyces</i> plus les 6 autres genres			<i>Streptomyces</i> plus les 2 autres genres.		

*Chapitre 2 :*  
*L'intérêt des*  
*actinomycètes*

## 2.1. Importance dans le domaine agronomique

Les actinomycètes sont des microorganismes qui ont un rôle écologique majeur grâce à leur capacité de produire une large gamme d'enzymes ; telles que, les hydrolases extracellulaires, qui leur confèrent un rôle dans la décomposition de la matière organique et des éléments minéraux dans le sol et contribuent ainsi à la fertilisation des sols. Ils sont caractérisés par leur grand pouvoir de transformation des substances organiques complexes, tels que les polysaccharides, les lignocelluloses, la chitine, qui sont difficilement ou non dégradables par les autres microorganismes. (Valois, 1996 et William, 1983).

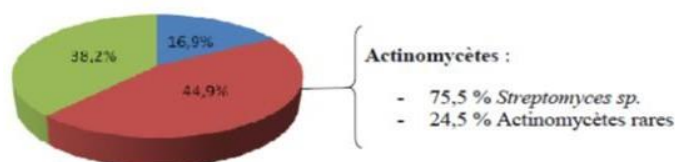
Dans l'agriculture, les actinomycètes protègent les racines des plantes contre les invasions des champignons (Lamari, 2006). Il a été rapporté que les actinomycètes influencent la croissance des plantes grâce à leurs activités antimicrobiennes au niveau du sol et augmentent la vitesse de synthèse et de minéralisation de la matière organique permettant ainsi une bonne nutrition pour les plantes (Yilma, 2008).

Elles sont capables aussi de dégrader ou de recycler certaines toxines produites par des champignons toxigènes et réduire aussi leur teneur dans les produits finaux en agro-alimentaire (Valois, 1996 et William, 1983).

## 2.2. Production des substances biologiquement actives

### 2.2.1. Production d'antibiotique

Les actinomycètes tiennent une très grande importance dans le domaine de la biotechnologie des antibiotiques. En effet, 45% des antibiotiques connus, sont naturellement issus des actinomycètes et plus particulièrement du genre *Streptomyces* (figure 01) (Sibanda, 2010). Parmi les antibiotiques qui ont des applications thérapeutiques on peut citer : les aminoglycosides, les anthracyclines, les glycopeptides, les beta-lactamines,.....etc.



■ Produits issus de Bactéries non actinomycétales,

■ Bactéries actinomycétales, ■ Champignons microscopique

Figure 01 : Origine des antibiotiques (Berdy, 2005).

Outre les antibiotiques, les actinomycètes produisent d'autres molécules qui ont des applications biotechnologiques variées, telles que :

- Anti tumorales : actinomycine, adriamycine, rebeccamycine- (Uyeda, 2004).
- Antivirale, antiparasite ;
- Pesticides : antimycine A- (Sanglier J., 1993).

Comme elles sont utiles dans le traitement du cancer, la bioremediation et la production des antibiotiques précieux dans le domaine médicale tels que la novobiocine, l'amphotéricine, la vancomycine, la néomycine, gentamicine, chloramphénicol, la tétracycline, l'érythromycine, la nystatine,...etc. (Mukesh, 2014), et plus de 60% des médicaments approuvés dérivent des composés naturels ont été extraits à partir d'actinomycètes (Demain, 2006 et Anibou, 2008).

### **2.2.2. Production des enzymes**

Après les antibiotiques, les enzymes sont les produits industriels les plus importants des Actinomycètes (Theilleux, 1993). En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telle que des protéases, des chitinases (Tanaka, 1990 et Vonothini, 2008), des amylases, des cellulases, des xylanases et des lipases (Park, 2002).

Des espèces de *Streptomyces* produisent des amylases, des cellulases et des hémicellulases. D'autres sont capables de dégrader la lignine (Jariwala, 2013).

Les lipases sont aussi produites par certaines souches actinomycétales, ces enzymes catalysent l'hydrolyse des triglycérides en diglycérides, en monoglycérides, en glycérol et en acides gras (Sommer, 1997).

Elles ont un autre rôle important dans l'industrie alimentaire, la fermentation, l'industrie du textile et du papier (Mukesh, 2014).

# *Chapitre 3 :*

## *Matériels et Méthodes*

### 3.1. Isolement et purification des actinomycètes

#### 3.1.1. Prélèvement des échantillons

Trois échantillons du sol ont été prélevés à partir de différents endroits de la région Sidi Okba de la wilaya de Biskra durant le mois de Février 2019.

Les prélèvements des 3 échantillons de sols ont été effectués aseptiquement en surface après avoir enlevé les 15 premiers centimètres de profondeur par la méthode de Pochon et Tradieux (1962), à l'aide d'une spatule stérile les sols prélevés sont placés dans des boîtes stériles en suite conservées aux laboratoires à 4°C avant les analyses. (Annexe 2)

#### 3.1.2. Isolement des actinomycètes

##### 3.1.2.1. Milieux de cultures pour l'isolement des actinomycètes

Les milieux de cultures sélectifs pour l'isolement des actinomycètes utilisés sont : (Annexe 1)

- Milieu Gausse (Morakchi, 2011).

##### 3.1.2.2. Milieux de cultures pour la caractérisation des actinomycètes

- Gélose nutritive (G.N). (Kim, 2013)

-Milieu Lait écrémé

-Milieu ISP (ISP<sub>2</sub>, ISP<sub>9</sub>) (Shirling and Gottlieb, 1966).

##### 3.1.2.3. Préparation de la suspension de dilution et ensemencement des boîtes

L'isolement est effectué par la méthode de suspensions-dilutions. Un gramme de sol est suspendu dans 9 ml d'eau distillée stérile. Après agitation vigoureuse à l'aide d'un vortex, la suspension-mère ainsi obtenue est diluée dans de l'eau distillée stérile jusqu'à l'obtention de la dilution 10<sup>-2</sup>. Par la suite, 0,1 ml de chaque dilution est étalé sur le milieu Gausse précédemment stérilisé et coulés dans des boîtes de Pétri stériles. Les boîtes ensemencées sont incubées à 30°C et observées quotidiennement, pendant 15 à 21 jours (Haque, 2014).

##### 3.1.2.4. L'observation microscopique des colonies (coloration de Gram)

Une observation microscopique après coloration de Gram a été faite pour les colonies qui se rapprochent par leur aspect aux actinomycètes (la taille, la forme, la couleur, présence ou absence d'une masse sporale, ....etc.).

## Coloration

Après fixation des bactéries, le frottis est recouvert par différents colorants de coloration de Gram dans l'Annexe.

### 3.1.2.5. Purification des souches

Les colonies présentant les critères des actinomycètes sont repiquées et purifiées sur le milieu Gausse, cette dernière opération est répétée jusqu'à l'obtention des cultures pures, la pureté des isolats est contrôlée par des examens microscopiques directs, après chaque repiquage.

### 3.1.2.6. Conservations des isolats

Les isolats obtenus sont conservés pour être utilisés dans des tests ultérieurs. La conservation est réalisée selon deux techniques :

- La conservation de courte durée : des isolats d'actinomycètes sont ensemencés sur les géloses inclinées (Gausse, ou ISP2) puis incubés pendant 7 jours à 30 °C. Les tubes sont ensuite conservés à 4°C.
- La conservation de longue durée : les isolats d'actinomycètes sont ensemencés sur le milieu gélose puis conservés dans le milieu liquide (Gausse) avec 20 % le glycérol stérile dans des tubes d'Eppendorf à -18°C (Kitouni, 2005).

## 3.2. Caractérisation des souches actinomycètes isolées

### 3.2.1. Etude morphologique

#### 3.2.1.1. Macromorphologie et caractères cultureux

L'aspect phénotypique des colonies et les caractères cultureux sont déterminés sur le milieu Gausse et ISP2. Les inoculum sont ensemencés par la méthode de stries. Après 15 à 21 jours d'incubation à 30°C, les caractères suivants sont notés : la couleur, taille, élévation, transparence, surface, la production de pigment diffusible (Shirling and Gottlieb, 1966).

#### 3.2.1.2. Micromorphologie

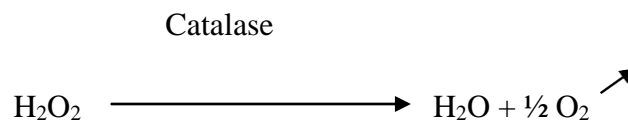
C'est un procédé qui permet de diviser les bactéries en deux groupes distincts : les bactéries à coloration de Gram positive et les bactéries à coloration de Gram négative. Cette

coloration permet en plus de préciser la morphologie des cellules bactériennes (**Singieton, 2005**).

### 3.2.2. Etude phénotypique

#### 3.2.2.1. Recherche de catalase

Cette enzyme permet la dégradation du  $\text{H}_2\text{O}_2$  qui résulte de l'oxydation par l'oxygène.



(L'oxygène libéré se dégage se forme de gaz)

La méthode de recherche de la catalase consiste à étaler une colonie sur une lame en verre propre sur laquelle on ajoute une goutte de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 10 volumes. La présence de l'enzyme se manifeste par un dégagement de bulles de gaz abondant sous forme de mousse : le test catalase est positif, s'il n'y a pas de bulles : le test catalase est négatif (**Zinedine, 2004**).

#### 3.2.2.2. Recherche de la cellulase

Cette activité a été testée sur gélose ISP9 ajouté de 1% de méthyl cellulose. Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri puisensemencé par la méthode de stries les souches à tester et incubé à 30°C. Après 14 jours, ajoutant une solution aqueuse de rouge Congo à 1% (Annexe 2) pendant 15 à 20 min permet de mettre en évidence la dégradation de la cellulose (**Pinky, 2012**).

#### 3.2.2.3. Hydrolyse d'amidon

Les souches sont cultivées sur milieu nutritif gélosé contenant 1% d'amidon soluble (Annexe). Après 14 jours d'incubation à 30°C, la gélose est recouverte par une solution de lugol. L'absence de coloration autour des colonies indique l'hydrolyse de l'amidon tandis que les zones contenant de l'amidon se colorent en brun (**Geraldine, 1981**).



#### 3.2.2.4. Hydrolyse de la caséine

Les souches d'actinomycètes sont ensemencées sur milieu gélosé stérile contenant 1 % de lait écrémé, l'apparition des zones claires autour des colonies après 7 à 20 jours d'incubation à 30°C témoigne l'hydrolyse de la caséine (**Gordon, 1974**).

