



République Algérienne Démocratique et Populaire  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID DE TLEMCEM  
Faculté des sciences de la Nature et la vie, des sciences de la Terre et de l'Univers

Département d'Ecologie et Environnement

## MEMOIRE DE MASTER

Spécialité : sciences de la mer

Présenter par : Mekni Meryem

Le : 30 juin 2025

### Thème

Isolement et identification des souches d'actinomycètes dotée d'une activité  
enzymatique " la cellulase "

Jury :

Présidente : Mme KASSEMI Naima

MCA

Examinatrice : Mme DAMERDJI Amina

professeur

Encadrante : Mme BOUBLENZA Nesrine

MCA

Année universitaire : 2024 – 2025

## *Remerciements:*

*Après un parcours de plusieurs années, marqué par beaucoup de peine et de fatigue. C'était ma première expérience dans ce domaine, donc c'était plein d'excitation et de suspense mêlés à une certaine peur, mais grâce à Dieu, à sa miséricorde et à sa compassion, je suis arrivé là où je suis maintenant, alors merci à lui pour chaque bénédiction qu'il m'a accordée qui a contribué à mon succès et n'y a pas contribué. ~ Louange à Dieu ~.*

*J'adresse également mes remerciements et mes louanges à mon encadreur madame **Nesrine boublenza** pour ses efforts et son dévouement à mon égard, ainsi que pour ses encouragements. Vraiment, mon travail avec elle a été meilleur que ce à quoi je m'attendais, car c'était une professeure compréhensive et honnête qui aimait son travail.*

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

*Je tiens également à remercier tous ceux qui m'ont soutenu sur ce chemin qui mettra fin à ma carrière académique. Vraiment, ce que j'ai ressenti à ce moment-là était un sentiment différent de tout ce qui avait précédé. Je ne peux pas parler de la fierté de mon père à mon égard, car leurs larmes à cet instant et leurs regards sur moi essuient désormais toutes les larmes que j'ai versées d'épuisement.*

## *Dédicace :*

*La fin de ce parcours est désormais. Je voudrais tout d'abord exprimer mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à mon arrivée ici, que ce soit par leur soutien financier ou moral. Ceci conclut mon parcours académique, grâce à **Dieu** et ensuite à **ma mère** et à **mon père**, qui ont joué le plus grand rôle dans ma réussite. Grâce à leur soutien et à leurs efforts, je suis ici et honoré d'obtenir mon diplôme. Voir leur joie et leur fierté à mon égard suffit à me faire oublier la fatigue de toutes ces années.*

*En plus du soutien de **ma grand-mère**, que Dieu ait pitié d'elle, qui attendait toujours ce moment, mais n'a pas eu la chance de l'obtenir. Je demande à **Dieu** de renouveler sa miséricorde envers elle et de lui accorder une place dans ses vastes jardins sans compte ni punition.*

*Je ne peux oublier ma tante **Khadija**, à qui j'adresse mes sincères remerciements pour son grand rôle, son soutien et ses conseils, ainsi que mes tantes **Fatna** et mes oncles **Khaled** et **Lokman**, dont les encouragements ont été une source de soutien et de force. Je ne peux conclure sans mentionner mes sœurs **Hadjer** et **safaa Asmaa**, ainsi que la plus jeune, **Zaki**. Je leur souhaite également beaucoup de succès et de chance dans leur vie en ce moment.*

*Enfin, mes chères amies **Marwa** et **Mimi**, qui ont été pour moi une source d'inspiration et de soutien. Je lui souhaite bonheur et réussite dans sa vie.*

*Merci à tous ceux qui m'ont soutenu et m'ont souhaité du succès y compris **mes oncles, tantes et collègues**. Que Dieu vous bénisse dans votre carrière et votre vie.*

## SOMMAIRE

❖ Liste des abréviations	
❖ Liste des tableaux	
❖ Liste des figures	
❖ <b>Introduction</b> .....	01
❖ <b>Chapitre 01</b> : généralité sur les actinomycètes	
Définition.....	03
Morphologie.....	03
Ecologie.....	04
Physiologie.....	05
Taxonomie.....	06
❖ <b>Chapitre 02</b> : Etude de la cellulase	
01/La cellulose.....	08
02/La cellulase.....	08
Définition.....	08
Nomenclature des cellulases.....	09
Structure de la cellulase.....	09
Mode d'action.....	10-11
Applications industrielles de la cellulase.....	13
La cellulase d'origine microbienne .....	14-15
❖ <b>Chapitre 03</b> : Matériels et méthodes	
Description de site d'échantillonnage.....	16
Mesure des paramètres physico-chimiques des spécimens.....	17
Isolement des actinomycètes marins.....	18
Identification et caractéristiques biochimiques des souches.....	19

Recherche de l'activité cellulase	
Criblage primaire de l'activité cellulase .....	20-21
Le test quantitatif des endoglucanases .....	22
❖ <b>Chapitre 04</b> : Résultats et discussion	
Isolement des souches d'actinomycètes marins.....	24
La caractérisation biochimique des isolats d'actinomycètes.....	28-30
Résultats de test qualitatif de HEC.....	32-34
Résultats de test quantitatif HEC.....	35
La gamme d'étalonnage .....	36
Test quantitatif de papier filtre.....	38
❖ <b>Conclusion</b> .....	39-40
❖ Références bibliographiques.....	41-48
❖ Annex	
❖ Résumé	
❖ الملخص	
❖ Abstract	

**Liste des abréviations :**

C °	Degré Celsius
M	Molaire
Ms	Milliseconde
Na Cl	Chlorure de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
PH	Potentiel Hydrogène
HEC	Hydroxyéthylcellulose
RPM	Rotation par minute
CBD	cellulose-Binding Domain

**Liste des tableaux :**

<b><u>Tableau 01</u></b> : Répartition des actinomycètes dans la nature.....	05
<b><u>Tableau 02</u></b> : Applications industrielles de la cellulase .....	13-14
<b><u>Tableau 03</u></b> : gamme d'étalonnage .....	21
<b><u>Tableau 04</u></b> : les mesures des paramètres physico-chimiques.....	23
<b><u>Tableau 05</u></b> : Résultats de l'isolement des souches d'actinomycètes.....	24
<b><u>Tableau 06</u></b> : Résultats de la caractérisation biochimique des actinomycètes.....	27
<b><u>Tableau 07</u></b> : résultats du criblage primaire de l'activité enzymatique de cellulase.....	33
<b><u>Tableau08</u></b> : résultats des absorbances de la gamme d'étalonnage.....	34
<b><u>Tableau 09</u></b> : résultats de mesure de l'activité enzymatique.....	35

## Liste des figures :

<b>Figure 01</b> : croissance d'une colonie d'actinomycète sur milieu solide.....	04
<b>Figure 02</b> : (A) La structure tridimensionnelle de la cellulase isolée à partir d'une souche de Bacillus sp. BG-CS10	
(B) : Schéma illustrant les domaines fonctionnels de la cellulase.....	10
<b>Figure 03</b> : Composants principaux et mécanisme d'action du système enzymatique de la cellulase : endo-L-Glucanase, exo-L-Glucanase et $\beta$ -glucosidase.....	12
<b>Figure 04</b> : : carte géographique de la plage Ouardania Tlemcen.....	15
<b>Figure 05</b> : la plage de El Ouardania.....	15
<b>Figure 06</b> : conductimètre.....	16
<b>Figure 07</b> : PH-mètre.....	16
<b>Figure 08</b> : colorimètre .....	22
<b>Figure09</b> : aspect macroscopique des isolats d'actinomycètes.....	25
<b>Figure 10</b> : observation microscopique au grossissement d'immersion des souches d'actinomycètes à près coloration de gram .....	26
<b>Figure11</b> : résultat de la caractérisation biochimique des actinomycètes .....	30
<b>Figure 12</b> : Résultats de l'activité de cellulase sur l'hydroxyéthylcellulose .....	31
<b>Figure 13</b> : : Résultats du test de papier filtre.....	32
<b>Figure 14</b> : la mise en évidence de l'activité cellulase au rouge Congo .....	34
<b>Figure 15</b> : la droite de l'absorbance des étalons .....	36

---

# **Introduction**

Les micro-organismes présents dans les milieux marins, en particulier ceux colonisant les sédiments, jouent un rôle crucial dans la dégradation de la matière organique et le cycle des composés naturels (Arndt et al.,2013).

Parmi ces micro-organismes, les actinomycètes se distinguent par leur capacité à produire une large gamme d'enzymes, notamment les cellulases, qui décomposent la cellulose, un constituant majeur de la biomasse végétale. Ces enzymes cellulolytiques permettent la conversion de la cellulose en sucres simples, exploitables dans divers domaines industriels et pour des applications environnementales. (Bibra *et al.*,2022)

Bien que la majorité des recherches aient porté sur les actinomycètes isolés du sol, les sédiments représentent un habitat particulier susceptible d'abriter des souches enzymatiquement distinctes, encore peu étudiées. (Subramai & Aalbersberg,2013)

Les actinomycètes constituent un groupe majeur de bactéries saprophytes ubiquitaires, largement distribuées dans les sols, les environnements aquatiques ainsi que dans la rhizosphère des plantes. Leur abondance et diversité au sein des communautés microbiennes varient en fonction des propriétés physico-chimiques et biologiques de ce dernier (Pandey et al.,2004)

Ce groupe bactérien forment une communauté microbienne omniprésente et stable dans divers écosystèmes, notamment dans les sols alcalins et arides où ils sont particulièrement abondants. Leur cycle de vie, unique chez les procaryotes, leur conféré un rôle clé dans la dégradation et le recyclage de la matière organique du sol. Sur le plan économique et biotechnologique, ils sont précieux : producteurs de métabolites secondaires variés (antibiotiques, antifongiques, antiviraux, anticancéreux, immunosuppresseurs, etc.), ils interviennent tant en pharmacie qu'en agriculture, en inhibant de nombreux pathogènes végétaux (Baraka et al.,2016).

Métaboliquement, la plupart se nourrissent de composés organiques protéiques ou non protéiques, certains étant même capables d'utiliser des substrats hydrophobes (cires, résines, paraffines, hydrocarbures). Ils exploitent diverses sources d'azote (nitrates, ammonium, urée, acides aminés) et tolèrent des conditions aérobies ou anaérobies, à des températures comprises entre 5 °C et 45 °C (Baraka et al.,2016).

Leur activité englobe la fixation de l'azote, la décomposition de tissus végétaux, la synthèse et la minéralisation de l'humus, ainsi que la production d'enzymes et de composés bioactifs (vitamines, acides aminés, antibiotiques) (Bhatti et al., 2017).

La cellulose représente un enjeu majeur dans le domaine de la recherche, en particulier pour le développement des biocarburants (Sederberg et al., 2003).

Les enzymes principalement impliquées dans la dégradation de la cellulose sont des hydrolases connues sous le nom d'enzymes cellulolytiques. En raison de la structure complexe de la cellulose, sa dégradation complète nécessite un ensemble enzymatique diversifié, incluant les endoglucanases, les exoglucanases et les  $\beta$ -glucosidases (McCain et al., 2001).

Cette étude vise à isoler et identifier des souches d'actinomycètes productrices de cellulase à partir de sédiments. Pour atteindre cet objectif, plusieurs étapes ont été réalisées : l'isolement des actinomycètes, la purification des cultures, l'évaluation de leur activité enzymatique à l'aide de tests qualitatifs et quantitatifs, puis la sélection et l'identification des souches présentant une activité cellulasiq ue significative.

Ce travail est divisé en trois parties :

Chapitre 01 : donne un aperçu des principales caractéristiques des actinomycètes.

Chapitre 02 : nous avons présenté une brève synthèse bibliographique sur la cellulase et ses domaines d'applications

Chapitre 03 : regroupe la méthodologie employée durant notre expérimentation.

Chapitre 04 : expose les résultats obtenus durant notre investigation et dernièrement la partie discussion compare les résultats qui en ressort de cette étude et ceux des recherches antérieures

---

**Chapitre 01 :**  
**GÉNÉRALITÉS SUR**  
**LES**  
**ACTINOMYCÈTES**

### **Définition :**

Le terme « *Actinomycètes* », vient des mots grecs « **aktis** », qui signifie rayon, et « **mykes** », qui signifie « **champignon** », Considérés à l'origine comme un groupe intermédiaire entre les bactéries et les champignons, les actinomycètes sont désormais envisagés comme des procaryotes (Panday et al.,2004). Elles sont étudiées comme des bactéries Gram-positives avec un pourcentage de Chargaff (% GC) élevée (> 55 %) dans leur ADN (Sateesh &Naikpatil,2011) leur développement est lent, avec un temps de génération de 2 à 3 heures, et ils se développent sur une période de quelques jours à quelques semaines (Boudemagh,2007).

