

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

THEME

**Isolement et criblage d'actinomycètes à activité
cellulolytique à partir du sol de la région de
Laghouat**

Rédiger par : Hadjer Boutte

Devant le jury composé de:

MADOURI Radouan	MAB	Président
BENACEUR Farouk	MCB	Examineur
MESSAOUDI Omar	MAA	Encadreur

Soutenu publiquement le:02/07/2019

Dédicace

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect,
la reconnaissance, pour toutes les personnes que j'aime.*

C'est tout simplement que je dédie ce travail à

Ma mère

Mon père

Mes sœurs et mon frère

Tout mes amis

HADJER

Remercîment

Je tiens dans un premier temps à remercier le Monsieur Messaoudi Omar, qui a accepté de diriger ce travail et a veillé à son bon déroulement, en m'apportant des critiques Constructives et des conseils pertinents

Mes remerciements les plus respectueux s'adressent à Monsieur

Benaceur Farouk et le monsieur Madouri Radouan qui me font l'honneur à juger ce travaille.

Et j'oublier pas également de remercier l'ensemble des enseignants qui ont contribués à mon formation tout au long de mon parcours pédagogique, que ce soit en Licence ou en Master.

Enfin je remercier toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Table des matières

Table des matières

Remercîment	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Revue Bibliographique	
1. Chapitre 1 : Les Actinomycètes	3
1.1 Définition des Actinomycètes	3
1.2 Caractéristiques des Actinomycètes	3
1.3 Taxonomie des Actinomycètes	4
1.4 Distribution des Actinomycètes dans la nature	5
1.5 Potentiel biotechnologique des Actinomycètes du sol	6
2. Chapitre 2 : La cellulose et les enzymes de cellulases	10
2.1 la cellulose	11
2.2 Les enzymes de cellulases	
2.3 Application industrielle de cellulase	12
Matériels et Méthodes	
1. L'échantillonnage	14
2. L'isolement des actinomycètes	15
2.1 Le prétraitement des échantillons du sol	15
2.2 préparation des dilutions et ensemencement	15
2.3 purification des isolats d'actinomycètes	15
3. Conservation	16
4. Mise en évidence de l'activité cellulolytique	16
5. L'observation microscopique	17
Résultats et Discussion	
1. Résultat d'isolement des actinomycètes	18
2. Résultat de l'activité cellulolytique	19
3. Diversité morphologique de souches isolées	22
Conclusion	26
Références bibliographiques	27
Résumé	

Liste des figures

Figure N 1:	coupe transversale d'une colonie d'actinomycète	4
Figure N 2:	structure de cellulose	11
Figure N 3:	le mode d'action de cellulase	11
Figure N 4:	la carte géographique de Laghouat montrant les sites d'échantillonnages	14
Figure N 5:	la Méthode d'ensemencement des souches d'actinomycètes différents sur le milieu CMC agar et le milieu Cellulose agar	16
Figure N 6:	les résultats de la distribution des actinomycètes à partir de cinq régions de la wilaya de Laghouat	18
Figure N 7:	Répartition de l'activité cellulolytique	21
Figure N 8:	l'activité cellulolytique de quelques souches d'actinomycètes sur le milieu CMC	22
Figure N 9:	l'activité cellulolytique de quelques souches d'actinomycètes sur le milieu cellulose agar	22
Figure N 10:	l'aspect morphologique de la souche T1	24
Figure N 11:	l'aspect morphologique de la souche A5	24
Figure N 12:	l'aspect morphologique de la souche A1	25
Figure N 13:	l'aspect macroscopique et microscopique de la souche H2	25
Figure N 14 :	l'aspect morphologique de la souche R5	26

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1	: la distribution de quelques genres d'actinomycètes dans la nature	6
Tableau 2	: l'application des actinomycètes dans différents domaines	7
Tableau 3	: Teneur en cellulose de différentes espèces végétales	10
Tableau 4	: l'application industrielle de la cellulase	12
Tableau 5	: le nombre des souches d'actinomycètes isolées à partir de chaque région	18
Tableau 6	: l'activité cellulitique des souches testées sur le milieu CMC obtenues à partir de chaque région	20

Liste des 'abréviations

Liste des abréviations

CAA	: Caséine Agar Amidon
CMC	: Carboxyle Méthyle Cellulose
GC	: Guanine-Cytosine
μL	: Microlitre
μg	: Microgramme

INTRODUCTION

Introduction

Les composés lignocellulosiques, sont des polymères composés de lignine, hémicellulose et de cellulose (**Mansora et al, 2019**). On les retrouve principalement dans la paroi cellulaire des végétaux. On estime que chaque année, 200 milliards de tonnes sont produites dans le monde (**Vazquez et al, 2018**).