#### 3.2.2.5. Hydrolyse de la gélatine

Les souches sont cultivées sur milieu gélose nutritif contenant 8 % (P/V) de gélatine pendant 14 jours à 30°C. Les zones où la gélatine n'est pas dégradée s'opacifient lorsqu'une solution de chlorure mercure est ajoutée. Les zones claires correspondent aux zones de l'hydrolyse (**Geraldine, 1981**).

#### 3.2.2.6. Hydrolyse de l'xylène

Ce test réalisée par l'ensemencement des boites de Pétri coulés par gélose ISP<sub>9</sub> ajoutées de 1% xylène liquide après ensemencement, les souches à teste sont incubées à 30 °C pendant 15 jours pour indiquer l'hydrolyse d'xylène.

#### 3.2.2.7. Tests biochimiques

- **Utilisation des composés glucidiques comme seule source de carbone**

Ce test consiste à apprécier la croissance de l'actinomycète en présence de composés glucidiques en utilisant le milieu ISP<sub>9</sub> préconisé par **Pridham et Gottlieb (1948)**.

Les glucides testés comme seule source de carbone sont les suivants : xylose, glycérol, inositol, ajoutant 1% de chaque composé dans le milieu ISP<sub>9</sub>.

Après ensemencement et incubation de 14 jours à 28°C, la croissance est estimée sur les boites contenant les différentes sources de carbone.

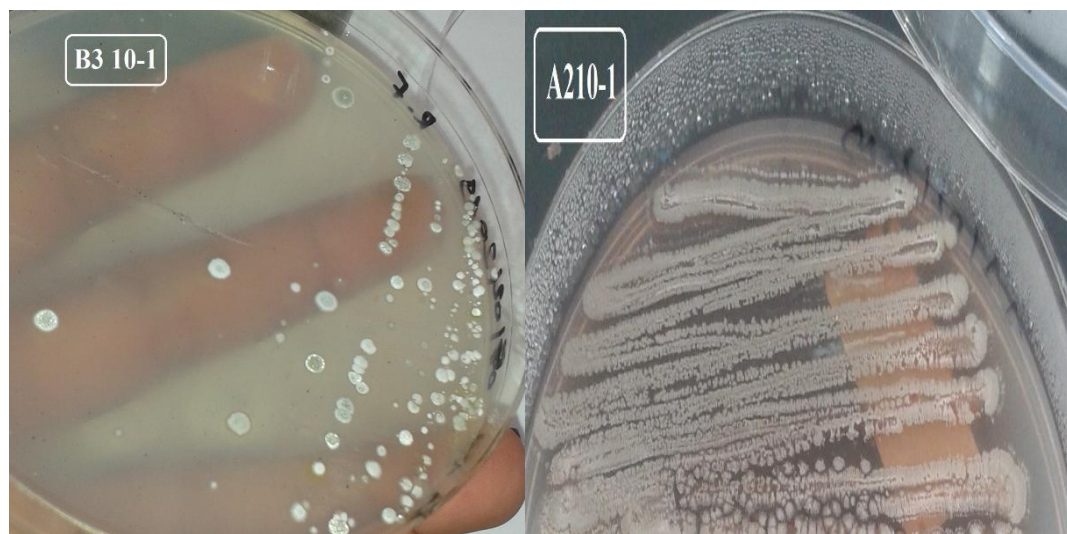
# *Chapitre 4 :*

## *Résultats et discussion*

#### 4.1 Isolement des souches des actinomycètes

Dans le cadre de ce travail, après une incubation de 14 jours à 30 °C, nous avons pu d'isoler 20 souches à partir de 6 échantillons : 3 échantillons (E1, 2, 3) prélevé à partir du sol des palmeraies de Touggourt (E4, 5, 6) prélevé à partir des sols de Sidi Okba.

Les souches d'actinomycètes ont été obtenues à partir de milieu Gause, indiquant par la présence des colonies typiques.



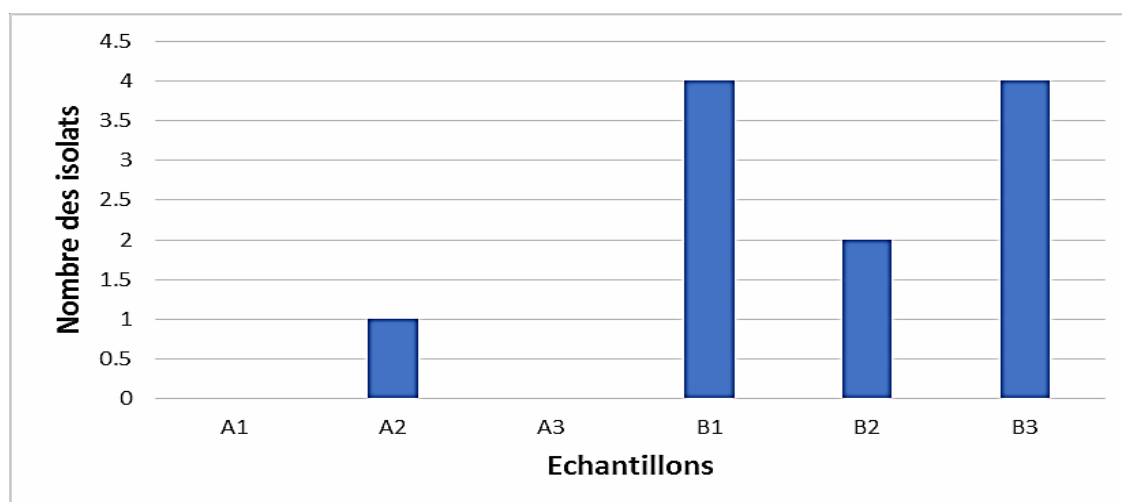
**Figure 02 :** Résultats d'isolements des actinomycètes (E6, E2) du sol sur le milieu Gause.

A partir de 6 échantillons, 40 souches d'actinomycètes sont isolées sur les milieux Gause et ISP<sub>2</sub>. Pour les tests de caractérisation on a sélectionnées 20 souches parmi le totale des isolats.

Le nombre des souches isolées sélectionnées à partir des échantillons sont représentées dans (le tableau 04 et figure 03).

**Tableau 04 :** Distribution des isolats sélectionnés selon les échantillons de sol.

Echantillons	Nombre des isolats	isolats
A1	0	-
A2	1	A <sub>2</sub> 10 <sup>-1</sup>
A3	0	-
B1	4	B <sub>1</sub> 10 <sup>-1</sup> blanc ; B <sub>1</sub> 10 <sup>-2</sup> blanc ; B <sub>1</sub> 10 <sup>-2</sup> vert ; B <sub>1</sub> 10 <sup>-1</sup> vert
B2	2	B <sub>2</sub> 10 <sup>-2</sup> vert ; B <sub>2</sub> 10 <sup>-2</sup> blanc
B3	4	B <sub>3</sub> 10 <sup>-1</sup> vert ; B <sub>3</sub> 10 <sup>-1</sup> jaune ; B <sub>3</sub> 10 <sup>-2</sup> <sub>1</sub> ; B <sub>3</sub> 10 <sup>-1</sup> blanc



**Figure 03 :** Nombre des souches d'actinomycètes isolées à partir de chaque échantillon.

Selon le résultat, nous pouvons remarquer que l'échantillon (B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>) présente le nombre le plus élevées des isolats (4souches), deux souches sont isolées à partir l'échantillon B<sub>2</sub>, et une souche isolée à partir l'échantillon A<sub>2</sub> et l'échantillon (A<sub>3</sub>, A<sub>1</sub>) ne présente aucun isolat.

## 4.2 Caractérisation des souches actinomycètes isolées

### 4.2.1 Etude morphologique

#### 4.2.1.1 Macromorphologique

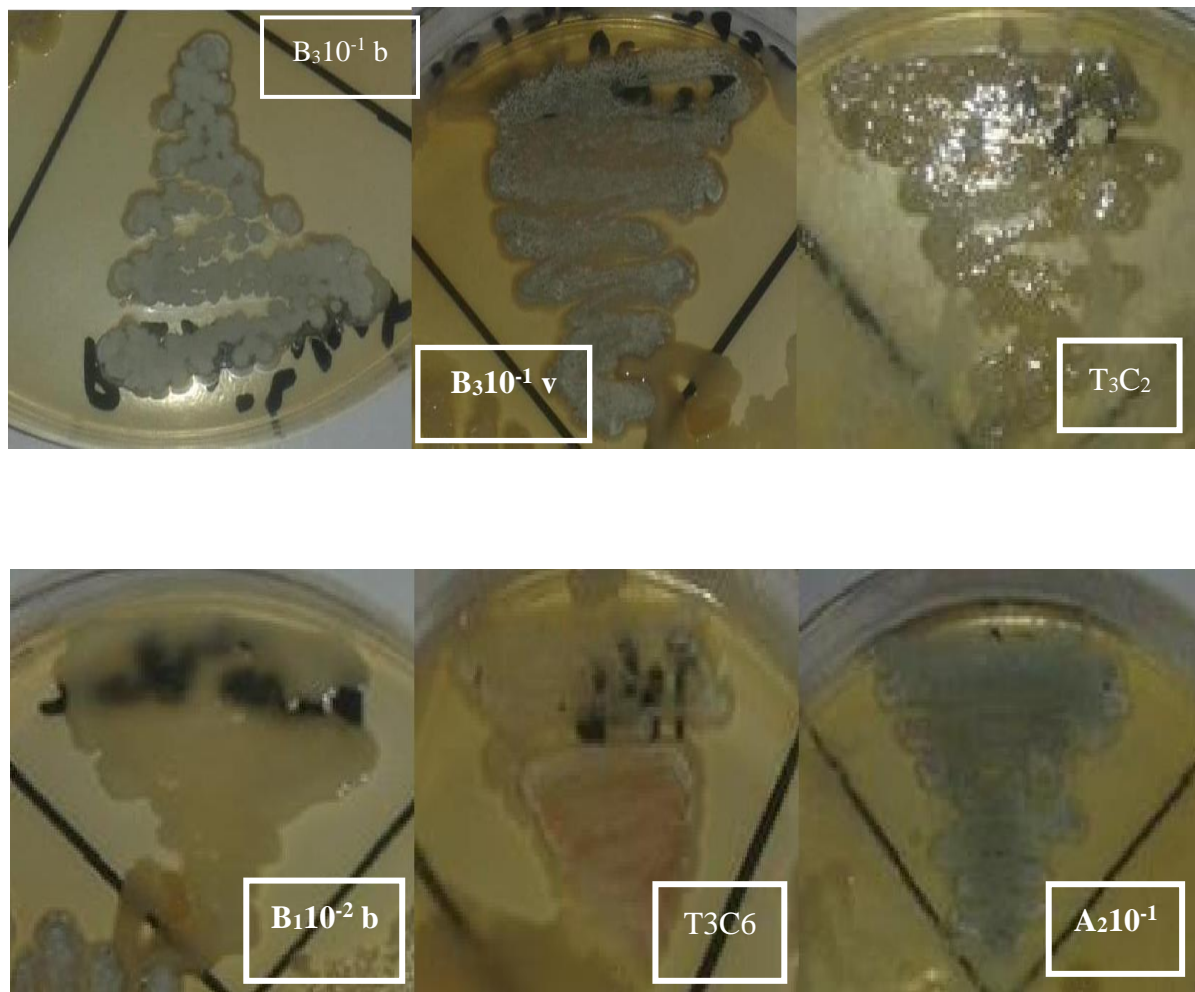
La description de l'ensemble des résultats de l'étude macromorphologique des souches d'actinomycètes après culture sur milieu est ISP<sub>2</sub> dans le tableau 05.