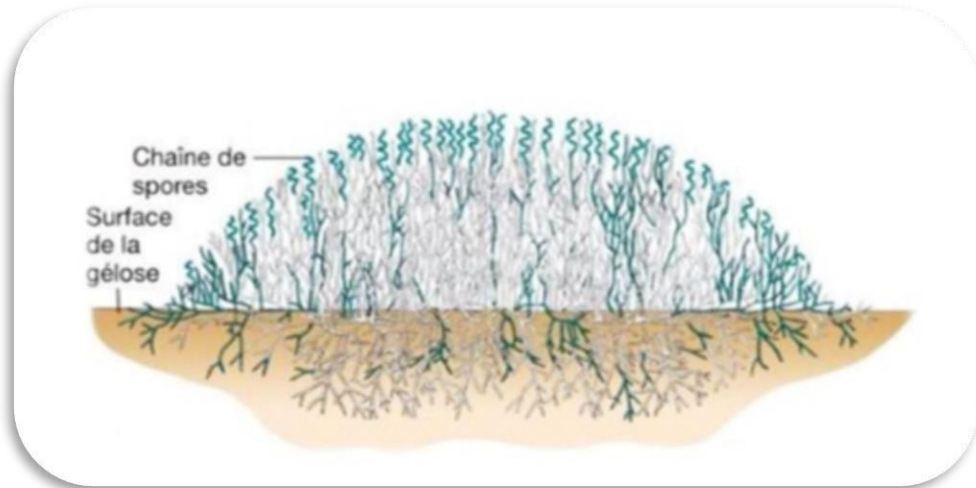
### **Morphologie :**

Les actinomycètes sont une grande classe d'organismes aérobies qui produisent des spores asexuées et des filaments ramifiés, parfois appelés hyphes. L'apparence générale de ces bactéries est très similaire à celle des champignons. Tandis que les hyphes du substrat sont les hyphes qui se trouvent sous la surface. (Mukesh et al.,2014) La forme des divers groupes d'Actinomycètes présente une grande variabilité. Elle varie de simples bacilles à des formes plus complexes celles de mycélium. Il est possible d'observer un mycélium qui se propage à travers les milieux (mycélium végétatif ou de substrat), ou dans l'air au-dessus du substrat (mycélium aérien) (Boudmagh,2007).

Certaines espèces d'actinomycètes génèrent des structures spécifiques, y compris des sclérotés (*Chainai*), des synnèmes (*Actinosynnema*), des vésicules remplies de spores (*Frankia*) ou des vésicules qui n'en contiennent pas (*Intrasporangium*) (Bark et al.,2016).

Les colonies qui se développent sur des milieux solides présentent diverses caractéristiques macroscopiques pouvant être classées en trois catégories :

- des colonies en poudre recouvertes d'hyphes aériens solidement fixés au substrat.
- des colonies pâteuses qui peuvent être aisément séparées des milieux solides.
- des colonies libérées du mycélium de substrat et formées d'hyphes aériens fixés au milieu par des crampons (Kalakoutskii,1976).



**Figure 01** : croissance d'une colonie d'actinomycète sur milieu solide  
(Prescott et al., 2003).

#### Écologie :

Des recherches concernant l'écologie des actinomycètes ont démontré la présence de ces micro-organismes dans différents habitats écologiques (Barakate et al., 2002). Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires qui peuvent abriter le sol, les milieux marins, ou même vivent en symbiose avec des plantes, des champignons et des animaux. Les actinomycètes, en observant et en s'adaptant à leur environnement, créent des relations étroites dans diverses niches (Manivasagan et al., 2010).

Les actinomycètes jouent un rôle crucial dans de nombreux processus. Non seulement ils sont capables de résister à des conditions de sol difficiles, telles qu'une humidité réduite ou une salinité élevée, mais ils stimulent aussi la croissance des plantes. Il est donc crucial d'examiner leur distribution afin de saisir leur fonction écologique. Plusieurs recherches ont démontré que les caractéristiques du sol revêtent une plus grande importance pour les bactéries (Ghorbani-Nasrabadi et al., 2013).

Le tableau ci-dessous montre la répartition des actinomycètes dans la nature.

**Tableau 1** : Répartition de quelques actinomycètes dans la nature (Goodfellow & Williams, 1983).

Genre :	Habitats :
<i>Actinomadura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau, litière
<i>Frankia</i>	Nodule de racine
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, eau
<i>Nocardia</i>	Sol, eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau fumier, litière
<i>Sacharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière

#### Physiologie :

Les actinomycètes constituent l'une des principales communautés microbiennes au niveau du sol. Leur présence est nettement affectée par les conditions environnementales telles que l'humidité, la température et le PH. (Djaballah, 2010).

#### Température :

Les actinomycètes sont des microorganismes mésophiles. Leur température idéale pour une croissance optimale se situe entre 25 et 30 C°. Toutefois, certaines espèces sont thermophiles, en particulier celles du genre *Thermoactinomyces* qui prospèrent à une température optimale de 50 à 60 C° (Rangaswami et al., 2004).

**PH :**

Les actinomycètes ont généralement une préférence pour les milieux neutres ou légèrement alcalins (Belyagoubi,2014).

**Oxygène :**

Selon le type de respiration, on distingue deux catégories : les premiers sont des formes strictement anaérobies fermentatives comme le genre *Actinomyces*, tandis que les autres sont des formes aérobies oxydatives comme *Streptomyces* (Prescott,2007).

**L`humidité :**

La plupart des actinomycètes prospèrent dans des environnements à faible humidité, généralement de 5 à 25%, et sont capables de se multiplier dans des zones où l'activité de l'eau (aw) est très réduite (Bouaziz,2018).

**Taxonomie :**

La taxonomie actuelle des actinomycètes repose sur divers critères : morphologie, chimie, physiologie et aspects moléculaires. La majorité des genres se définissent selon des critères morphologiques et chimiques, alors que l'identification des espèces s'appuie sur des critères physiologiques et moléculaires. Le Manuel de Bergey, 2ème édition (Goodfellow M., 2012), documente les attributs de chaque taxon bactérien (Bouaziz,2018).

Au début, seuls les caractères macromorphologiques et micro morphologiques étaient pris en compte : la présence, l'abondance et la disposition des hyphes du mycélium du substrat ou du mycélium aérien, la présence de spores, leur nombre, leur mobilité, leur forme, leur position sur les hyphes ainsi que la présence de sporanges permettaient de distinguer les genres (Waksman et Henrici, 1943).

Ensuite, la chimio taxonomie a été incriminé dans l'identification des actinobactéries, qui repose sur l'analyse de la composition cellulaire en acides aminés, sucres, acides mycoliques, phospholipides membranaires et ménaquinones (Collins et Jones, 1981).

Avec l'avènement de la biologie moléculaire et du séquençage, l'identification des actinomycètes est basée sur l'étude de gènes horloges dont le plus utilisé est celui du gène codant pour l'ARNr16S, d'autres techniques sont aussi utilisées à des fins taxonomiques comme la détermination du coefficient de Chargaff, l'étude du polymorphisme des acides désoxyribonucléiques (ADN) des souches bactériennes comme la technique RAPD-PCR (Randomly Amplified polymorphic DNA), PCR-RFLP (PCR- Restriction Fragment Length Polymorphism), ou les techniques des hybridation moléculaires (ADN-ADN) (Stackebrandt, 1997).

Physiologie : Pour identifier les espèces, il est essentiel d'avoir recours à des tests d'utilisation de divers substrats par les actinomycètes (glucides, lipides, protéines, polymères complexes, stéroïdes, etc.), des épreuves de résistance face à plusieurs substances chimiques (antibiotiques et autres agents chimiques), ainsi que la tolérance au pH, à la température, à la salinité, entre autres (Boudjelal-Bencheikh, 2012)

---

# **Chapitre 02 :**

**ETUDE DE LA**

**CELLULASE**

## 1/ La cellulose :

La cellulose est un polysaccharide constitué d'unités de  $\beta$ -D-glucose, et représente le polymère naturel le plus abondant sur Terre. Elle constitue un élément structurel fondamental des parois cellulaires des plantes et des algues, mais elle est également produite par certaines bactéries, champignons ainsi que par des organismes marins tels que les urochordés. Grâce à ses propriétés physico-chimiques, les microfibrilles de cellulose sont insolubles dans l'eau et résistent à l'action de la majorité des enzymes hydrolysant les polysaccharides (Szydlowski et al.,2015).

## 2/ La cellulase :

### Définition :

Les cellulases constituent une famille d'enzymes dominée par diverses isozymes, y compris les endoglucanases (EGI et EGII), les exoglucanases ou cellobiohydrolyases (CBHI et CBHII) ainsi que les  $\beta$ -glucosidases. Elles travaillent en synergie pour transformer la cellulose en sucres réducteurs. Les cellulases ont une importance primordiale dans la transformation de la biomasse en énergie et en produits chimiques. On déploie de considérables efforts pour élaborer des cellulases plus performantes, dérivées de diverses sources et par modification génétique, tout en explorant de nouveaux champs d'application (Gang et al.,2009).

Les cellulases sont produites par fermentation en milieu solide ou liquide, à partir de bactéries et de champignons. En tant qu'enzymes inductibles, leur synthèse est régulée par des mécanismes d'induction et de répression. Comparées à d'autres enzymes impliquées dans la dégradation des parois cellulaires végétales, les cellulases présentent une stabilité accrue à haute température, ce qui les rend particulièrement adaptées aux usages industriels. Ainsi, de nombreuses recherches ont été menées en vue d'isoler des micro-organismes cellulolytiques et de mieux comprendre les facteurs déterminant la thermostabilité de leurs protéines (Ejaz et al 2021).

### Nomenclature des cellulases :

**Nom codifié :** E.C.3.2.1.4

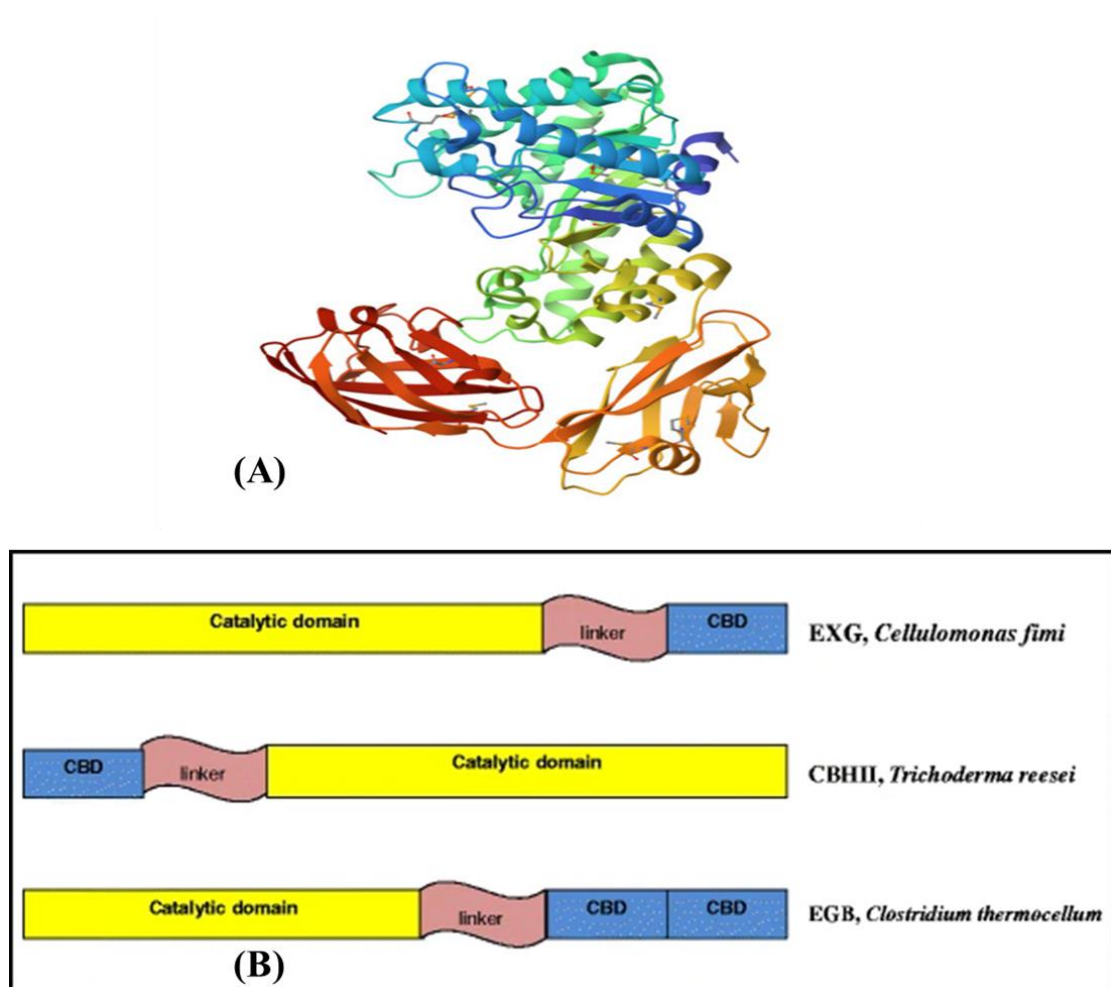
**Nom systématique :** 1,4-(1,3 ; 1,4) - $\beta$ -D-Glucane 4-glucanohydrolase.

**Nom recommandé :** Cellulase.

**Synonymes :** endoglucanases, Endo-1,4- $\beta$ -Glucanase, Cellulase carboxyméthylrique,  $\beta$ -1,4-endoglucanhydrolase, Celludextrinase, Avicelase ect... (Schamburg et Salzman,1991).

### Structure de la cellulase :

Les cellulases présentent des caractéristiques structurelles et physico-chimiques distinctes en fonction de leur source. La plupart des cellulases microbiennes analysées étaient des protéines acides présentant un haut degré de glycosylation. La plupart des cellulases provenant de microorganismes examinés sont des glycoprotéines présentant un taux élevé d'acides aminés acides, plutôt que des métalloprotéines (Babouli et Zidalmal,2020). Ces dernières possèdent une structure modulaire comprenant deux zones fonctionnelles : le site catalytique et le site de liaison au substrat, appelé CBD pour Cellulose Binding Domain (Figure 02). Le CBD peut être présent en tant que domaine simple, double ou triple et il pourrait se trouver à l'extrémité C terminale (terminaison carboxyle) ou à l'extrémité N-terminale (terminaison amine) de la protéine. Le CBD est relié à la zone catalytique par un peptide riche en proline et thréonine, connu sous le nom de Linker (Lakhundi et al.,2015).



**Figure 02** : (A) La structure cristallographique de la cellulase isolée à partir d'une souche de *Bacillus* sp. BG-CS10 (protéine data base, PDB)

(B) : Schéma illustrant les domaines fonctionnels de la cellulases (Lakhundi et al,2015).

#### Mode d'action :

Les cellulases sont généralement regroupées en trois principales catégories fonctionnelles, agissant de manière synergique :

**1. Carboxyméthylcellulose**, également connue sous le nom d'endoglucanases (E.C. 3.2.1.4).

**2. Exoglucanases**, aussi connue sous le nom de cellobiohydrolyases ou cellulase à filtre (E.C. 3.2.1.91).

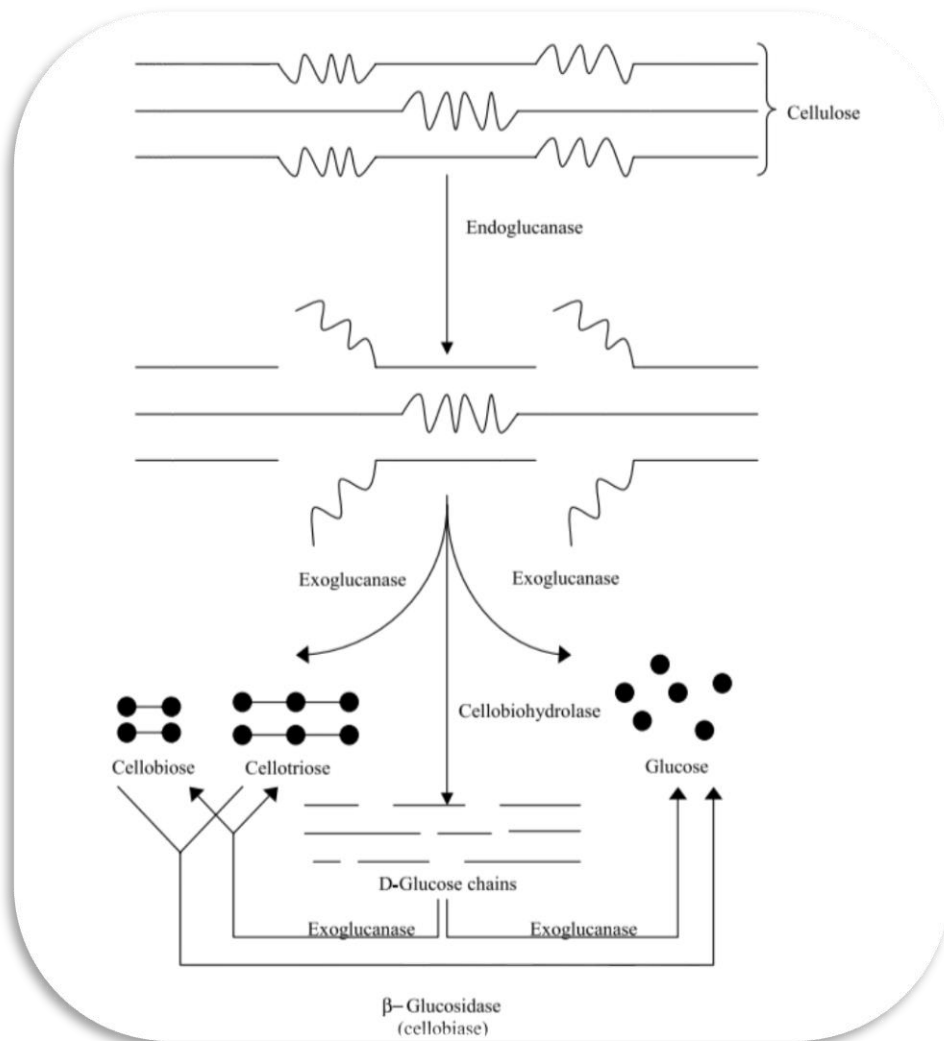
**3.  $\beta$ -glucosidase**, de plus connue sous le nom de cellobiose (E.C. 3.2.1.21) (Gupta et al.,2013).

Ces enzymes hydrolytiques impliquées dans la dégradation de la cellulose, un polysaccharide structural majeur des parois cellulaires végétales. Leur mécanisme d'action repose sur l'hydrolyse des liaisons glycosidiques  $\beta$ -1,4 entre les unités de D-glucose, ce qui conduit à la libération progressive de glucose (Reffas,2017).

**Les endoglucanases (EC 3.2.1.4)** : elles catalysent la coupure aléatoire des liaisons  $\beta$ -1,4-glycosidiques au sein de la chaîne cellulosique amorphe générant ainsi des oligomères de cellulose de plus faible poids moléculaire.

**Les exoglucanases ou cellobiohydrolyases (EC 3.2.1.91)** : ces enzymes agissent principalement sur les extrémités non réductrices des chaînes cellulosiques, libérant des unités de cellobiose (dimères de glucose).

**Les  $\beta$ -glucosidases (EC 3.2.1.21)** : elles hydrolysent la cellobiose ainsi que d'autres oligosaccharides cellulosique en unités de glucose libre (Lanteigne,2010).



**Figure 03 :** Composants principaux et mécanisme d'action du système enzymatique de la cellulase : endo-L-Glucanase, exo-L-Glucanase et  $\beta$ -glucosidase (Krause et al.,2003).

### Applications industrielles de la cellulase :

En raison de leur capacité à dégrader la cellulose, les cellulases occupent une place importante dans plusieurs secteurs industriels (Kuhad et al.,2011). Le tableau ci-dessous met en évidence quelques-unes de leurs principales applications.

**Tableau 02** : Applications industrielles de la cellulase dans secteurs varies (Kuhad et al.,2011).

<b>L'industrie :</b>	<b>L'application :</b>
<b>Agriculture</b>	Amélioration agricole via le contrôle des pathogènes et maladies, la production de protoplastes végétaux et fongiques, la stimulation de la germination et du développement racinaire, l'optimisation de la croissance et de la floraison, l'enrichissement des sols, et la diminution de l'usage d'engrais minéraux."
<b>Bioconversion</b>	Valorisation des matières cellulosiques par leur conversion en éthanol, solvants, acides organiques, protéines et lipides unicellulaires ; production d'aliments énergétiques pour animaux ; amélioration de leur qualité nutritionnelle, de la performance des ruminants, de la digestion et de l'absorption, tout en assurant la conservation d'un fourrage de haute qualité
<b>Détergents</b>	Utilisation de cellulases dans les détergents pour un nettoyage efficace sans altération des fibres, avec amélioration de l'éclat des couleurs, de l'élimination des salissures, du lissage des tissus en coton, et de la prévention de la redéposition des particules d'encre."
<b>Fermentation</b>	Optimisation du maltage et du brassage, amélioration du pressurage et de l'extraction des pigments des raisins, enrichissement des arômes du vin, amélioration de la fermentation primaire et de la qualité de la bière, réduction de la viscosité du moût et amélioration de sa filtrabilité,

	clarification accrue lors de la vinification, avec de meilleurs taux de filtration et une stabilité renforcée du vin.
<b>Aliments</b>	Valorisation des coproduits végétaux par la libération d'antioxydants, optimisation des rendements d'extraction d'amidon et de protéines, amélioration de la macération, du pressurage et de l'extraction des pigments, clarification des jus, amélioration de la texture et qualité des produits de boulangerie, ajustement de la viscosité des purées, et amélioration des caractéristiques sensorielles des fruits et légumes, incluant le contrôle de l'amertume des agrumes.
<b>Pâte et papier</b>	Utilisation enzymatique dans le blanchiment et la mise en pâte biomécanique pour améliorer l'égouttage, le désencrage, et réduire les besoins en énergie et en chlore ; amélioration de la blancheur, de la résistance, de la propreté des fibres et de l'égouttage en papeterie ; production de papier biodégradable, d'essuie-tout et de papier hygiénique.
<b>Textile</b>	Application des enzymes dans le biostoning et le biopolissage pour améliorer la qualité et la stabilité des textiles, accroître l'absorption et la douceur des fibres, éliminer l'excès de teinture, et raviver l'éclat des couleurs.
<b>Autres</b>	Optimisation de l'extraction et de la stabilité des caroténoïdes, amélioration du malaxage et de l'extraction de l'huile d'olive avec une qualité accrue, réduction du gaspillage de biomasse, et production ciblée de molécules hybrides et de cellulosomes sur mesure.

### La cellulase d'origine microbienne

La synthèse des cellulases est principalement assurée par divers microorganismes, notamment les bactéries, les champignons filamenteux et les actinobactéries, lors de leur croissance sur des substrats riches en cellulose (Saranraj et al., 2012). Toutefois, cette

capacité enzymatique est également observée chez certaines espèces animales, telles que les insectes, les mollusques, les nématodes et les protozoaires (Gahfif,2021).

Bien que rares, certaines levures ont démontré une capacité à dégrader la cellulose. Des souches appartenant aux genres *Trichosporon*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Debaryomyces* et *Kluyveromyces* ont été identifiées comme productrices de cellulases (Korish,2003).

# Chapitre 03 :

MATÉRIELS ET

MÉTHODES

## 1/ Description de site d'échantillonnage :

### Plage El Ouardania :

La plage Ouardania, située au fond d'une vallée isolée, s'étend sur 285 m de long et 10 à 40 m de large. Un rocher la divise en deux parties : à l'est, sable jaune propre sans galets ; à l'ouest, petits galets blancs. Elle est surveillée en été, dispose d'un parking, de douches et de toilettes payantes. L'accès se fait par la route W1 puis deux pistes goudronnées (3 km et 5,7 km). Elle se trouve à 9,3 km de Honnaine, 14 km de Hadjret El Gat, et 27 km de Béni Saf. (<https://plagesalgerie.jimdofree.com> )



**Figure04** : carte géographique de la plage Ouardania Tlemcen.

( <https://mapcarta.com/fr/N857590391> )



**Figure 05** : la plage de El Ouardania

(<https://images.app.goo.gl/sBrn7vAFAenzqmdz9> ).

## 2/ mesure des paramètres physico-chimiques des spécimens :

Pour l'analyse physico-chimique des sédiments, une méthode adaptée de Boutiba et al. (2011) a été utilisée.

Deux préparations ont été effectuées : la première en suspendant 10 g de sédiments dans 50 ml d'eau distillée, et la seconde en utilisant 20 g de sédiments dans le même volume d'eau.

Les mélanges ont été agités mécaniquement pendant 20 minutes, puis filtrés. Les filtrats sont ensuite servis à la mesure du pH, de la conductivité électrique, la salinité et la température à l'aide respectivement d'un pH-mètre et d'un conductimètre.