**Tableau 05 :** Caractéristiques culturelle macromorphologiques de différentes souches d'actinomycètes.

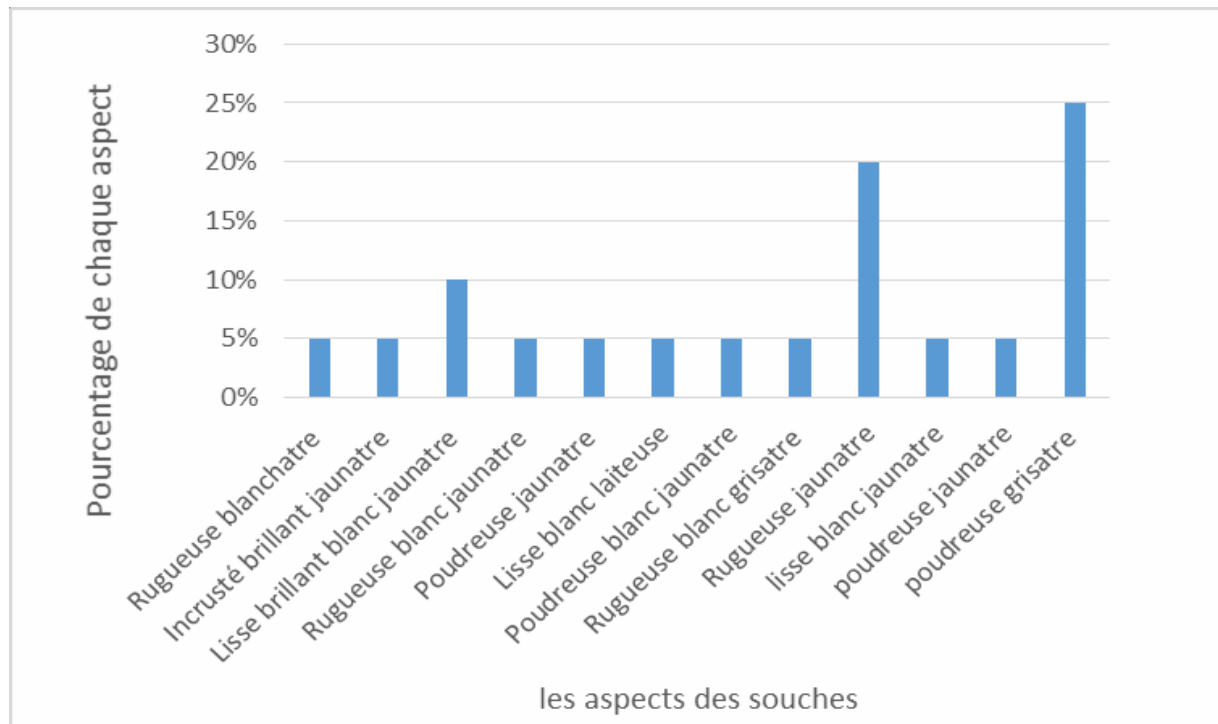
Echantillons	Souches	Caractères macroscopiques des colonies			
		Aspect de surface	taille	Couleur	Pigmentation sur milieu ISP <sub>2</sub>
A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> 10 <sup>-1</sup>	Poudreuse	Moyenne	Grisâtre	<b>Absence de pigmentation</b>
B <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> 10 <sup>-2v</sup>	Poudreuse	Moyenne	Blanc grisâtre	
	B <sub>1</sub> 10 <sup>-1 b</sup>	Lisse	Petite	Blanc Jaunâtre	
	B <sub>1</sub> 10 <sup>-2b</sup>	Rugueuse	Petite	Jaunâtre	
	B <sub>1</sub> 10 <sup>-1v</sup>	Rugueuse	Moyenne	Blanc grisâtre	
	B <sub>1</sub> 10 <sup>-2v</sup>	Poudreuse	Grand	Grisâtre	
B <sub>2</sub>	B <sub>2</sub> 10 <sup>-2v</sup>	Poudreuse	Moyenne	Grisâtre	<b>Absence de pigmentation</b>
	B <sub>2</sub> 10 <sup>-2b</sup>	-	-	-	
B <sub>3</sub>	B <sub>3</sub> 10 <sup>-1v</sup>	Poudreuse	Moyenne	Grisâtre	<b>Absence de pigmentation</b>
	B <sub>3</sub> 10 <sup>-1j</sup>	Poudreuse	Petite	Blanc jaunâtre	
	B <sub>3</sub> 10 <sup>-2<sub>1</sub></sup>	Poudreuse	petite	Grisâtre	
	B <sub>3</sub> 10 <sup>-1b</sup>	lisse	Petite	Blanc laiteuse	

<b>T</b>	<b>T<sub>4</sub>C<sub>2</sub></b>	Rugueuse	Moyenne	Jaunâtre	<b>Absence de pigmentation</b>
	<b>T<sub>3</sub>C<sub>6</sub></b>	Poudreuse	Moyenne	Jaunâtre	
	<b>T<sub>4</sub>C<sub>1</sub></b>	Rugueuse	Grand	Blanc jaunâtre	
	<b>T<sub>3</sub>C<sub>1</sub></b>	Lisse, brillant	Moyenne	Blanc jaunâtre	
	<b>T<sub>3</sub>C<sub>2</sub></b>	Incrusté brillant	Moyenne	Jaunâtre	
	<b>T<sub>3</sub>C<sub>4</sub></b>	Brillant	Moyenne	Blanc jaunâtre	
	<b>T<sub>1</sub>C<sub>1</sub></b>	Rugueuse	Moyenne	Blanchâtre	
	<b>T<sub>1</sub>C<sub>2</sub></b>	Rugueuse	Moyenne	Jaunâtre	
	<b>T<sub>4</sub>C<sub>3</sub></b>	Rugueuse	Moyenne	Jaunâtre	<b>Absence de pigmentation</b>

Selon les résultats obtenus dans le tableau (05), la plus part des souches présentent une croissance abondante (sauf la souche B<sub>2</sub>10<sup>-2</sup> b) et présentent des formes des couleurs et des aspects différents. Elles sont généralement moyennes, d'un aspect poudreux, rugueux, brillant lisse, qui adhèrent à la surface de la gélose, de différentes couleurs : Grisâtre, jaunâtre, blanc laiteux et blanc jaunâtre.



**Figure 04** :L'aspect macroscopique de différentes souches d'actinomycètes.

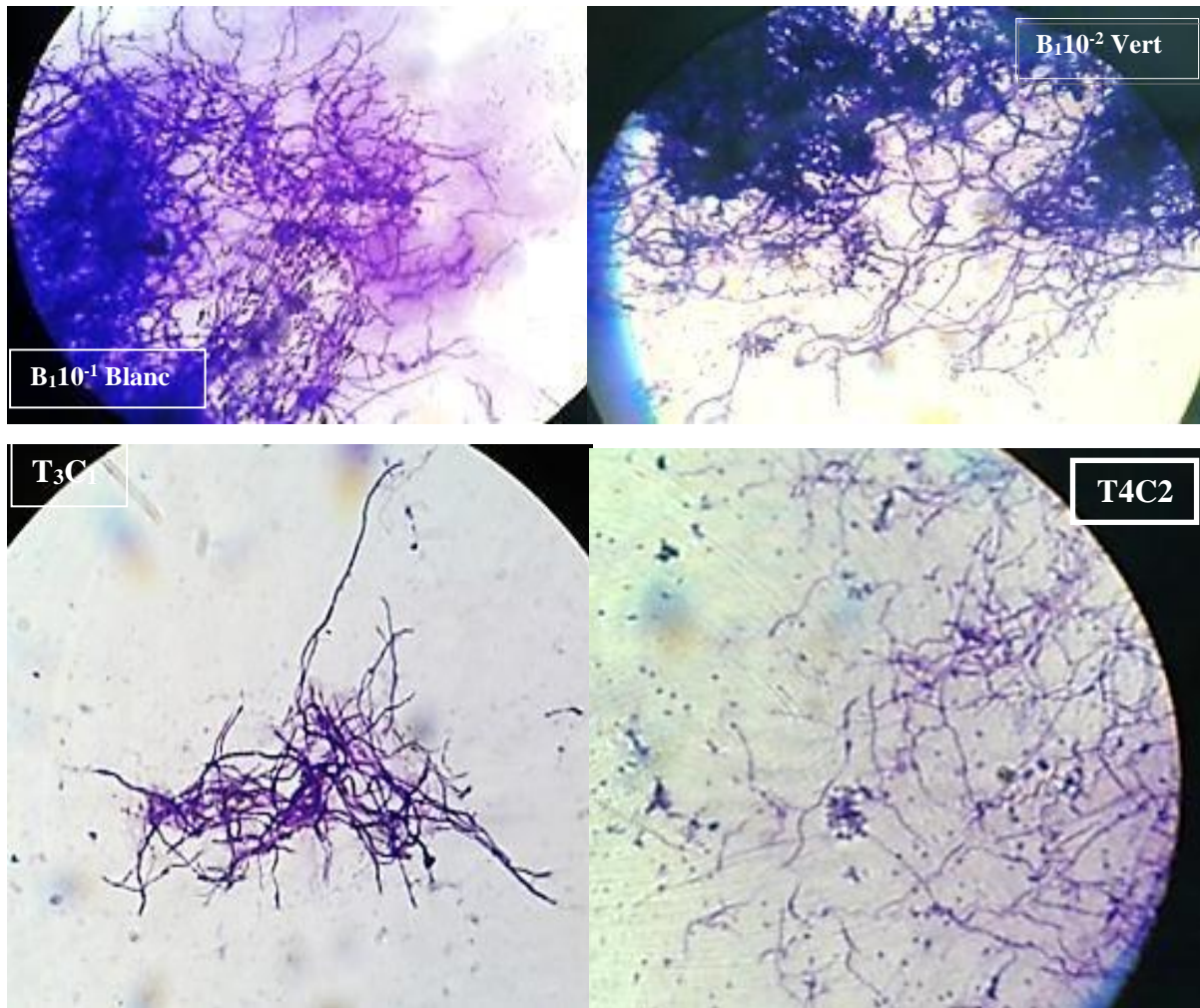


**Figure05** : graphe présente le pourcentage de chaque aspect.

Selon le résultat de la figure (05) l'aspect poudreuse grisâtre présenté la valeur élevé (25%), l'aspect rugueuse jaunâtre (20%), l'aspect lisse brillant blanc jaunâtre (10%), tandis que les autres aspects présente la moindre valeur (5%), cet aspect est caractéristique du mycélium aérien de actinomycètes.