**Figure06** : conductimètre



**Figure07** : pH-mètre.

### 3 / Isolement des actinomycètes marins

#### Préparation de dilutions décimales et ensemencement des boîtes :

La méthode de suspensions-dilutions est utilisée pour réaliser l'isolement des actinomycètes marins. Un gramme de sédiments a été prélevé aseptiquement et dissous dans 9 ml d'eau de mer stérile. Suite à une agitation vigoureuse au vortex, cette solution a été servie d'une solution mère dont 1 ml a été prélevé et mis dans un autre tube contenant 9 ml d'eau de mer stérile, la même opération a été répétée jusqu'à l'obtention d'une solution à une dilution de  $10^{-9}$ . Ensuite, 0,1 ml de chaque dilution est inoculé sur le milieu Gausse et M2 (voir Annexe). Les boîtes ensemencées sont placées en incubation à une température de 30°C et sont surveillées tous les jours pendant une durée de 15 à 21 jours.

#### Purification des souches :

Les colonies qui présentent les critères des actinomycètes sont repiquées dans des boîtes contenant les milieux d'isolement (M2 ou de Gausse) à des fins de purification. Cette procédure est répétée jusqu'à l'obtenir des cultures pures.

#### 4 / Conservation des souches :

Les isolats obtenus sont conservés en vue d'analyses ultérieures, selon deux méthodes de conservations :

**La conservation de courte durée :** les souches d'actinomycètes sont inoculées sur la gélose inclinée (M2), puis incubés à 30 °C pendant une durée de 7 jours. Les tubes sont par la suite stockés à une température de 4°C, pour une durée allant de 3 à 4 mois.

**La cryoconservation :** c'est une conservation à long terme des souches actinomycétales dans un bouillon additionné de 20% de glycérol stérile dans des tubes d'Eppendorf à une température de -20°C à - 80°C.

## 5 / Identification et caractéristiques biochimique des souches :

### Etude macromorphologie :

L'étude des caractéristiques phénotypiques des colonies ainsi que des propriétés culturales a été réalisée sur le milieu M2. Les inocula ont étéensemencés selon la méthode des stries. Après une période d'incubation de 15 à 21 jours à une température de 30 °C, plusieurs paramètres morphologiques ont été observés, notamment : la couleur, la taille, l'élévation, la transparence, l'aspect de la surface ainsi que la production éventuelle de pigments diffusibles.

### Etude micromorphologie :

L'étude de la micromorphologie a été effectuée après une coloration de Gram à l'aide d'un microscope optique au grossissement d'immersion, Cette coloration différentielle classe les bactéries en deux rangs : les Gram négatif et Gram positif qui est une caractéristique des actinomycètes

- **Test citrate de Simone** : l'utilisation du citrate comme seule source de carbone par nos isolats a été appréciée en utilisant le milieu citrate de Simmons sur tubes inclinés, un virage de couleur du milieu indique un résultat positif. (Renaud, 2000).
- **TSI (Triple Sugar Iron. agar)** : c'est un milieu gélosé qui permet de détecter la fermentation de trois sucre (glucose ; lactose ; saccharose) ; la production de gaz et la production de H<sub>2</sub>S.

Des tubes à essai ont été coulés par le milieu gélosé de TSI et inclinés de façon à obtenir un culot et une pente, la fermentation du glucose se manifeste par un virage du couleur du milieu vers le jaune, tandis que le changement du couleur de la pente indique une fermentation du saccharose et le lactose, si les deux parties du tube restent inchangées cela indique un résultat négatif (Lehman,2005)

- **Teste gélatinase** : Des bandelettes de film photographique ont été placées, dans des conditions aseptiques, dans des tubes à essai stériles contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. Une suspension dense de l'actinomycète à tester a ensuite été ajoutée à chaque tube. L'incubation a été réalisée à 28 °C, et l'état des tubes a été examiné aux jours 7, 14 et 21. L'hydrolyse de la gélatine a été mise en

évidence par la liquéfaction du support, indiquée par le décollement de la couche superficielle du film photographique (Pickett et al, 1991).

- **Teste de lait écrémé** : des tubes contenant 10ml de lait écrémé sont soumis à un ensemencement avec la souche étudiée, puis incubés à 28 °C. Un suivi régulier sur une période de 14 jours permet d'évaluer la capacité de la souche à induire la coagulation et/ou la peptonisation complète du lait (Belyagoubi,2014).
- **Teste Urée-INDOL** : ce test est réalisé sur le bouillon urée-indole qui permet la vérification de deux réactions chez nos isolats d'actinomycètes, la dégradation de l'urée par la présence d'une uréase et la production de l'indole, ce test a été réalisé sur des tubes à essai contenant 4,5ml d'eau physiologique et additionnées de quelques gouttes de bouillon urée-indole. Le virage du couleur vers le rouge témoigne la présence d'une uréase, nous avons ajouté le réactif de Kovac aux milieux afin de détecter la présence d'indole produit par les bactéries (Belyagoubi,2014).
- **Recherche de catalase** : La détection de l'activité catalasique consiste à déposer une colonie bactérienne sur une lame de verre propre, suivie de l'ajout d'une goutte de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). La présence de l'enzyme catalase est mise en évidence par l'apparition immédiate d'une effervescence due à la libération d'oxygène gazeux. Un test est considéré comme positif en présence de bulles, indiquant la dégradation de  $H_2O_2$ , et négatif en l'absence de toute réaction (Zinendine,2004).

## **06/ Recherche de l'activité cellulase :**

### **6-01/ le criblage primaire de l'activité cellulase**

La production de la cellulase par les actinomycètes marins isolés a été appréciée en utilisant deux milieux de culture (voir Annex)

**Milieu 01** : gélose supplémentée de l'hydroxyéthylcellulose (HEC) comme substrat spécifique de l'endoglucanases. (Endo 1,4  $\beta$ -Glucanase). (Lugani *et al.*,2015)

**Milieu 02** : bouillon contenant du Papier filtre (papier Whatman N° 1) comme source de cellulose. (Ghose,1987)

Les souches d'actinomycètes sont inoculées dans ces deux milieux ; après une incubation de 7 jours à 30°C, les boîtes gélosées contenant le HEC comme substrat de cellulase ont été inondées par une solution de rouge Congo à 1% pendant 15 à 20 minutes afin de mettre en évidence la dégradation de la cellulose. Ensuite l'excès du rouge Congo a été éliminé et une solution de NaOH à 1M a été ajoutée, l'apparition de zones claires autour des colonies d'actinomycètes révèlent la dégradation de la cellulose (Teather&wood,1982)

### **Le test du papier filtre**

Les résultats de la dégradation du papier filtre ont été appréciés par la méthode de l'acide dinitrosalicylique (DNS) (Ghose, 1987), les bouillons contenant le papier filtre ont été filtrés ensuite centrifugés à 10.000 RPM pendant 20 minutes, dans ce cas les deux fraction (culot et surnageant) ont été récupérées afin de déterminer laquelle de ces deux fractions présente la plus forte teneur en cellulase, le culot a été resolubilisé dans 100 ml du tampon citrate (pH=4,8) (Miller,1959)

Ensuite nous avons préparé le mélange réactionnel comme suit ; 0,5ml de l'extrait enzymatique (culot ou surnageant) a été prélevé et additionné de 2ml de tampon citrate et 2,5mg de papier filtre (Whatman) (Ghose, 1987) la réaction a été effectuée à 50°C pendant 60 minutes. Ensuite 3ml de DNS ont été ajoutés à la réaction et les tubes ont été placés à 100°C pendant 5 minutes afin d'interrompre la réaction enzymatique,

La mesure de l'absorbance de la solution enzymatique a été réalisée sur des microplaques de 96 puits en prélevant 200 µl de chaque solution et la lecture a été effectuée à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre

Une unité enzymatique correspond à la quantité d'enzyme capable de libérer une micromole d'équivalent glucose par minute et par millilitre, dans des conditions optimales de température (50°C) et de pH (4,8) (Ghose, 1987). Une intensité de coloration rouge élevée indique une libération importante de sucres réducteurs, principalement le glucose

Un blanc est préparé selon les mêmes conditions expérimentales, à l'exception de l'ajout de l'extrait enzymatique. Les mesures sont répétées en triplicata

La concentration de l'enzyme cellulase a été quantifiée en se référant à une courbe d'étalonnage construite à partir de concentrations connues de glucose

L'absorbance de l'enzyme trouvée dans chaque tube à essai a été extrapolé sur la courbe d'étalonnage afin de déterminer la quantité de l'enzyme présente dans chaque mélange réactionnel selon la formule suivante :

$$\text{Enzyme (U/ml)} = \frac{\text{quantité de glucose (mg)}}{0,18016 \times \text{volume de l'enzyme} \times \text{Temps de réaction (Ghose,1987)}}$$

### 6-02/ Préparation de la gamme d'étalonnage :

**Préparation des solutions glucose :** (voir Annex)

**Tableau 03 :** détermine les concentrations de glucose

Solution	SM	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
Concentration(mg/ml)	10	6,7	5	3,3	2	1,33	1	0,5	0,25	0,12

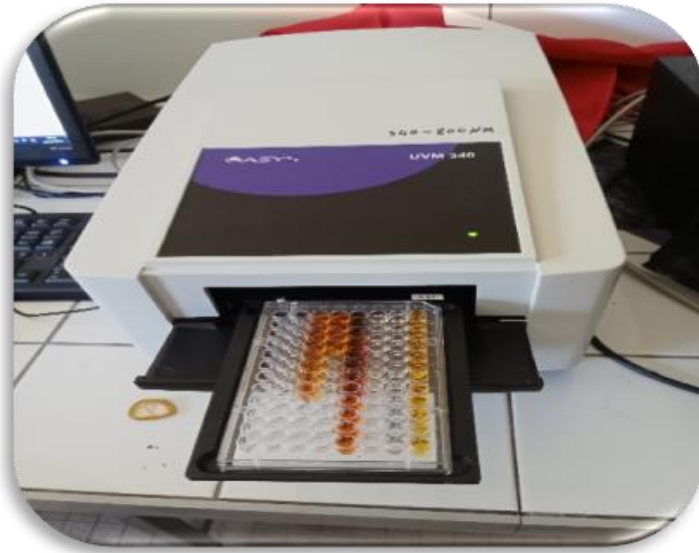
SM : solution mère

#### **Le test quantitatif des endoglucanases (endo $\beta$ 1,4- endoglucanases) :**

Est préparé dans des tubes contenant 0,5ml de l'extrait enzymatique ainsi que 0,5ml de solution substrat de HEC à 1 % (voir Annex). Ce mélange réactionnel est incubé à 50 °C pendant 30 minutes. Ensuite 3ml de réactif DNS ont été ajoutés aux tubes et placés dans un bain marie à 100°C pendant 5minutes

Les absorbances de la coloration résultante sont mesurées à une longueur d'onde de 540 nm par un spectrophotomètre. La quantité de l'enzyme en unités par millilitre (U/ml) a été déterminé selon la formule suivante

$$\text{Enzyme (U/ml)} = \frac{\text{quantité de glucose (mg)}}{0,18016 \times \text{volume de l'enzyme} \times \text{temps de réaction}}$$



**Figure 08** : spectrophotomètre

---

# **Chapitre 04 :**

## **RÉSULTATS ET**

## **DISCUSSION**

**Résultats de mesures des paramètres physico-chimiques :**

Durant notre investigation, nous avons isolé une dizaine de souches bactériennes à partir des sédiments prélevés de la plage d’El Ouardania, les caractéristiques morphologiques de ces bactéries révèlent leur appartenance au phylum des actinobactérie, comme l’aspect des colonies, la présence d’un mycélium aérien et végétatif (figure 09),

Parmi ces isolats d’actinomycètes quatre souches ont prouvé activité cellulase prometteuse, ces souches qui se sont révélées actives ont fait l’objet d’une identification microscopique et biochimique afin de mieux les caractériser

**Analyse physico-chimique**

Les résultats recueillis (Tableau 04) révèlent un environnement affecté par l’apport d’eaux douces, ce qui pourrait être associé à des infiltrations terrestres ou à des pluies récentes. Cette possible dilution de l’environnement marin est illustrée par les faibles niveaux de salinité et de conductivité mesurés. Sur le plan thermique et chimique, un pH légèrement basique et une température tempérée indiquent des conditions caractéristiques d’une côte peu perturbée. Ces constats sont en accord avec les traits identifiés par Tabeche et al., (2021) dans les eaux côtières de l’ouest algérien, spécifiquement à Oran et Ghazaouet, où la salinité moyenne se situait autour de  $36,57 \pm 0,67$  PSU et  $36,84 \pm 0,78$  PSU respectivement, le pH tournant autour de 8.

**Tableau 04 :** les mesures des paramètres physico-chimiques

	Salinité	Conductivité(ms/cm)	Température (°C)	PH
<b>Solution de 20g</b>	2	3,99	23,3	8,01
<b>Solution de 10g</b>	0,7	1,749	24	8,02

**Isolement des souches d’actinomycètes :**

Après une incubation de 21 jours à 30°C, un total de 12 souches bactériennes a été isolé à partir de milieu de culture M2.

Le tableau 05 indique sans équivoque que toutes les souches d'actinomycètes marins ont été récupérées du milieu M2, alors qu'aucune souche n'a été isolée du milieu de Gausse. Cette variation indique que l'environnement M2 fournit des conditions de culture plus propices à l'expansion et à la séparation des actinomycètes marins, possiblement en raison de sa composition nutritive plus appropriée aux propriétés physiologiques de ces micro-organismes. Par conséquent, le milieu M2 s'avère plus adapté pour les recherches microbiologiques en environnement marin.

**Tableau 05 : Résultats des d'isolement des souches d'actinomycètes**

Les souches	Les milieux	
	M2	Gélose de gausse
ASM1	+	-
ASM4	+	-
S4	+	-
S5	+	-
S 6	+	-
S7	+	-
S9	+	-
S10	+	-
S11	+	-
SM11	+	-
S13	+	-
S14	+	-

(+) Il y une croissance

(-) Pas de croissance

Résultats des études macromorphologie :

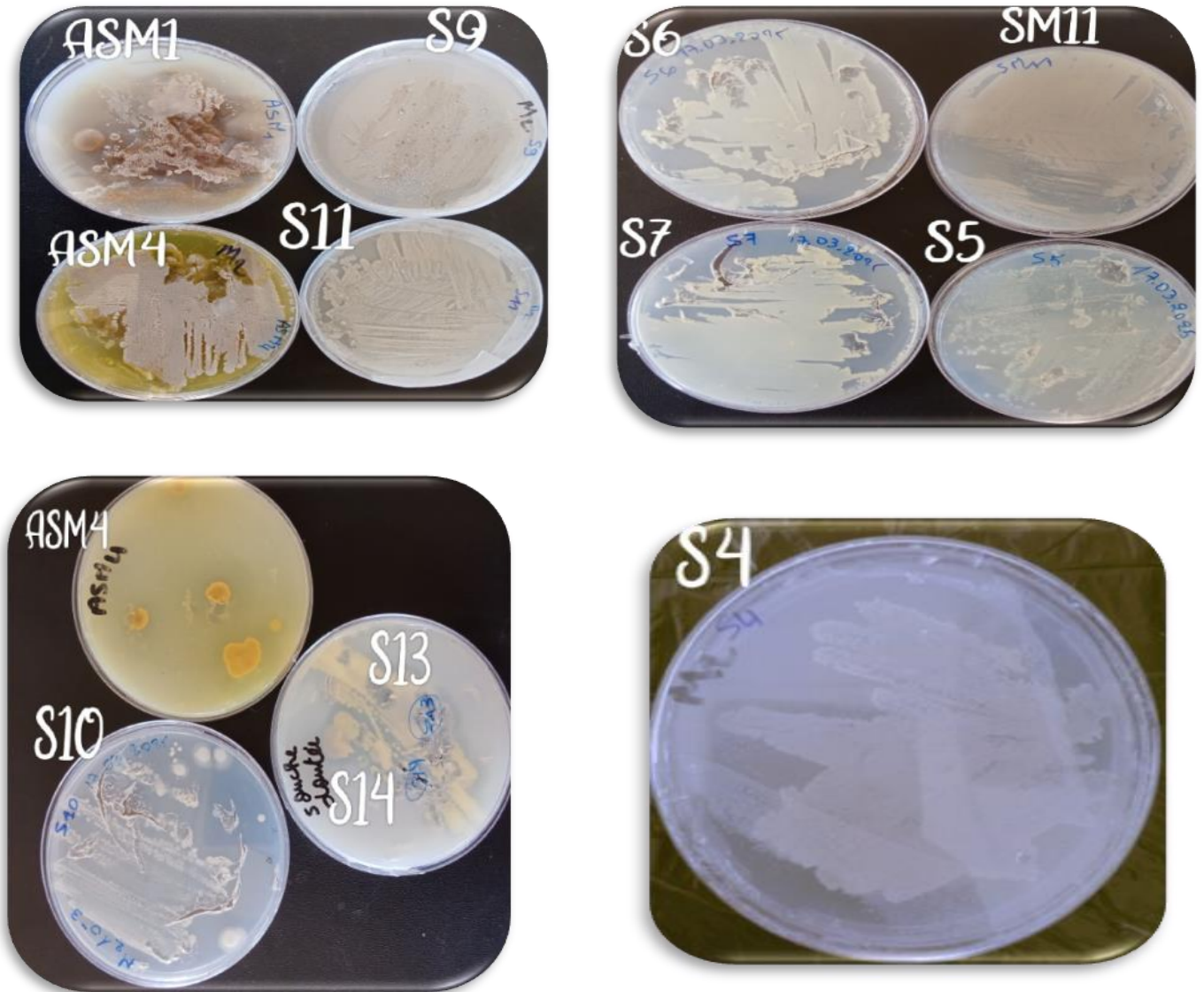
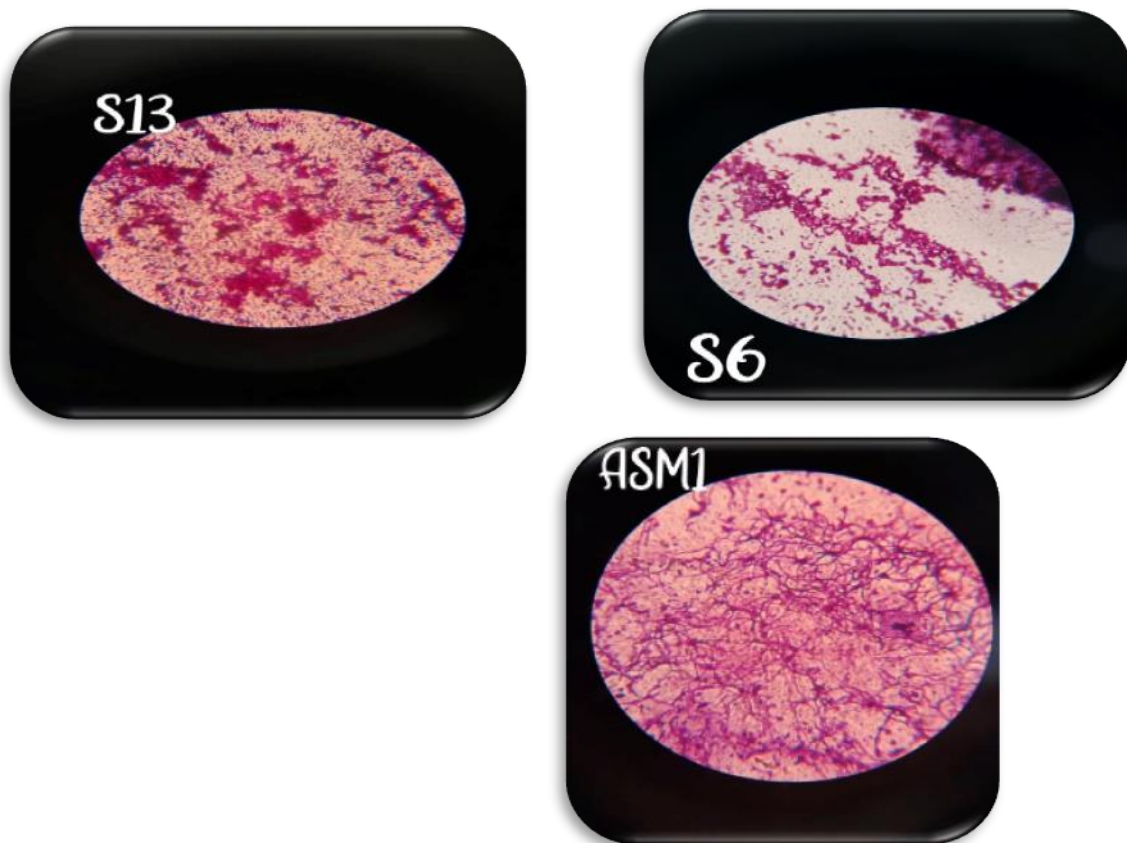


Figure 09 : aspect macroscopique après l'incubation (21jours).

**Résultats micromorphologie :**

**Figure 10 :** aspect microscopique de différentes souches d'actinomycètes après coloration de gram (G×100).

Selon Kitouni et al. (2005), l'analyse microscopique des bactéries actinomycètes, notamment les Streptomycètes, révèle une morphologie filamenteuse caractéristique, accompagnée de la présence de spores disposées isolément, en amas, ou encore sous forme de chaînes courtes, longues ou enchevêtrées. Ces observations confirment que les Actinomycètes appartiennent au phylum des Actinobactéries, un groupe de bactéries Gram positif. Cette classification corrobore l'appartenance de nos isolats à ce groupe bactérien (Figure 10).

**Résultats de la caractérisation biochimique :**

Les résultats des différents tests biochimiques appliqués sur les quatre isolats actifs sont résumés dans le tableau 06.

**Tableau 06 :** Résultats de la caractérisation biochimique

Souche	Citrate de Simone	Lait écrémé		TSI			Production de gaz	H2S	Catalase	Uréase	INDOL	Gélatinase
		Peptonisation	Coagulation	Saccharose	Lactose	Glucose						
ASM1	++	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+++
S14	-	+	+	+	+	+	+++	-	+	-	-	+
S13	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+
S6	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+++

(+) Action positive

(+++)  
Bonne action

(-) Action négative

L'éventail de tests biochimiques effectués sur les quatre souches bactériennes (ASM1, S14, S13 et S6) a révélé des profils métaboliques distincts.

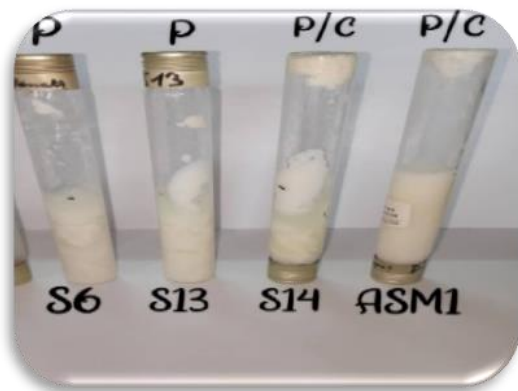
- Pour le test de citrate (milieu de Simmons) La souche ASM1 est la seule à avoir démontré une capacité à métaboliser le citrate comme unique source de carbone, les autres souches (S14, S13 et S6) n'ont pas montré de positivité, signifiant qu'elles ne parviennent pas à métaboliser ce composé dans les conditions d'expérimentation (Renaud, 2000).
- Nous avons noté une peptonisation du lait écrémé avec toutes les souches (ASM1, S14, S13 et S6), révélant une activité protéolytique hydrolysant la caséine. À l'inverse, seules les isolats ASM1 et S14 ont démontré une coagulation qui se traduit par une attaque enzymatique du lactose (Marchal et al, 1991).
- Toutes les souches (ASM1, S14, S13, S6) ont démontré une fermentation favorable du glucose, du saccharose et du lactose, ce qui indique une large capacité de fermentation et une utilisation efficace des sucres simples et disaccharides (Lehman.,2016). Ce profil indique que ces souches possèdent un métabolisme enzymatique apte à utiliser divers glucides, ce qui témoigne d'une flexibilité métabolique notable, surtout chez les actinomycètes. En ce qui concerne la production de gaz, seule la souche S14 a démontré une production significative, indiquant une fermentation caséines, alors que les autres souches (ASM1, S13, S6) n'ont pas présenté de résultats positifs pour ce critère. Toutes les souches ont montré un test négatif pour la production de H<sub>2</sub>S, ce qui confirme l'absence de réduction des composés soufrés (Holt et al.,1994).
- Catalase : positive seulement chez S14, ce qui reflète une capacité à dégrader le peroxyde d'hydrogène.

Selon Qiong Ying et al (2012) les actinomycètes sont aérobies à catalase positive.

- L'activité uréase (ou uréasique) : selon nos résultats aucune souches n'a révélé une activité uréase, le test positif de l'uréase se révèle par un virage de couleur en rouge (une couleur inchangée du milieu ou un jaunissement s'interprète comme un résultat négatif (Marchal et al, 1991). Après l'ajout du réactif de Kovacs, aucune des souches testées n'a montré l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu, indiquant une absence de production d'indole. Cette

absence de coloration suggère que les souches (ASM1, S14, S13, S6) ne possèdent pas l'enzyme tryptophanase, responsable de la dégradation du tryptophane en indole.