#### 4.2.1.2 Macromorphologique

Les résultats des observations microscopiques des isolats après coloration de Gram confirment l'appartenance de ces isolats aux groupes des bactéries Gram positif, ce test a permet d'apprécier un certain nombre de caractères tels que l'aspect des filaments qui contribuent à l'identification des Actinomycètes.



**Figure 06 :** Aspect microscopique de différentes souches d'actinomycètes après coloration de Gram (Gx100).

Les résultats obtenus par **Kitouni et al, (2005)** montrent que l'observation microscopique des bactéries actinomycètes et particulièrement les *Streptomyces* présentent un aspect filamenteux avec présence des spores isolés ou en amas qui sont parfois à court ou à longues chaînes ou enchevêtrés. Les Actinomycètes appartiennent au phylum d'*Actinobacteria* qui regroupe des bactéries Gram positives ce qui confirme l'appartenance de nos isolats au groupe des Actinomycètes, ces résultats sont conformes avec ceux obtenus par (**Loucif, 2011**).

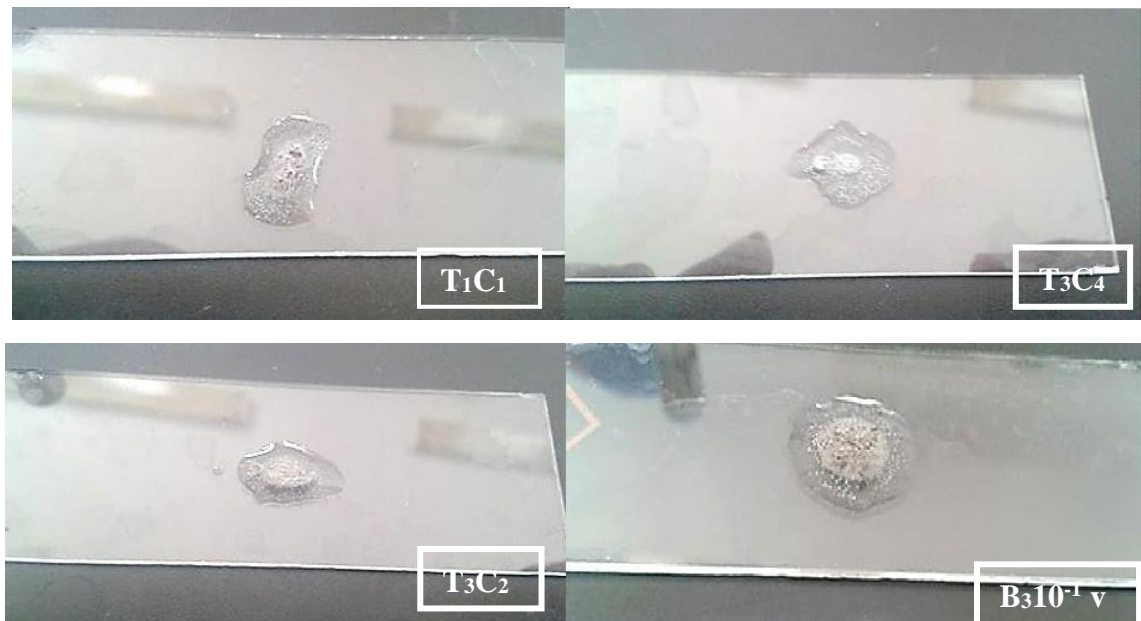
## 4.2.2. Etude phénotypique

## 4.2.2.1 Résultats de la recherche de catalase

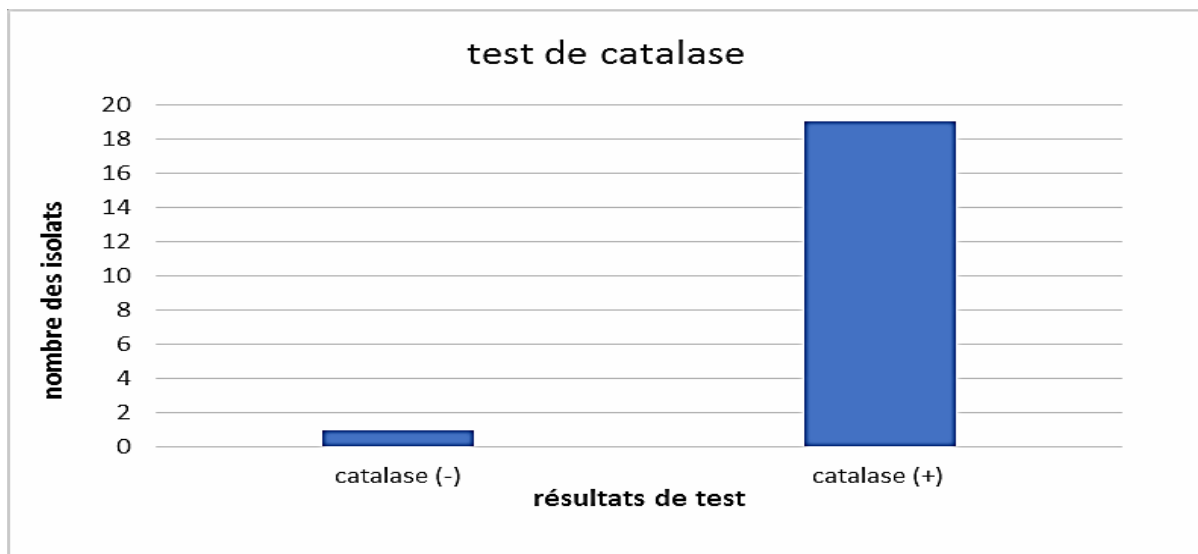
Tableau 06 : Résultats obtenus de test catalase sur 20 souches.

La souche	La catalase (+) ou (-)
T <sub>4</sub> C <sub>1</sub>	-
T <sub>4</sub> C <sub>2</sub>	+
B <sub>3</sub> 10 <sup>-1</sup> j	+
A <sub>2</sub> 10 <sup>-1</sup>	+
B <sub>1</sub> 10 <sup>-2</sup> v	+
T <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	+
T <sub>3</sub> C <sub>6</sub>	+
T <sub>3</sub> C <sub>4</sub>	+
T <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	+
B <sub>1</sub> 10 <sup>-1</sup> v	+
B <sub>1</sub> 10 <sup>-2</sup> b	+
B <sub>2</sub> 10 <sup>-2</sup> v	+
B <sub>2</sub> 10 <sup>-2</sup> b	+
T <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	+
T <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	+
T <sub>4</sub> C <sub>3</sub>	+
B <sub>3</sub> 10 <sup>-1</sup> b	+
B <sub>1</sub> 10 <sup>-1</sup> b	+
B <sub>3</sub> 10 <sup>-1</sup> v	+
B <sub>3</sub> 10 <sup>-2</sup> <sub>1</sub>	+





**Figure 07 :** Quelques résultats de la production de catalase des souches T<sub>1</sub>C<sub>1</sub>, T<sub>3</sub>C<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>C<sub>2</sub> et B<sub>3</sub>10<sup>-1</sup> v.



**Figure 08 :** Nombre des isolats d'actinomycètes présente catalase (-), catalase (+).

Tous les isolats d'actinomycète (sauf la T<sub>4</sub>C<sub>1</sub>) ont présentées un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse qui indique la dégradation de l'eau oxygénée donc, catalase positive, sauf la souche T<sub>4</sub>C<sub>1</sub> ne présente aucun réaction donc , catalase négative .

Les résultats obtenus par **Qiong Ying et al (2012)** montrent que les souches d'actinomycète sont aérobies à catalase positive.

Les résultats des activités enzymatiques des 20 souches étudiées sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 07** : Résultats des activités de dégradation des différents substrats des 20 souches étudiées.

	<b>Cellulose</b>	<b>Amidon</b>	<b>Caséine</b>	<b>Gélatine</b>
<b>B<sub>3</sub>10<sup>-1</sup> v</b>	-	-	+	+
<b>B<sub>3</sub>10<sup>-1</sup> j</b>	-	+	-	-
<b>B<sub>1</sub>10<sup>-1</sup> b</b>	-	-	-	-
<b>B<sub>1</sub>10<sup>-2</sup> b</b>	-	-	-	-
<b>B<sub>3</sub>10<sup>-2</sup><sub>1</sub></b>	-	-	+	-
<b>B<sub>3</sub>10<sup>-1</sup> b</b>	-	-	+	-
<b>B<sub>1</sub>10<sup>-2</sup> v</b>	+	-	-	-
<b>B<sub>2</sub>10<sup>-2</sup> v</b>	-	-	+	-
<b>B<sub>1</sub>10<sup>-1</sup> v</b>	-	+	-	-
<b>B<sub>2</sub>10<sup>-2</sup> b</b>	-	+	-	-
<b>T<sub>1</sub>C<sub>2</sub></b>	-	+	-	-
<b>T<sub>1</sub>C<sub>1</sub></b>	-	-	-	-
<b>T<sub>4</sub>C<sub>1</sub></b>	-	-	-	-
<b>T<sub>3</sub>C<sub>6</sub></b>	+	+	+	+
<b>T<sub>4</sub>C<sub>2</sub></b>	-	+	+	-
<b>T<sub>3</sub>C<sub>1</sub></b>	-	+	+	+
<b>T<sub>3</sub>C<sub>4</sub></b>	+	+	-	-
<b>T<sub>3</sub>C<sub>2</sub></b>	-	+	-	-
<b>T<sub>4</sub>C<sub>3</sub></b>	+	+	-	-
<b>A<sub>2</sub>10<sup>-1</sup></b>	-	+	+	-

	Xylène	Inositol	Xylose	Glycérol
<b>B<sup>3</sup>10<sup>-1</sup> v</b>	-	+	+	-
<b>B<sub>3</sub>10<sup>-1</sup> j</b>	-	+	+	-
<b>B<sub>1</sub>10<sup>-1</sup> b</b>	-	+	+	-
<b>B<sub>1</sub>10<sup>-2</sup> b</b>	-	+	+	-
<b>B<sub>3</sub>10<sup>-2</sup><sub>1</sub></b>	-	+	+	-
<b>B<sub>3</sub>10<sup>-1</sup> b</b>	-	+	-	-
<b>B<sub>1</sub>10<sup>-2</sup> v</b>	-	+	+	-
<b>B<sub>2</sub>10<sup>-2</sup> v</b>	-	-	+	-
<b>B<sub>1</sub>10<sup>-1</sup> v</b>	-	-	-	-
<b>B<sub>2</sub>10<sup>-2</sup> b</b>	-	-	-	-
<b>T<sub>1</sub>C<sub>2</sub></b>	-	-	+	-
<b>T<sub>1</sub>C<sub>1</sub></b>	-	-	-	-
<b>T<sub>4</sub>C<sub>1</sub></b>	-	-	-	-
<b>T<sub>3</sub>C<sub>6</sub></b>	-	-	-	-
<b>T<sub>4</sub>C<sub>2</sub></b>	-	+	+	-
<b>T<sub>3</sub>C<sub>1</sub></b>	-	-	+	-
<b>T<sub>3</sub>C<sub>4</sub></b>	-	+	+	-
<b>T<sub>3</sub>C<sub>2</sub></b>	-	+	+	-
<b>T<sub>4</sub>C<sub>3</sub></b>	-	+	+	-
<b>A<sub>2</sub>10<sup>-1</sup></b>	-	+	+	-

Les résultats obtenus dans le tableau 07, montrent que la majorité de nos souches sont capables de dégrader la plus part des substrats testés ce qui indique leur aptitude à produire des enzymes hydrolytiques.

#### 4.2.2.2 Résultats d'hydrolyse de la cellulose : recherche de cellulase

Les résultats de l'utilisation de la cellulose par les 20 souches d'actinomycètes testées figurent dans le tableau N°7, 4 souches présentent une activité cellulolytique sur le milieu ISP9 contenant de la cellulose comme seule source de carbone et d'énergie, ce résultat indiquant que les souches testées possèdent l'enzyme responsable de l'hydrolyse de la cellulose (cellulase) représenté dans la figure 09. Ces enzymes sont généralement produites par les actinomycètes. (Sanglier, 1993)



Résultat présente l'hydrolyse de cellulose par l'enzyme de cellulase produite par souche d'actinomycète ( $T_4C_3$ ) apparaitre par une auréole claire au tour de la colonie.



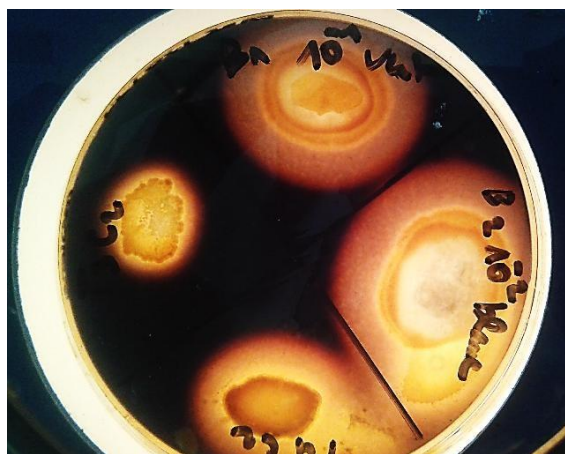
Résultat présente l'absence de l'auréole au tour la colonie donc l'absence la production d'enzyme hydrolytique par la souche d'actinomycète ( $B_310^{-1} j$ ).

**Figure 09 :** Résultats d'hydrolyse de la cellulose par les isolats d'actinomycètes.

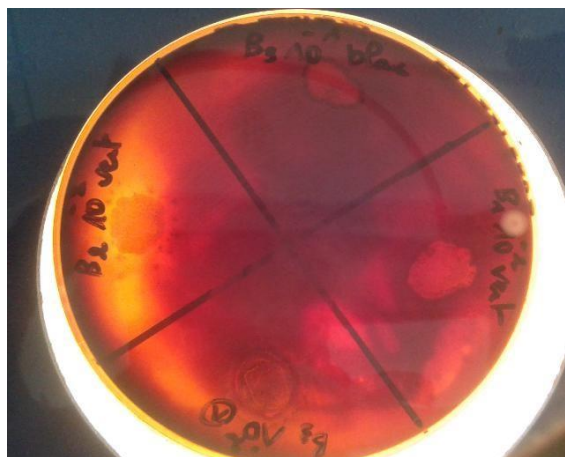
#### 4.2.2.3 Résultats d'hydrolyse d'amidon : recherche de l'amylase

A partir du tableau N°7 et la figure (10), On remarque que 11 souches sur 20 présentent une activité amylolytique sur le milieu GN à base d'amidon. Après addition du Lugol, l'apparition d'un halo clair autour de la colonie traduit la dégradation de l'amidon (Photographie N°10), comme les souches  $B_110^{-1} v$ ,  $B_210^{-2} b$ ,  $T_4C_2$ ,  $T_3C_2$ , cela montre que les souches testées possèdent une amylase, alors que l'apparition d'une couleur brune des souches  $B_310^{-1} b$ ,  $B_210^{-2} v$ ,  $B_310^{-2} i$ ,  $B_110^{-2} v$  signifie que l'amidon n'a pas été hydrolysé.

Plusieurs travaux réalisés dans ce cadre rapporte que la majorité *des actinobactéries* synthétisent l'enzyme amylase (Kuo & Hartman, 1966) ; (ChaoHsun & Wen-Hsiung, 2007).



Résultat présente l'hydrolyse d'amidon par les souches d'actinomycète  $B_1 10^{-1} v$ ,  $B_2 10^{-2} b$ ,  $T_4 C_2$ ,  $T_3 C_2$ , apparaitre par une auréole claire au tour des colonies.



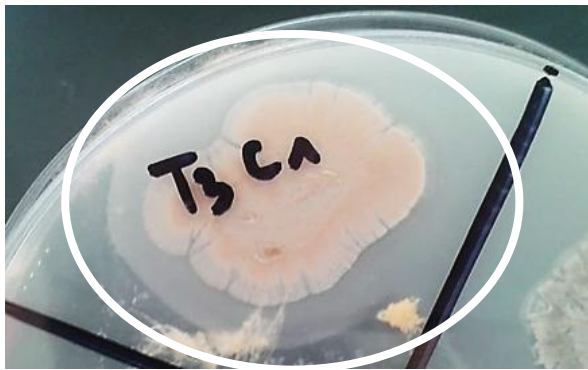
Résultat présente l'absence d'hydrolyse d'amidon (absence d'auréole) par les souches  $B_3 10^{-1} b$ ,  $B_2 10^{-2} v$ ,  $B_3 10^{-2}_1$ ,  $B_1 10^{-2} v$ .

**Figure 10** : Résultats d'hydrolyse l'amidon par les isolats d'actinomycètes.

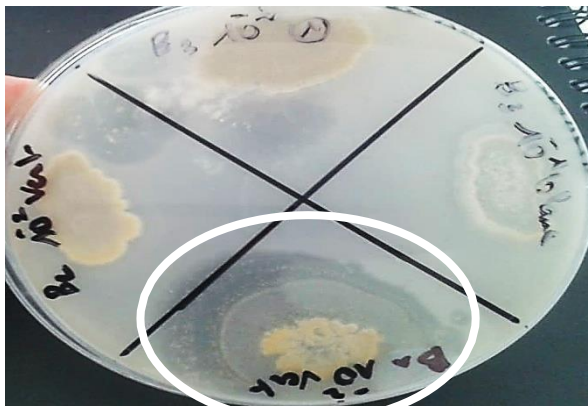
#### 4.2.2.4 Résultats d'hydrolyse de la caséine : recherche de protéase (caséinase)

Les résultats de ce test apparaissent après une culture de 14 jours sur un milieu à base de caséine. L'hydrolyse de caséine est témoignée par l'apparition d'une auréole autour des colonies (La figure (11)) ce que signifie la dégradation de la caséine et la production de caséinase par 8 souches des actinomycètes  $B_3 10^{-1} v$ ,  $B_3 10^{-2}$ ,  $B_8 10^{-1} b$ ,  $B_2 10^{-2} v$ ,  $T_3 C_6$ ,  $T_4 C_2$ ,  $T_3 C_1$ ,  $A_2 10^{-1}$ , qui représente 40 % de ces isolats figure (14).

Ces résultats concordent avec ceux présentés par **Gulve et Deshmukh (2011)**, pour l'étude des activités enzymatiques des Actinomycètes, où, ils ont montré que les genres *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Saccharopolypora* possèdent une activité protéolytique pour la dégradation de caséine.



Résultat présente l'hydrolyse de la caséine par l'enzyme de caséinase produit par la souche T<sub>3</sub>C<sub>1</sub> d'actinomycètes indiqué par l'apparition d'une auréole au tour de la colonie.



Résultat représente l'absence de dégradation de la caséine indiqué par l'absence de l'auréole pour la souche B<sub>1</sub>10<sup>-2</sup> v.

**Figure 11** : Résultats d'hydrolyse de la caséine par les différents isolats d'actinomycètes.

#### 4.2.2.5 Résultats d'hydrolyse de la gélatine : recherche de gélatinase

Selon les résultats obtenus, l'hydrolyse de la gélatine précisée par l'apparition d'une auréole claire autour des colonies indiquant la production d'enzyme gélatinase. Trois souches B<sub>3</sub>10-<sub>1</sub> vert, T<sub>3</sub>C<sub>6</sub>, T<sub>3</sub>C<sub>1</sub> d'actinomycètes montrent une forte dégradation de gélatine comme représenté dans la figure 12.

Les résultats obtenus par **Shiroza et al. (1982)**, confirment que la plus part de actinomycètes sont capable de dégrader différents substrats protéiques tel que la gélatine grâce à leur bagage enzymatique.