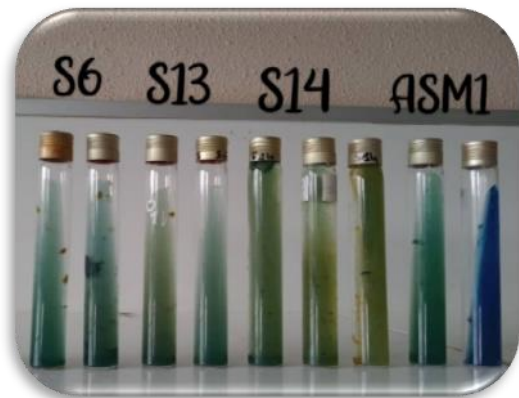
- Gélatinase : Le test de gélatinase a révélé que les souches isolées génèrent des enzymes qui peuvent décomposer la gélatine, témoignant d'une activité protéolytique hors de la cellule. La American Society for Microbiology décrit bien ce genre de réaction (Dela Cruz, 2012).



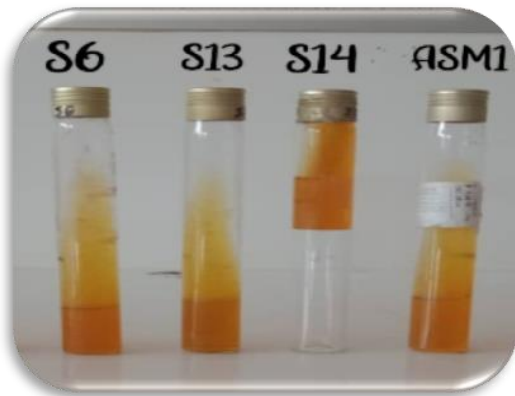
Test de lait écrémé :

C :coagulation

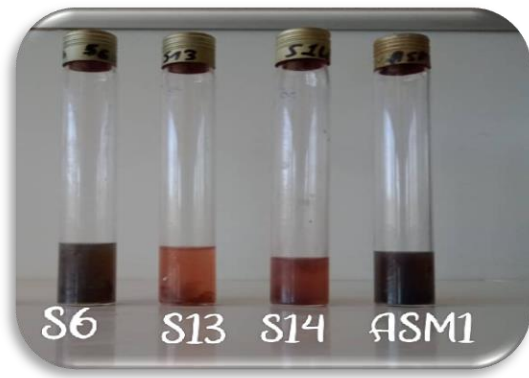
P :peptonisation



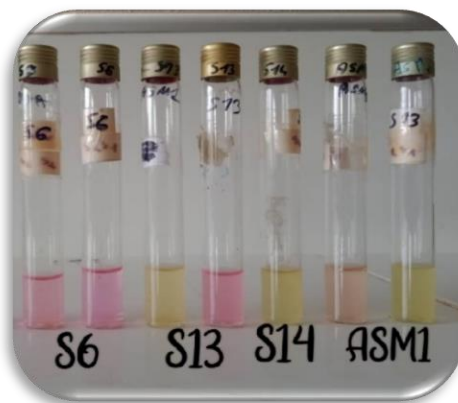
Test de citrate de simone



Test de TSI



Test gélatinase

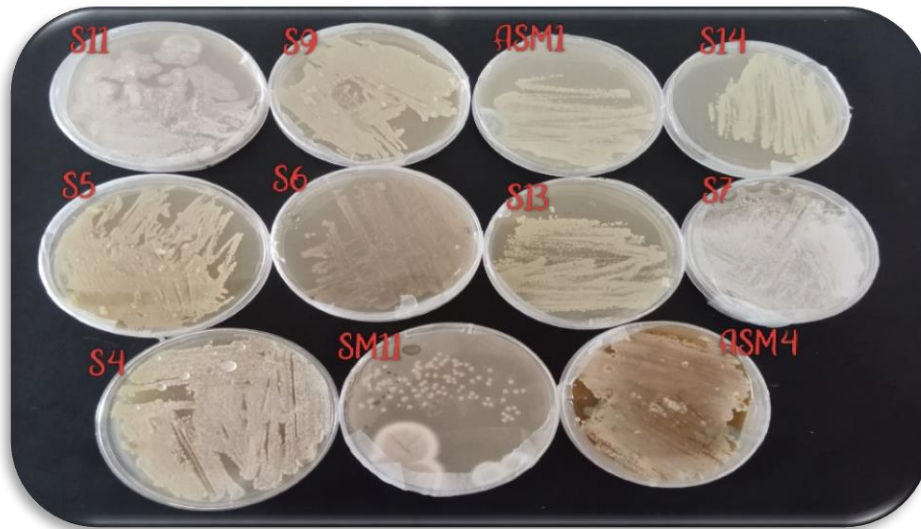


Test de Urée-INDOL

Figure 11 : résultats des caractérisations biochimiques

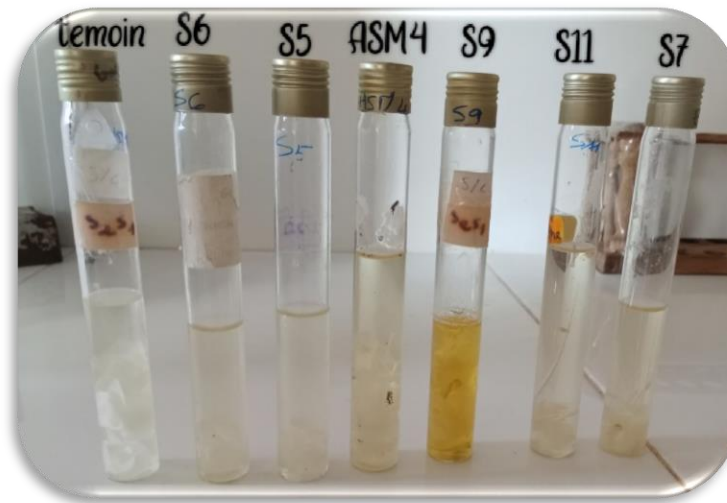
### Résultats de test qualitatif de HEC :

Dans le cadre de cette étude, 12 souches d'actinomycètes ont été initialement isolées à partir des sédiments. Pour évaluer leur capacité à dégrader la cellulose, un test enzymatique a été réalisé sur un milieu gélosé contenant du HEC (Hydroxyéthylcellulose) comme unique source de carbone.



**Figure 12 :** Résultats de test de cellulase sur le milieu 01 (substrat cellulose HEC).

Les observations effectuées sur le milieu gélosé supplémenté en HEC (Lugani et al., 2015) ont révélé une croissance notable de l'ensemble des souches d'actinomycètes testées. Cette prolifération indique leur capacité à métaboliser le HEC en tant que source unique de carbone, suggérant ainsi un potentiel enzymatique significatif dans l'hydrolyse de la cellulose.

**Activité papier filtre (PFU) :**

**Figure 13 :** Résultats de test de la cellulose (PFU).

La mise en évidence d'une activité cellulase sur le milieu supplémenté en HEC par le rouge Congo à montrer que **4 souches** parmi les 12 isolats présentaient une activité cellulase significative qui apparait par des zones claires autour des colonies. Ces halos translucides indiquent une hydrolyse du HEC, traduisant la production d'enzymes cellulases par ces souches, ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Kasana *et al.* (2008), qui ont recommandé l'utilisation de ce test comme méthode de criblage primaire des souches d'actinomycètes productrices de cellulase.

Le tableau suivant représente les souches qui ont montré une activité cellulasique, ainsi que les diamètres des zones claires mesurées.

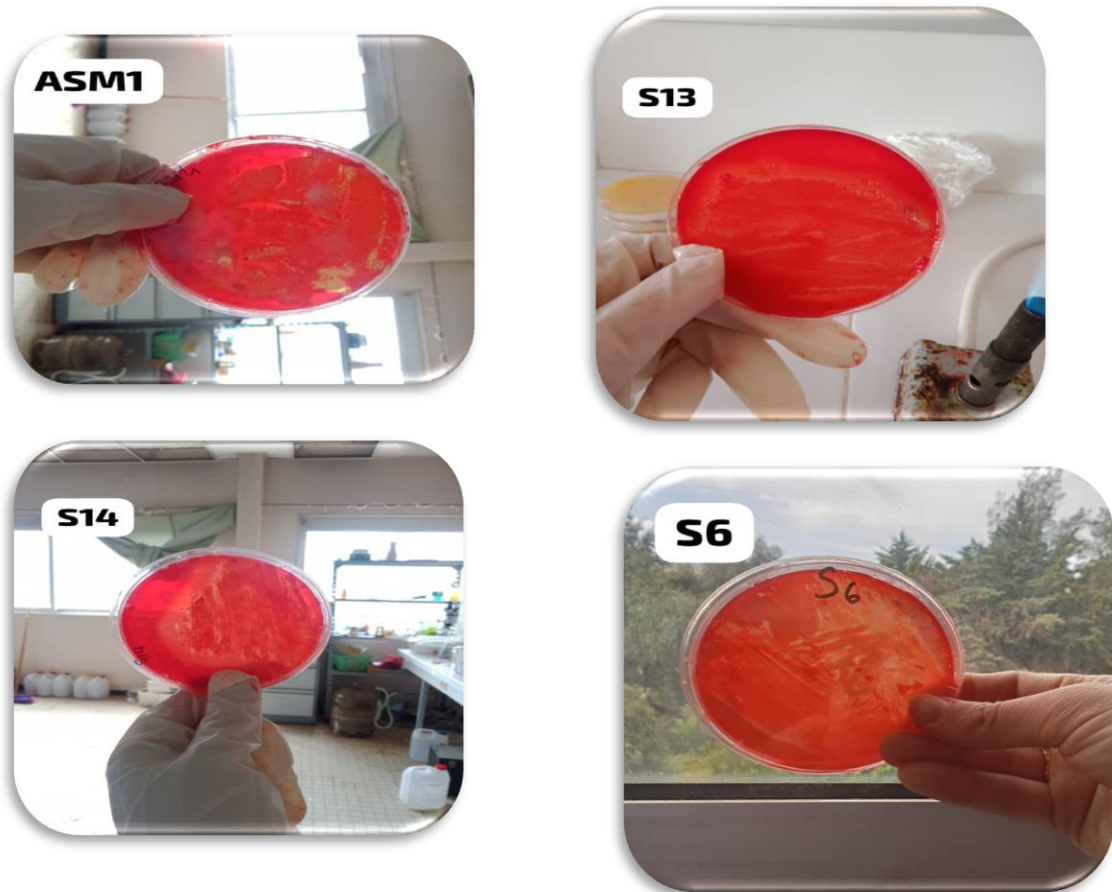
**Tableau 07** : Résultats de criblage primaire (Activité endoglucanases).

Souche	Activité cellulasique	Diamètres de la zone (mm)
ASM1	+	9
ASM4	-	0
S14	+	6
S13	+	9
S11	ND	0
SM11	ND	0
S10	-	0
S9	-	0
S7	ND	0
S6	+	7
S5	-	0
S4	-	0

ND : non déterminé

(+) Il y a une activité cellulase.

(-) absence d'activité cellulase.



**Figure 14** : Détection de l'activité cellulase par coloration au rouge Congo : mise en évidence les zones claires.

L'apparition de zones claires autour des quatre souches testées (S6, S13, ASM1 et S14) sur le milieu supplémenté en hydroxyéthylcellulose témoigne d'une activité cellulase. Toutefois, les souches ASM1 et S13 se distinguent par une zone de dégradation nettement plus étendue comparativement à celle observée chez les isolats S14 et S6. Cette variation dans la taille des zones claires pourrait résulter d'une production enzymatique plus abondante, d'une meilleure efficacité catalytique ou encore d'une diffusion plus efficace de la cellulase dans le substrat (Castaneda\_Garcia et al.,2023) Autrement dit, une zone de clairance plus large reflète une hydrolyse plus poussée de la cellulose (Sanglier,1993), traduisant une activité enzymatique accrue.

Après le criblage primaire de l'activité cellulase sur le milieu supplémenté en HEC, un repiquage a été effectué sur le même milieu mais en bouillon et ceci afin de quantifier l'enzyme cellulase produite pour chaque souche

#### **Test quantitatif de HEC (1,4- $\beta$ endoglucanases)**

Après la centrifugation de la culture bactérienne un test au rouge Congo a été réalisé sur le culot et le surnageant issus du milieu contenu le HEC ; cette étape visait à déterminer la localisation de l'activité cellulasique. Les résultats ont révélé que l'activité cellulase étaient plus marquée au niveau du culot, indiquant que l'activité enzymatique était principalement associée à la fraction cellulaire.

Cette observation est cohérente avec certaines études antérieures qui ont montré que chez plusieurs micro-organismes, les cellulases peuvent rester partiellement liées aux structures cellulaires (**Zahou et al., 2011**) les culots des deux milieux ont été récupérés et testés à l'aide du réactif de DNS une méthode classique permettant de mesurer les sucres réducteurs libérés par l'action enzymatique. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 540 nm, ce qui permet de quantifier l'activité enzymatique exprimée en unités cellulasique (U/ml). Cette méthode, développée par Miller (1959), reste une référence dans l'évaluation de l'activité des cellulases.

#### **La gamme d'étalonnage :**

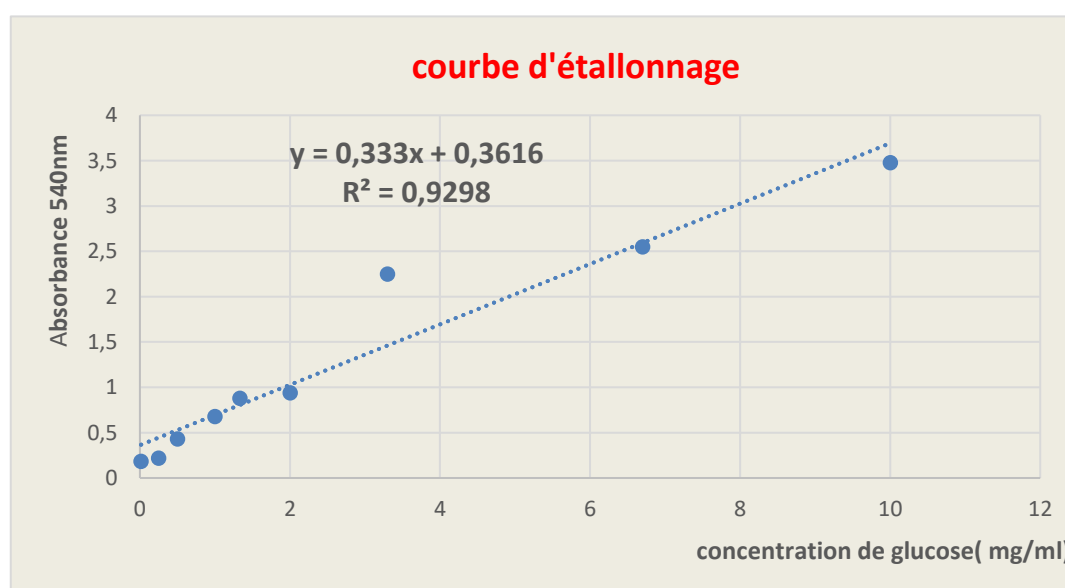
Dans le cadre de cette partie, nous avons réalisé la courbe d'étalonnage nécessaire à la quantification du glucose libéré, indicateur de l'activité enzymatique. Pour ce faire, des solutions de glucose de concentrations connues ont été préparées, puis leur absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 540 nm à l'aide du spectrophotomètre. Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe d'étalonnage (absorbance en fonction de la concentration en glucose), qui servira par la suite à déterminer, par interpolation, les concentrations de glucose produites dans les essais enzymatiques.

Ce tableau présente les valeurs d'absorbance mesurées à 540nm pour différentes concentrations standards de glucose. Ces données ont servi à l'élaboration de la courbe d'étalonnage.

**Tableau 08** : représente l'absorbance des solution glucose

Concentration glucose(mg/ml)	10	6,7	3,3	2	1,33	1	0,5	0,25	0,015
Absorbance	3,48	2,55	2,25	0,94	0,88	0,68	0,43	0,218	0,184

**La courbe d'étalonnage réalisé avec du glucose :**



**Figure 15** : courbe d'étalonnage réalisé avec du glucose.

Les résultats du test quantitatif de la cellulase vis-à-vis le premier substrat l'hydroxyéthylcellulose (HEC) par la méthode DNS n'ont pas été reproductibles, les valeurs d'absorbances étaient faibles, dont nous avons suggéré que les extrais enzymatiques étaient de faibles concentrations ce qui à empêcher leur quantification, l'optimisation des conditions de culture est une étape primordiale dans la production de la cellulase, cela a été confirmé par l'étude menée par Islam et al,2019.

**Test quantitatif du papier filtre :**

Le tableau ci-après présente les valeurs d'absorbances correspondant aux concentrations de glucose libéré par chaque souche lors de la dégradation du papier filtre. Ces données ont ensuite permis le calcul de l'activité enzymatique (U/ml).

**Tableau 09** : résultats de mesure de l'activité enzymatique

<b>Souche cellulase (PF)</b>	<b>S9</b>	<b>S7</b>	<b>ASM1</b>
<b>Absorbance</b>	0,958	1,125	0,906
<b>concentration glucose (PF)</b>	1,790755955	2,29221375	1,63461341
<b>U/ml(enzyme)</b>	0,33132696	0,42410704	0,30243735

L'activité enzymatique mesurée sur papier filtre par la méthode DNS a montré un niveau modéré, reflétant la capacité relativement limitée des souches à produire de la cellulase. Cette performance peut être attribuée à des conditions de culture sous-optimales, en termes de pH, de température et de temps d'incubation, ainsi qu'à la qualité des sources de carbone et d'azote. Plusieurs études indiquent que l'optimisation de ces facteurs par des méthodologies statistiques telles que la conception composite centrale (CCD) peut améliorer significativement la production de Carboxyméthylcellulase. A titre d'exemple, Deka et al. (2011) ont enregistré une augmentation d'environ 33 % de l'activité enzymatique de *Bacillus subtilis* AS3 après modification des conditions de culture, notamment du pH, de la température et de l'agitation. Ces résultats soulignent l'importance d'ajuster les conditions environnementales pour améliorer les performances enzymatiques, suggérant que la production de cellulase chez les souches d'actinomycètes isolées dans notre étude pourrait être améliorée par l'adoption de stratégies similaires.

$$\text{Activité enzymatique(U/ml)} = \text{glucose}/0,18016 \times \text{volume} \times \text{temps}$$

$$\text{Volume}=0,5\text{ml}$$

$$\text{Temp}=60\text{minutes}$$

**(Selon Ghose,1987)**

---

# Conclusion

L'objectif de ce travail est l'isolement et l'identification des souches d'actinomycètes dotées d'une activité enzymatique cellulosique à partir des sédiments de plage El Ouardania Tlemcen.

Au total, douze souches ont été isolées exclusivement à partir du milieu M2, dans des conditions favorables à la croissance des actinomycètes. L'activité cellulosique de ces souches a été évaluée sur deux milieux contenant des substrats différents : l'hydroxyéthylcellulose (HEC) et le papier filtre, après incubation à 30 °C. Suite à la coloration au rouge Congo, quatre souches ont montré une activité cellulosique significative, déterminée par la présence d'un halo de dégradation clair autour des colonies, traduisant l'hydrolyse du substrat cellulosique.

La quantification de cette activité a été réalisée sur le culot de culture, qui a présenté une activité enzymatique plus marquée que le surnageant. L'absorbance a été mesurée à 540 nm selon la méthode DNS (acide 3,5-dinitrosalicylique), permettant d'estimer la concentration en sucres réducteurs libérés.

Cette analyse quantitative a été appliquée uniquement aux cultures développées sur le milieu contenant du papier filtre comme substrat, en raison des valeurs très faibles enregistrées sur le milieu à base de HEC.

Par la suite, l'identification des quatre souches sélectionnées a été entreprise à travers une caractérisation macroscopique, microscopique ainsi qu'une série de tests biochimiques permettant de préciser leurs principales caractéristiques phénotypiques.

Les actinomycètes, en particulier ceux appartenant au genre *Streptomyces*, sont reconnus pour leur capacité à produire une large gamme d'enzymes extracellulaires, dont les cellulases. Ces dernières jouent un rôle clé dans la dégradation des polysaccharides complexes tels que la cellulose, constituant principal de la matière végétale.

La capacité des actinomycètes à hydrolyser la cellulose repose sur leur aptitude à coloniser des milieux riches en matières organiques, notamment les sols, où ils participent

activement au cycle du carbone. Cette relation étroite entre les actinomycètes et la production de cellulases revêt une grande importance, tant sur le plan écologique, en contribuant à la décomposition naturelle des déchets lignocellulosiques, que sur le plan biotechnologique, notamment dans les domaines de la valorisation des biomasses, la production de bioéthanol, et le traitement des déchets agricoles. Ainsi, l'identification de souches actinomycètes cellulolytiques ouvre des perspectives intéressantes pour leur exploitation dans diverses applications industrielles durables (Berdy,2005).



# **Références bibliographiques**

---

---

## A

Adney, B., & Baker, J. (2008). Measurement of cellulase activities: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Technical Report No. NREL/TP-510-42628). National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, CO. Retrieved from.

Arndt, S., Jørgensen, B. B., LaRowe, D. E., Middelburg, J. J., Pancost, R. D., & Regnier, P. (2013). Quantifying the degradation of organic matter in marine sediments: A review and synthesis. *Earth-Science Reviews*, 123, 53–86.

## B

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., ... & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43

Barakate, M., Ouhdouch, Y., Oufdou, K. H., & Beaulieu, C. (2002). Characterization of rhizospheric soil *Streptomyces* from Moroccan habitats and their antimicrobial activities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(1), 49–54.

Belyagoubi, L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat, Université Aboubaker Belkaïd - Tlemcen.

Bérdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1), 1–26.

Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes: Benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis*, 111, 458–467.

Bibra M., Kavitha M.S., Gunasekaran P. (2022). A comprehensive review on strategic study of cellulase producing marine actinobacteria for biofuel applications. *Biotechnology Reports*, 33, e00742.

---

Bouaziz, S. (2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de Doctorat ès Sciences, Université Kasdi Merbah - Ouargla.

Boudemagh, A. (2007). Isolement, à partir des sols sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques : identification moléculaire de souches actives (Thèse de Doctorat d'État). Université Mentouri Constantine.

Boudjelal-Bencheikh. (2012). Taxonomie et antagonisme des actinothalophiles d'origine saharienne et caractérisation des composés bioactifs sécrétés par *Actinokineospora* sp. AH97. Thèse de Doctorat, Université (nom à préciser), Faculté des Sciences.

### C

Castaneda-García, A., Olmedo-Alvarez, G., & Barona-Garcia, M. (2023). Systematic bioprospection for cellulolytic actinomycetes in the Chihuahuan Desert: isolation and enzymatic profiling. *Peer J*, 11, e14532.

Collins, M. D., & Jones, D. (1981). Distribution of isoprenoid quinone structural types in bacteria and their taxonomic implications. *Microbiological Reviews*, 45, 316–354.

### D

Deka, D., Jawed, M., Goyal, A., Rathore, A. S., & Lal, R. (2011). Enhancement of cellulase activity from a new strain of *Bacillus subtilis* by medium optimization and analysis with various cellulosic substrates. *Enzyme Research*, 2011, Article ID 151656.

Dela Cruz, T. E. E. (2012). Gelatin hydrolysis test protocol. *American Society for Microbiology*.

Djaballah, C. (2010). Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la Sebkhia de Ain M'lila. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine.

---

---

## E

Ejaz, U., Sohail, M., & Ghanemi, A. (2021). Cellulases: From Bioactivity to a Variety of Industrial Applications. *Biomimetics*, 6(3), 44.

## G

Gahfif, O. (2021). Isolement et identification des champignons producteurs d'enzymes [Thèse de doctorat, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arréridj]. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Département des Sciences Biologiques.

Ghorbani-Nasrabadi R., Greiner R., Alikhani H.A., Hamedi J. (2013). Distribution of actinomycetes in different soil ecosystems and effect of media composition on extracellular phosphatase activity. *\*Journal of Soil Science and Plant Nutrition\**, 13(1): 223–236.

Ghose, T. K. (1987). Measurement of cellulase activity. *Pure and Applied Chemistry*, 59, 257–268.

Goodfellow, M. (2012). Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology* (pp. 33–2028). Springer, New York.

Gupta, R., Mehta, G., Deswal, D., Sharma, S., Jain, K. K., Singh, A., & Kuhad, R. C. (2013). Cellulases and their biotechnological applications. In R. C. Kuhad & A. Singh (Eds.), *Biotechnology for Environmental Management and Resource Recovery* (pp. 89–132). Springer India.

## H

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9<sup>e</sup> éd.). Baltimore: Williams & Wilkins.

Hu, G., Heitmann, J. A., & Rojas, O. J. (2009). Quantification of cellulase activity using the quartz crystal microbalance technique. *Analytical Chemistry*, 81(5), 1872–1880.

---

## I

Islam, M. T., Hossen, M. J., Uddin, M. N., & Hossain, M. M. (2019). Optimization of fermentation condition for cellulase enzyme production from *Bacillus* sp. *Malaysian Journal of Halal Research*, 2(1), 15–21.

## K

Kalakoutskii, L. V., & Agre, N. S. (1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriological Reviews*, 40(2), 469–512.

Kasana, R. C., Salwan, R., Dhar, H., Dutt, S., & Gulati, A. (2008). A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. *Current Microbiology*, 57(5), 503–507.