Résultat présente l'hydrolyse de la gélatine par la souche d'actinomycètes T<sub>3</sub>C<sub>1</sub>, indiquant par l'apparition d'une auréole claire autour de la colonie.

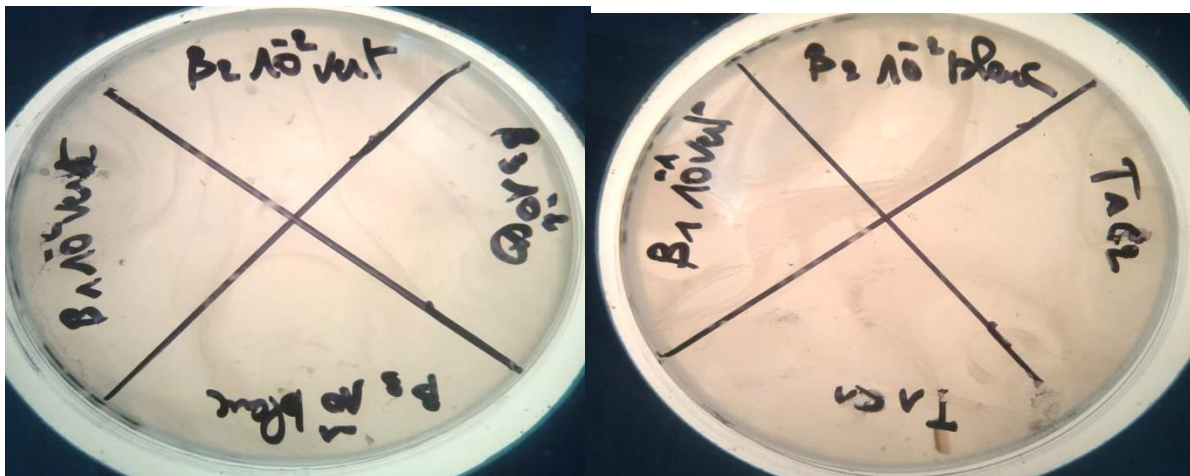


Résultat obtenus ne présente aucune hydrolyse de la gélatine par les souches  $B_310^{-2v}$ ,  $B_110^{-1v}$ ,  $B_210^{-2b}$ ,  $B_110^{-2b}$  d'actinomycètes indiquant que ces souches ne produisent pas aucun enzyme (gélatinase).

**Figure 12 :** Résultats d'hydrolyse de la gélatine par une enzyme produise par actinomycètes.

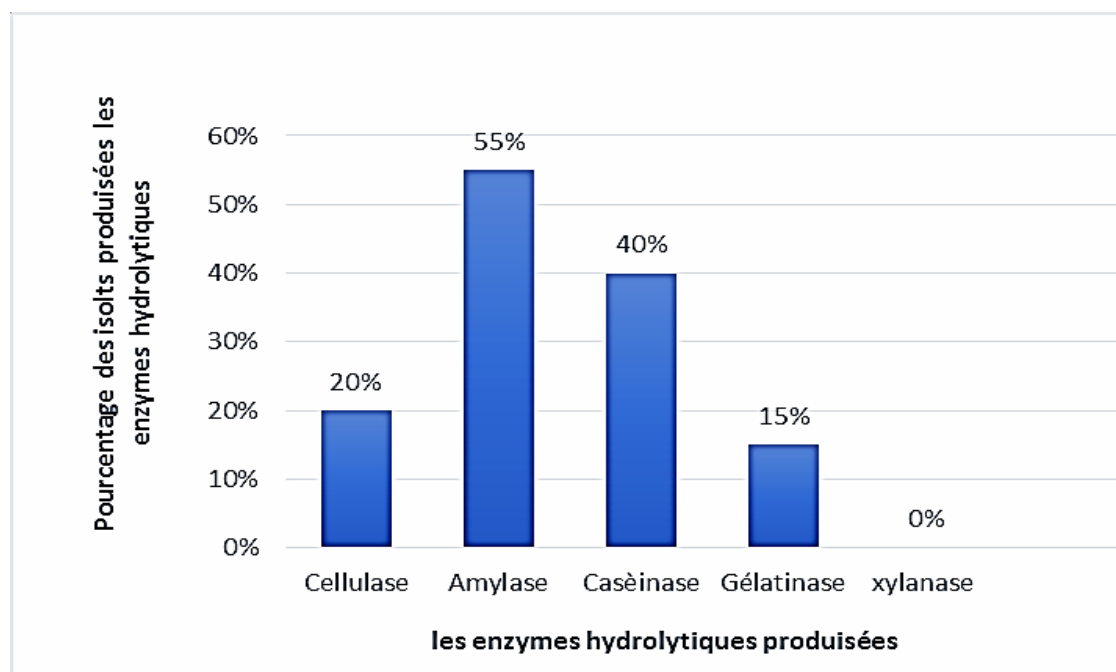
#### 4.2.2.6 Résultats d'hydrolyse de l'xylène : recherche d'xylanase

L'activité xylanase de nos souches (représenté dans la figure 13) a été évaluée par l'ajoute 1% d'xylène liquide dans milieu ISP<sub>9</sub>. La visualisation des halos clairs autour des colonies correspond aux zones d'hydrolyse du xylène, et dans le cas d'absence des halos autour des colonies, indique que le xylène n'est pas dégradé par les souches. Les travaux de (Ninawe, 2005) ont mise en évidence la capacité des souches d'actinomycètes la production d'enzyme xylanase, alors que nos résultats ne présentent aucune hydrolyse d'xylène par les actinomycètes ce qui montre nos isolats ne produisent pas l'enzyme responsable de la dégradation de xylène. Ce résultat négatif peut être aussi à cause de l'utilisation du xylène liquide (disponible dans notre laboratoire) contrairement aux autres travaux qui ont utilisé le xylène en poudre.



**Figure 13 :** Résultats d'hydrolyse d'xylène par les isolats d'actinomycètes.

Selon la figure (14), 20% de souches synthétisent l'enzyme cellulase, 55% des souches produisent l'enzyme amylase, 40% des souches sont capable de synthétiser des enzymes protéase, 15% des souches produisent l'enzyme gélatinase, et aucune souche ne présente la production d'enzymes qui dégradent le xylène.



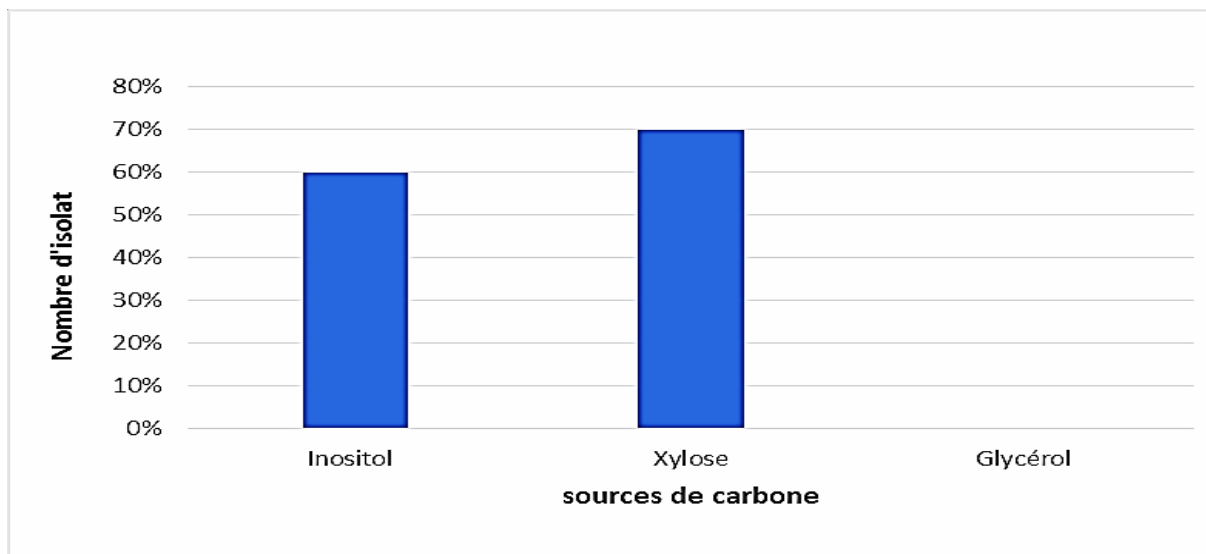
**Figure14 :** Pourcentage % des souches produisant les enzymes hydrolytiques.

Ces résultats sont similaires avec ceux rapportés par **Boudjalleb (2009)**, qui montrés que les différentes souches d'Actinomycètes sont capables d'utiliser des différentes sources carbonées et produisent certaines enzymes nécessaires pour leur métabolisme. Ces enzymes ont été utilisées dans plusieurs domaines en biotechnologie comme dans les industries alimentaires, l'industrie du textile, la bioconversion des déchets celluloseux (**Ando et al. 2002 ; Sukumaran et al. 2005**).

#### 4.2.2.7 Résultat de test d'utilisation des composés glucidique comme seule source de carbone

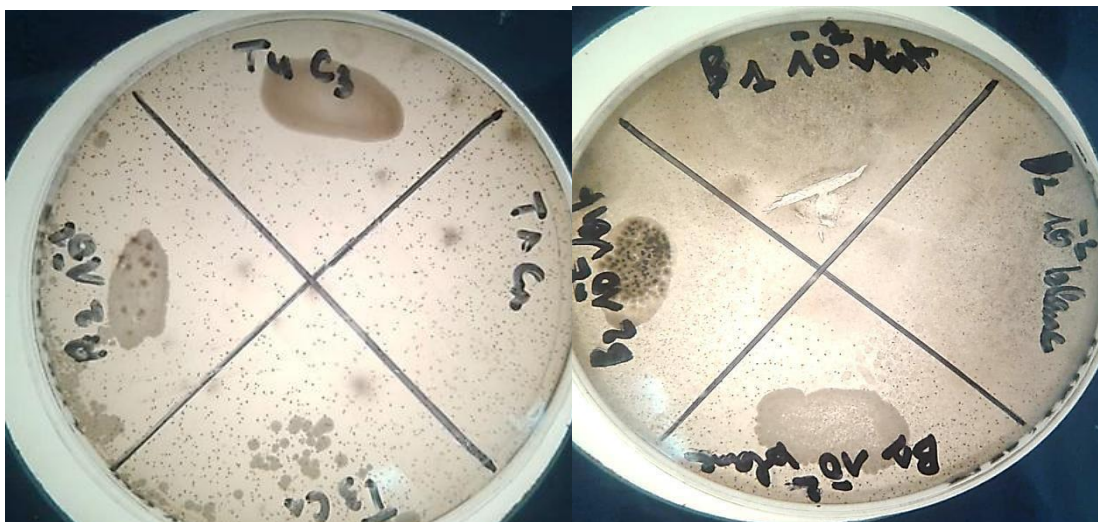
Les résultats obtenus montrent une croissance de 12 isolats (soit 60%) sur milieu ISP<sub>9</sub> additionnée par l'inositol, la figure (15) représente que 60% des isolats sont capables d'utiliser l'inositol comme seule source de carbone sauf B210<sup>-2</sup> v, B<sub>1</sub>10<sup>-1</sup> v, B<sub>2</sub>10<sup>-2</sup> b, T<sub>1</sub>C<sub>2</sub>, T<sub>1</sub>C<sub>1</sub>, T<sub>4</sub>C<sub>1</sub>, T<sub>3</sub>C<sub>6</sub>, T<sub>3</sub>C<sub>1</sub>. Ces résultats montrent que le 60% des isolats ont la capacité d'utiliser l'inositol comme source de carbone pour la synthèse des métabolites essentiels à leur croissance, les travaux de (**BOUDJELAL-BENCHEIKH, 2012**), confirment ce résultat.