Kitouni, M. (2005). Identification d'une Actinomycétales productrice d'antibactériens, isolée de sols arides des régions de Biskra. *Sciences & Technologie*, n°22, 48–54.

Korish, M. (2003). Production, purification, propriétés et application des cellulases issues d'une souche sauvage d'un isolat de levure (Thèse de doctorat). Université Johannes Gutenberg de Mayence, Allemagne.

Krause, D. O., Denman, S. E., Mackie, R. I., Morrison, M., Rae, A. L., & Attwood, G. T. (2003). Opportunités d'améliorer la dégradation des fibres dans le rumen. *FEMS Microbiology Reviews*, 27(5), 663–693.

Kuhad, R. C., Gupta, R., & Singh, A. (2011). Microbial cellulases and their industrial applications. *Enzyme Research*, 2011, Article ID 280696.

---

---

## L

Lakhundi, S., Ruqaiyyah, S., & Naveed, A. K. (2015). Cellulose degradation: a therapeutic strategy in the improved treatment of *Acanthamoeba* infections. *Parasites & Vectors*, 8, 23.

Lanteigne Roch, L. M. (2010). Utilisation des enzymes lipase et laccase pour améliorer la blancheur d'une pâte désancrée de papier journal. Thèse de doctorat, Université du Québec, Canada.

Lehman D., 2005. Triple Sugar Iron (TSI) Agar Protocols. American Society for Microbiology, 1 Sept. Available at: ASM website (PDF) [Accessed 13 Jun. 2025].

Lugani, Y., Singla, R., & Sook, B. S. (2015). Optimization of cellulase production from newly isolated *Bacillus* sp. Y3. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 5(11), 264.

## M

Manivasagan, P., Gnanam, S., & Sivakumar, K. (2010). Isolation, identification and characterization of multiple enzymes producing actinobacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 4(14), 1550–1559.

McCaig, A. E., Grayston, S. J., Prosser, J. I., & Glover, L. A. (2001). Impact of cultivation on species composition of soil bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 35(1), 37–48.

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428.

## N

Naikpatil, S. V., & Rathod, J. L. (2011). Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes. *Journal of Ecobiotechnology*, 3(10), 48–53.

---

---

## P

Pandey, B., Ghimire, P., & Agrawal, V. P. (2004). Studies on the antibacterial activity of the actinomycetes. *Journal of Applied Microbiology*, 23, 44–53.

## R

Rangaswami, H., Bulbule, A., & Kundu, G. C. (2004). Nuclear factor-inducing kinase in osteopontin-induced NF- $\kappa$ B-mediated promatrix metalloproteinase-9 activation. *Journal of Biological Chemistry*, 279(37), 38921–38935.

Reffas, F. Z. I. (2017). Isolement et caractérisation de bactéries productrices de cellulase. Thèse de Doctorat, Université Djilali Liabès – Sidi Bel Abbés

.

Renaud, F. N. R. (2000). Précis de bactériologie clinique. Paris : ESKA.

## S

Saranraj, P., Stella, D., & Reetha, D. (2012). Microbial cellulases and its applications. *International Journal of Biochemistry and Biotechnology Science*, 1, 1–12.

Schomburg, D., & Salzmann, M. G. B. F. (1991). Cellulase. In *Enzyme Handbook* (Vol. 4, pp. 1–11). Springer-Verlag Berlin.

Sederberg, P. B., Kahana, M. J., Howard, M. W., Donner, E. J., & Madsen, J. R. (2003). Theta and gamma oscillations during encoding predict subsequent recall. *Journal of Neuroscience*, 23(34), 10809–10814.

Sharma, M., Dangi, P., & Choudhary, M. (2014). Actinomycetes: Source, identification, and their applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), 801–832.

---

Subramani R., Aalbersberg W.C. (2013). Culturable rare actinomycetes: diversity, isolation and marine natural product discovery. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 9291–9321.

Szydlowski, L., Boschetti, C., Crisp, A., Barbosa, E. G. G., & Tunnacliffe, A. (2015). Multiple horizontally acquired genes encode cellulolytic enzymes in the bdelloid rotifer. *Gene*, 566(2), 125–137.

### T

Tabeche, A., Belhoucine, F., Bouhadiba, S., Alioua, A., Belhabib, L., & Rouabhi, Y. L. (2021). Evaluation of the metallic trace element contamination of common sole (*Solea solea* L.) by the western Algerian coast. *Applied Ecology and Environmental Research*, 19(6), 4641–4664.

Teather, R. M., & Wood, P. J. (1982). Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology*, 43(4), 777–780.

### W

Waksman, S. A. (1967). Distribution, isolation and methods of study. In *The Actinomycetes* (pp. 9–21). New York: The Ronald Press Company.

Waksman, S. A., & Henrici, A. T. (1943). The nomenclature and classification of the actinomycetes. *Journal of Bacteriology*, 46, 337–341.

---

## Z

Zinedine, A. (2004). Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines. Thèse de doctorat en microbiologie, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc.

### Sites web

<https://images.app.goo.gl/sBrn7vAFAenzqmdz9>

<https://mapcarta.com/fr/N857590391>

<https://plagesalgerie.jimdofree.com>

---

# **Annexes**

---

## Annexe 01 :

Milieux de cultures :

### M2 :

- Amidon 10g
- Extrait de levure 0,2g
- Extrait de viande 0,1g
- KNO<sub>3</sub> 2g
- Na Cl 2g
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2g
- MgSO<sub>4</sub> 0,05g
- CaCO<sub>3</sub> 0,02g
- FeSO<sub>4</sub> 0,01g
- Agar 15g

### Gélose de Gausse :

- Amidon 20g
- KNO<sub>3</sub> 1g
- Na Cl 0,5g
- MgSO<sub>4</sub> 0,5g
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,5g
- FeSO<sub>4</sub> 10mg
- Agar 15g

Milieux d'enrichissement :

### Milieu 01 :

- Peptone 1%
- Papier filtre 1%
- K<sub>2</sub>HfO<sub>4</sub> 0,2%
- Agar 1%
- MgSO<sub>4</sub> 0,03%
- (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25%
- Gélatine 0,2%

---

**Milieu 02 :**

- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  : 0,5g/l
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : 10g/l
- $\text{K}_2\text{HPO}_4$  : 5g/l
- $\text{MgSO}_4$  : 0,1g/l
- Na Cl : 3g/l
- Extrait de levure : 10g/l
- Cellulose : 3g/l
- Agar 15g/l

**Annexe 02 :**

Solutions :

**Eau Physiologique :**

- Na Cl 0,9g
- Eau distillé 100ml

**Tampon Citrate :**

- Acide citrique 10,507g
- Eau distillé 100ml

**Réactif DNS :**

- DNS 2g
- Soude Na OH 3,2g
- Tartrate double Sodium potassium 60g
- Eau distillé 100ml

**Solution Substrat à 1% :**

- Cellulose 1g
- Tampon citrate 100ml

---

### **Solution rouge Congo 1%**

- Rouge Congo 1g
- Eau distillé 100ml

### **Solution Na OH à 1M**

- Na OH 4g
- Eau distillé 100ml

Solutions glucose :

### **Solution mère :**

- Glucose 1,8g
- Eau distillé 100ml

### **Coloration de gram :**

1. Préparer un frottis bactérien sur une lame propre.
2. Recouvrir le frottis avec le violet de gentiane (colorant basique) et laisser agir pendant 1 minute.
3. Eliminer l'excès de colorant en ajoutant la solution de Lugol ; laisser agir pendant 30 secondes.
4. Rincer délicatement à l'eau distillé
5. Décolorer avec de l'alcool à 90°, en versant doucement sur lame
6. Rincer une seconde fois à l'eau distillé pour stopper la décoloration.
7. Appliquer la fuchsine (colorant secondaire) et laisser agir 1 minute.
8. Rincer à nouveau à l'eau distillé.
9. Sécher le frottis en le tapotant légèrement entre deux feuilles de papier absorbant.
10. Déposer une goutte d'huile à immersion sur la lame, puis observer au microscope avec l'objectifs x100 à immersion.

## Résumé :

Cette étude porte sur l'isolement et l'identification de souches d'actinomycètes présentant une activité enzymatique de type cellulase. Douze souches ont été isolées à partir d'échantillons prélevés sur la plage de Wardania (Tlemcen), en suivant une procédure rigoureuse de stérilisation. Les souches obtenues présentent des caractéristiques phénotypiques typiques des actinomycètes, à savoir des bactéries filamenteuses aérobies, sporulées, à Gram positif, et à croissance lente (15 à 21 jours).

L'évaluation de l'activité cellulasique de ces isolats a été réalisée sur deux milieux contenant des substrats cellulosiques différents : le papier filtre et l'hydroxyéthylcellulose (HEC). Deux types de tests ont été mis en œuvre : un test qualitatif basé sur la coloration au rouge Congo permettant de visualiser les zones de dégradation (halos clairs), et un test quantitatif visant à mesurer l'activité enzymatique à travers l'absorbance et la quantité de glucose libéré.

Les résultats ont révélé que quatre souches présentaient une activité enzymatique significative, notamment sur le milieu contenant le papier filtre comme substrat.

L'identification microscopique a confirmé leur caractère Gram positif, et des tests biochimiques complémentaires ont été réalisés pour mieux caractériser ces isolats.

En conclusion, les actinomycètes isolés dans cette étude ont démontré une capacité certaine à dégrader la cellulose via la production de cellulase. Ces observations sont en accord avec des travaux antérieurs ayant mis en évidence le potentiel cellulasique des actinomycètes.

## Mots clés :

Actinomycètes ; isolement ; enzyme ; cellulase ; activité cellulasique.

## المخلص:

ركزت هذه الدراسة على عزل وتحديد سلالات من البكتيريا الشعاعية تُبدي نشاطاً إنزيمياً شبيهاً بالسليولوز. عُزلت اثنتي عشرة سلالة من عينات جُمعت من شاطئ الوردانية (تلمسان)، بعد تعقيم دقيق. أظهرت السلالات الناتجة خصائص نمطية نموذجية للبكتيريا الشعاعية: بكتيريا هوائية، مُكوّنة للأبواغ، موجبة الجرام، خيطية، بطيئة النمو (15 إلى 21 يوماً).

قُيِّم نشاط السليولوز لهذه العزلات على وسطين يحتويان على ركائز سليولوزية مختلفة: ورق الترشيح وهيدروكسي إيثيل السليولوز (HEC). طُبِّق نوعان من الاختبارات: اختبار نوعي يعتمد على صبغة الكونغو الحمراء لتصوير مناطق التحلل (الهالات الشفافة)، واختبار كمي لقياس النشاط الإنزيمي من خلال الامتصاص وكمية الجلوكوز المُطلقة.

أظهرت النتائج أن أربع سلالات أظهرت نشاطاً إنزيمياً ملحوظاً، خاصةً على الوسط الذي يحتوي على ورق الترشيح كركيزة. أكد التشخيص المجهرى صفتها إيجابية الجرام، وأجريت اختبارات كيميائية حيوية إضافية لتوصيف هذه العزلات بشكل أعمق.

وفي الختام، أظهرت الفطريات الشعاعية المعزولة في هذه الدراسة قدرة واضحة على تحلل السليولوز عن طريق إنتاج إنزيم السليولاز. وتتوافق هذه الملاحظات مع الدراسات السابقة التي أبرزت قدرة الفطريات الشعاعية على تعزيز إنزيم السليولاز،

## الكلمات المفتاحية

اكتينوميستات، عزل، انزيم، سيلولاز، نشاط سيلولازي

## Abstract:

This study focuses on the isolation and identification of actinomycete strains exhibiting cellulase-like enzymatic activity. Twelve strains were isolated from samples collected from Wardania beach (Tlemcen), following a rigorous sterilization procedure. The resulting strains exhibit typical phenotypic characteristics of actinomycetes: aerobic, spore-forming, Gram-positive, filamentous bacteria with slow growth (15 to 21 days).

The cellulase activity of these isolates was assessed on two media containing different cellulosic substrates: filter paper and hydroxyethylcellulose (HEC). Two types of tests were implemented: a qualitative test based on Congo red staining to visualize degradation zones (clear halos), and a quantitative test to measure enzymatic activity through absorbance and the amount of glucose released.

The results revealed that four strains exhibited significant enzymatic activity, particularly on the medium containing filter paper as a substrate. Microscopic identification confirmed their Gram-positive character, and additional biochemical tests were performed to further characterize these isolates.

In conclusion, the actinomycetes isolated in this study demonstrated a clear ability to degrade cellulose via the production of cellulase. These observations are consistent with previous work that has highlighted the cellulase-promoting potential of actinomycetes.

## Key words:

Actinomycetes ; isolation ; enzyme ; cellulase ; cellulase activity