**Figure 15 :** Utilisation des sources de carbone par les souches d'actinomycètes isolées.

D'après la figure (15), on remarque que 14 isolats (soit 70 %) croissent en milieu ISP<sub>9</sub> contenant xylose comme seule source de carbone, alors que les 30 % restants des isolats ne sont pas. Les 14 isolats d'actinomycètes utilisent xylose comme seule source de carbone, et les 6 autres souches n'utilisent pas xylose. Ces résultats concordent aux résultats de (Kim & Goodfellow, 1999) et (SAKER, 2015).



**Figure 16 :** Résultats d'utilisation l'xylose par les actinomycètes.

Les résultats obtenus montrent une absence totale de croissance en milieu (ISP<sub>9</sub>) qui contient le glycérol, ce qui indique que tous les isolats d'actinomycètes n'ont pas dégradé le glycérol, donc ils n'ont pas utilisé ce sucre source de carbone pour la synthèse des

métabolites essentiels. Ce résultat est contrairement aux résultats de **(Hbibeche, 2013)**, et qui peut être dû au remplacement du glycérol en poudre (non disponible) par le glycérol liquide qui est disponible.

*Conclusion*

### Conclusion

Les objectifs essentiels de ce travail étaient la caractérisation phénotypique des souches d'actinomycètes du sol des régions arides (Biskra et Touggourt) et la mise en évidence de leur biodiversité métabolique secondaire biologiquement active (production des enzymes).

Dans ce travail nous sommes intéressés aux aspects phénotypiques (macromorphologiques et micro-morphologiques), et essentiellement la biodiversité métaboliques, pour cela nous avons pratiqué un isolement à partir des échantillons provenant de nos écosystèmes explorés (sol de Sidi Okba et sol de Touggourt), ainsi 20 souches actinomycétales ont été isolées à partir de ces deux sites, la quasi-totalité de ces isolats présentent des aspects macroscopiques caractéristiques des actinomycètes. L'observation microscopiques montre que tous les isolats sont des bactéries Gram positif, présentent un aspect filamenteux caractéristique des Actinomycètes.

L'isolement des actinomycètes est fait sur le milieu Gause. Ainsi on a pu constater une diversité culturelle sur le milieu ISP2 qui est apprécié par la couleur de mycélium arien et la présence ou pas des pigments solubles.

Les résultats de l'analyse des propriétés phénotypiques, montrent que les souches d'actinomycètes sont aérobies. Sur l'ensemble des 20 souches testées 19 souches présentent une activité catalase positive.

Selon les résultats des tests biochimiques, les actinomycètes misent en évidence une capacité d'utilisera majorité des composés organiques testés (sauf le xylène et le glycérol) comme seule source de carbone.

Les résultats des études métaboliques ont révélé le pouvoir de biodégradation de différentes molécules par les isolats étudié qui possèdent une activité remarquable de dégradation des substrats (cellulose, amidon, caséine, gélatine...) grâce à la production des enzymes hydrolytiques tel que cellulase, amylase, caséinase, gélatinase.

## Conclusion

---

### Les perspectives :

- Recherche et étude de l'activité antibactérienne.
- Recherche et mise en évidence de l'activité antifongiques vis-à-vis des champignons et des levures pathogènes.
- Réétudier cet écosystème en utilisant pour l'isolement d'autres milieux de cultures et différentes concentration de NaCl, afin d'isoler le maximum d'actinomycètes de cet écosystème.

*Références*

*Bibliographiques*

## Références Bibliographiques

---

### -A-

- Andriambololona, T. (2010). Etude biologique et chimique des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d'Ankafobe.
- Anibou, M. B. (2008). Actinomycetes from Moroccan habitats : isolation and screening for cytotoxic activities. World. J. Microbiol. Biotechnol, 2019-2025.
- Aouar, L. L. (2012). Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens. Can J Plant Pathol(34), 165–176.

### -B-

- Baldacci, E. (1962). Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. (éd. 4ème). Ann Soc Belge Méd Trop.
- Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. J Antibiot, 1-26.
- Boucheffa, K. (2011). Criblage de souches d'actinomycètes productrices d'antifongiques non-polyéniques : Identification des souches productrices et Essai de caractérisation des antifongiques produits. Mémoire de Magister. En microbiologie appliquée aux substances antimicrobiennes. Université Abderrahmane Mira Bejaia.
- Boudemagh, A. M. (2005). Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra, El-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. J Myc Med.,(15), 39–44.
- BOUDJELAL-BENCHEIKH, f. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinomycètes halophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par Actinoalloteichus sp. AH97 thèse de doctorant. Algérie.

### -C-

- ChaoHsun & Wen-Hsiung, L. Y. (2007). Cloning and characterization of a maltotrioseproducing  $\alpha$ -amylase gene from *Thermobifida fusca*. Journal of Microbiology and Biotechnology, (Vol. 34).

### -D-

- Demain, A. (2006). Bacterial Pharmaceutical Products in Procaryotes. 812-833.
- Dgigal, D. (2003). Interaction entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorrhiziens) et les nématodes bactérivores; effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes.thèse doctorant . Université Cheikh Anta De Dakar.
- Djaballah, C. (2010). Biodiversité des Actinomycètes Halophiles et Halotolérante Isolat de la sebka d'Ain Mlila .Mémoire de Magister. Ecologie Microbienne. Constantine, Université Mentouri.

## Références Bibliographiques

---

- Djaballah, C. (2010). Biodiversité des Actinomycètes Halophiles et Halotolérante Isolat de la sebka de Ain Mlila, Mémoire de Magister Ecologie Microbienne. Ain Mlila, Université Mentouri Constantine.

- Djaballah, C. (2010). Biodiversité des Actinomycètes Halophiles et Halotolérante Isolat de la sebka d'Ain Mlila. Mémoire de Magister Ecologie Microbienne. Ain Mlila, Université Mentouri Constantine.

### -E-

- Ensign, J. (1993). Physiology of some actinomycetes genera. 657-660.

- Eunice, J. (1983). Mycelial growth and branching of *streptomyces coelicolor*. A3 (2) on solid medium. J. gen Microbiol, 2029-2036.

### -F-

- Fernandez & Sanchez, J. (2002). Nuclease activity and cell death processes associated with development of surface culture of *Streptomyces antibioticus* ETH7451. Microbiology.

### -G-

- Geraldine, M. (1981). A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. Journal of General Microbiology, 127,237-259.

- Geraldine, M. (1981). A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. . Journal of General Microbiology, 127,237-259.

- Goodfellow, M. (1983). Ecology of Actinomycetes. Ann Rev Microbiol, 189 - 216.

- Goodfellow, M. (2012). Actinobacteria phyl. Nov. In : Whitman W.B, Goodfellow .M, Kämpfer. P, Busse H-J, Trujillo M.E, Ludwig. W, Suzuki. K.I, Parte A (eds). (éd. 2ème, Vol. 5). New York : Bergey's Manual of systematic Bacteriology.

- Goodfellow, M. W. (1983). Ecology of actinomycetes. Annuals Review of Microbiology, 189-216.

- Gordon, R. e. (1974). *Nocardia coeliaca* *Nocardia autotrophica*, and the *Nocardin* strain. International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, (1), 54-63.

- Gottlieb, D. (1967). INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY COOPERATIVE DESCRIPTION OF TYPE CULTURES (Vol. 17). Department of Plant Pathology, University of Illinois and, Department of Botany and Bacteriology, .



## Références Bibliographiques

---

### -H-

- Haque, A. U. (2014). Isolation, Characterization and screening of actinomycetes for antibacterial activity from the soil of gazipur Bangladesh world journal of pharmaceutical sciences Isolation. Journal of pharmaceutical sciences Isolation(3), 275-285.
- Hbibeche, I. (2013). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices d'antibiotiques. Algérie, Bejaia.

### -J-

- Jariwala, F. (2013). Endophytic actinomycetes. Not only to the plants ; they even produce numerous bioactive compounds which are of human benefit. Biological Sciences, 1, 73-78.

### -K-

- Kalakoutskii, L. (1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. Bacteriol. Rev, 40(2), 469-524.
- Kim & Goodfellow, S. (1999). Reclassification of *Amycolatopsis rugosa* Lechevalier et al. 1986 as *Prauserella rugosa* gen. nov. comb.nov. Int J Syst Bacteriol (Vol. 49).
- Kim, J. K. (2013). *Nocardioides panaciterrulae* sp. nov. isolated from soil of a ginseng field, with ginsenoside converting activity. Antonie Van Leeuwenhoek.
- Kitouni, M. (2003). Isolement de bactéries actinomycètes productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées.
- Kitouni, M. (2005). Identification d'une Actinomycétales, productrice d'antibactériens, isolée de sols arides des régions de Biskra. Sciences & Technologie.
- Kuo & Hartman, M. P. (1966). Isolation of amylolytic stains of Thermo-actinomyces-*Thermoactinomyces candidus*, a new species of thermophilic actinomycètes. International vulgaris and production of thermophilic actinomycete amylases, J. Bacteriol (Vol. 92).

### -L-

- Lamari, L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines. Université de Tizi Ouzou.
- Lamari, L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycètes thèse de Doctorat. De Tizi Ouzou, Université Mouloud Mammeri.
- Larpent, J. (1989). Biotechnologies des antibiotiques. paris : Masson.
- Lechevalier, M. (1985). Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* In : Biology of industrial microorganisms. . The benjamin Cumming Publishing Company, INC, 315-360.

## Références Bibliographiques

---

- Leveau, J. (1993). Microbiologie Industrielle. Paris.

- Loqman, S. (2009). La lutte biologique contre lapourriture grise de la vigne : Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycètes antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. Thèse doc. Université de Réims Champagne - Adrenne Ecole Doctorale Sciences Exactes et Biologie.

### -M-

- Morakchi, H. (2011). Isolement et identification de souche d'actinomycètes productrices de molécules bioactives au niveau du lac Oubeira : Etude morphologique, physiologique, moléculaire et spectre d'activité. Thèse de doctorat en microbiologie. Annaba, Université Badji Mokhtar.

- Mukesh, S. (2014). Actinomycetes : Source, Identification, and Their Applications. International Journal Current Microbiology and Applied Sciences, 2(3), 801-832.

### -N-

- Ninawe, S. K. (2005). Use of xylan-rich cost effective agro-residues in the production of xylanase by *Streptomyces cyaneus*SN32. J Appl Microbiol, 1141-1148.

### -O-

- Oskay, M. (2004). Antibacterial activity of some actinomycètes isolated from farming of Turkey. African Journal of Biochemistry, 3(9), 441- 446.

### -P-

- Park, J.-T. S. (2002). Pathogenesis of *Streptovercillium albireticuli* on *caenorhabditis elegans* and its antagonism to soil-borne fungal pathogens. Letters in Applied Microbiology, 361-365.

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

-Prakash, A. (2012). Microorganisms in Environmental Management springer.

-Prescott & Harley, L. (2003). Microbiologie (éd. 2eme édition).

-Prescott, L. (2003). Microbiologie (éd. 2 ème). Bruxelles : Boeck.

-Prescott, L. (2007). Microbiologie. La Boeck.

-Prescott, L. (2010). Microbiologie (éd. 2ème). De Boeck.

## Références Bibliographiques

---

### -S-

- SAKER, R. (2015). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes thèse de doctorat. Sétif, Algérie.
- Sanglier, J. (1993). Novel bioactive compounds from actinomycetes :à short review (1988-1992). Res Microbiol., 633-642.
- Sanglier, J. M. (1993). Novel bioactive compound from Actinomycetes. Res. Microbiol (Vol. 144).
- Shirling and Gottlieb, E. (1966). Methods for Characterisation of *Streptomyces* Species. International journal of systemic and evolutionary microbiology(3), 313-340.
- Sibanda, T. A. (2010). Antibiotic Producing Potentials of Three Freshwater Actinomycetes Isolated from the Eastern Cape Province of South Africa. Int J Mol Sci. (7), 2612–2623.
- Singieton, P. (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies (éd. 6ème).
- Sneath, P. (1989). Numerical taxonomy. In : Bergey's Manual of systematic Bacteriology, Williams S.T., Sharpe M.E. and Holt J.G. (Eds.). 4, 2303- 2305.
- Sommer, p. (1997). Genetic and biochemical characterization of a new extracellular lipase from *Streptomyces cinnamomeus*. Appl. Environ, Microbiol(9), 3553-3560.
- Stackebrandt, E.-R. (1997). Proposal for a new hierarchic classification system. Actinobacteria classis Nov. Int. J .Syst.Evol, 47(2), 479–491.

### -T-

- Tanaka, Y. (1990). Metabolism and products of Actinomycetes - An introduction (Vol. 4).
- Theilleux, T. (1993). Les actinomycètes in Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt. (A. Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Éd.).

### -U-

- Uyeda, M. (2004). Metabolites produced by actinomycetes--antiviral antibiotics and enzyme inhibitors. Yakugaku Zasshi, 469-479.

### -V-

- Valois, D. (1996). Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubis*, the causal agent Microbiol (62) 5.
- Vonothini, G. (2008). Optimization of protease production by an actinomycete Strain, P.S-18A isolated from an estuarine shrimp pond. African journal of Biotechnology, 7, 3225-3230.

## Références Bibliographiques

---

### -W-

- Wang, L. (2006). *Streptacidiphilus oryzae* sp. Nov. an actinomycete isolated from rice field soil in Thailand. *J. Sys. Ev. Microbiol*, 1257 -1261.
- William, S. (1983). Numerical Classification of *Streptomyces* and Related Genera. *Journal of General Microbiology*, 1743-1813.
- Williams, S. (1982). Actinomycetes In Eds. Page A.L., Miller R.H., Keency O.R ; *Methods of Soil Analysis, part 2, Chemical and Microbiological Properties*, second ed. American. Society of Agronomy Soil Science Society of America, Madison, 969-987.

### -Y-

- Yilma, S.-S. B. (2008). Large-conductance cholesterol-amphotericineB channels in reconstituted lipide bilayers. *Biosensors Bioelectron.*, 1359-1367.

### -Z-

- Zinedine, A. (2004). Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnels. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc.
- Zitouni, A. G. (2004). *Saccharothrix algeriensis* sp. nov. à new species isolated from a Saharan soil (Vol. 54). *Int J Syst Evol Microbiol*.

# *Annexes*

## Annexes(1)

### I.- Milieux de culture :

#### 1. Les compositions des milieux utilisés pour l'isolement des actinomycètes :

##### Gause (Morakchi, 2011)

KNO <sub>3</sub>	1g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5g
MgSO <sub>4</sub>	0,5g
NaCl	0,5g
FeSO <sub>4</sub>	0,01g
Amidon	20g
Agar	30g
Eau distillée	1000ml

**pH= 7,4**

#### 1. Les compositions des milieux utilisés pour l'étude morphologique des actinomycètes :

##### 2.1. Les milieux ISP : (Shirling & Gottlieb, 1966),

##### Le milieu ISP<sub>2</sub> :

Glucose	4 g
Extrait de levure	4 g
Extrait de malt	10 g
Agar :	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH= 7,2.

##### Le milieu ISP<sub>9</sub> : (milieu de base)

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,64g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,38g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,65g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	1g

## Annexes

---

Solution saline\* 1 ml.

Eau distillée 1000 ml

Agar 20g.

pH : 6,8-7.

### **Solution saline :**

CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O 0,64g

FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O 0,11 g

MnCl<sub>2</sub>, 4H<sub>2</sub>O 0,79 g

ZnSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O 0.15 g

Eau distillée 1000 ml.

### **Milieu GN : (Gélose nutritive) (Kim, 2013)**

Gélose poudre 23g

Eau distillée 1000 ml

### **Milieu au lait écrémé :**

Lait en poudre écrémé 10g } Autoclave

Eau distillée 100 ml }

pH= 7,5

Agar 3,6g } Autoclave

Eau distillée 10 ml }

**Annexe (2)**



**E1**



**E2**



**E3**

**Figure :** Prélèvement des échantillons de la région de Biskra. **E1** : échantillon 1 ;  
**E2** : échantillon 2 ; **E3** : échantillon 3.



### II. Coloration de Gram

- Préparer un frottis bactérien.
- Couvrir le frottis avec un colorant basique : le violet de Gentiane et laisser agir pendant une minute.
- Eliminer l'excès de violet de Gentiane avec une solution de Lugol et laisser agir pendant 30 secondes.
- Rincer à l'eau.
- Décolorer à l'alcool à 90°.
- Faire un deuxième rinçage à l'eau.
- Recouvrir le frottis avec un deuxième colorant : la Fuschine, laisser agir pendant une minute
- Rincer à l'eau.
- Sécher le frottis entre deux feuilles de papier absorbant.
- Avant l'observation microscopique on dépose une goutte d'huile d'immersion et on observe à l'objectif d'immersion x10 et X 100.

## Résumé

Dans cette présente étude 20 souches d'actinomycètes isolées à partir des sols provenant des régions Biskra et Touggourt ont été étudiées afin de mettre en évidence leurs caractéristiques phénotypiques (macromorphologiques et micro-morphologiques) et leurs aptitudes à hydrolyser différents substrats.

Les souches isolées montrent des propriétés phénotypiques identiques au Actinomycètes qui sont des bactéries aérobies filamenteuses à Gram positif sporulées à croissance lente (10 à 15 jours).

Les résultats des tests biochimiques indiquent que les isolats utilisent la xylose et l'inositol comme source de carbone ; mais n'utilisent pas le glycérol.

Les isolats d'actinomycètes ont montré une capacité remarquable à dégrader certains composés (cellulose, amidon, caséine, gélatine, mais pas le xylène) ce que leur bagage enzymatique important.

**Mots clés :** Actinomycètes, étude phénotypique.

## المخلص

في هذه الدراسة تمت دراسة 20 سلالة من الأكتينومييسيتات المعزولة من التربة من منطقتي بسكرة وتوغرت من أجل إبراز خصائصها المظهرية (التشكل الجزيئي والمورفولوجي الجزيئي وقدرتها على تحلل ركائز مختلفة).

تظهر السلالات المعزولة خواص ظاهرية مماثلة للأكتينومييسيتات التي تعمل على تكثيف البكتيريا الهوائية الخيطية إيجابية الغرام بنمو بطيء (1015- يومًا).

تشير نتائج اختبارات الكيمياء الحيوية إلى أن العزلات تستخدم الزيولور والإينوسيتول كمركز للكربون ولاكن لا تستخدم الجليسرول

أظهرت عزلات الأكتينومييسيتيس قدرة ملحوظة على تحطيم بعض المركبات (السليلوز والنشاء والكازيين والجيلاتين ولكن ليس الزيولين) هذه هي مهمتهم الإنزيمية.

**الكلمات المفتاحية:** الأكتينومييسيتات، دراسة ظاهرية

## Abstract

In This study, 20 strains of actinomycetes isolated from soils from the Biskra and Touggourt regions were studied in order to highlight their phenotypic characteristics (macromorphological and micro-morphological) and their ability to hydrolyze different substrates.

Isolated strains show phenotypic properties identical to Actinomycetes, which are sporulating Gram-positive aerobic filamentous bacteria with slow growth (10-15 days).

Biochemical test results indicate that isolates use xylose and inositol as a carbon source ; but do not use glycerol.

Isolates of actinomycetes have shown a remarkable ability to degrade certain compounds (cellulose, starch, casein, gelatin, but not xylene) what their enzymatic background important.

**Key words :** Actinomycetes, phenotypic study.