La cellulose, est un glucide constitué d'une chaîne linéaire de D-glucose, est le polymère le plus abondant dans la nature (**Long et al, 2018**), sa structure très complexe rend leur dégradation difficile, ce qui favorise leurs accumulations dans la nature sous forme des déchets, en effet, les déchets celluloses peut avoir différentes origines, tel que, les palmiers, les déchets d'extraction des huiles à partir des olives, l'industrie sucrière, la fabrication des jus à partir des fruits ...etc.

L'émission des déchets lignocellulosiques dans la nature favorise l'apparition de la pollution, et la valorisation de ces molécules, soit pour l'alimentation animale ou comme une source de bioénergie en particulier le bioéthanol, est devenu une nécessité. En effet, l'énergie fossile, en particulier le pétrole et le gaz naturel, sont des sources d'énergie non renouvelables et les gisements qui les contiennent s'épuisent avec le temps. La tendance actuelle s'est orientée vers la recherche des sources d'énergie renouvelable, dont l'énergie issue de la biomasse. Le bioéthanol, est obtenu par fermentation alcoolique de glucose issue de la dégradation de cellulose en glucose, en revanche, cette hydrolyse est catalysé par des enzymes, appelées les cellulases (**Brumm, 2018**).

Les principales sources de ces enzymes sont les champignons, les protozoaires ainsi que certaines bactéries, dont les actinomycètes, bactéries à Gram positives avec un G+C élevés (**Barka et al, 2016**).

Parmi les approches utilisées dans les dernies années pour l'obtention des cellulase est l'isolement de nouvelles souches d'actinomycètes, à partir des écosystèmes, non exploité, qui ont une activité cellulolytique élevée.

Le sol de la région de Laghouat, sud Algérien, est un écosystème aride caractérisé par un sol pauvre en matière organique, peu de végétation, climat sec, avec une température élevée le jour et faible la nuit. Cette région non exploitée, peut-être une source importante pour les actinomycètes qui ont une activité cellulolytique.

Notre travail, vise à obtenir des souches d'actinomycètes à partir du sol de la région de Laghouat et l'évaluation de leurs activités cellulolytique, Pour atteindre cet objectif, notre travail devait passer par deux phases

Introduction

- Une étude bibliographique sur les caractères généraux des actinomycètes et les enzymes de cellulases.
- La deuxième partie (expérimentale) s'occupe de l'isolement et caractérisation morphologique de quelques souches d'actinomycètes isolées de sol de la région de Laghouat et évaluer leurs activités cellulolytique.

Revue
Bibliographique

1. Chapitre 1 : Les Actinomycètes

1.1. Définition des actinomycètes

Le nom **actinomycète** a été dérivé du grec "aktins" (un rayon) et "mykes" (champignon), et a les caractéristiques des deux microorganismes, des bactéries et des champignons (**Azman et al, 2015**).

Ce sont des bactéries à Gram positif avec un coefficient de Chargoff (G+C) élevé en leurs ADN, appartiennent au phylum d'actinobacteria, l'un des plus grands phylums des procaryotes (**Kumar et al, 2018**). Ils ont des hyphes filamenteux ramifiant qui ressemblent quelque peu au mycélium des champignons parmi lesquels ils ont été classés. En fait, ils ne sont pas liés aux champignons mais sont considérés comme des bactéries pour les raisons suivantes: premièrement, ils ont du peptidoglycane dans leurs parois cellulaires et deuxièmement, leur diamètre est d'environ 1 μ , alors que les champignons ont au moins deux fois cette taille (**Okafor, 2016**).

1.2. Caractéristiques des Actinomycètes

Les actinomycètes forment une branche phyllogénétique à part, ils sont caractérisés par une très grande diversité morphologique, pouvant aller de la forme cocci à la forme mycélienne parfaite (**Akond et al, 2016**).

Le diamètre des filaments des formes mycéliennes est toutefois environ deux fois plus faible (0,5 à 1,2 μ m) que celui des mycéliums de champignons. Ils sont généralement mésophiles, neutrophiles, non halophiles et non fixatrices d'azote, ils ont également des thermophiles, des psychrophiles, des alcalophiles, des acidophiles, des halophiles, des fixateurs d'azote, etc... (**Mohammadipanah et wink, 2016**).

La plupart des actinobactéries sont des chimioorganotrophes utilisant une grande variété de source de carbone et d'énergie y compris les polymères complexes (chitine, cellulose, lignine..) qui doivent d'abord être hydrolysés en monomère avant la mise en œuvre des mécanismes de production d'énergie (**Madigan et Martinko, 2012**).

Cette grande diversité métabolique fait que les actinobactéries soient retrouvées pratiquement partout dans l'environnement où elles ont pu coloniser plusieurs milieux (**Saker, 2015**), Dont la plupart sont des aérobies formant des mycéliums de substrat et des mycéliums aériens. Ils se reproduisent par fission binaire ou par la production des spores ou des conidies, la sporulation des Actinobactéries se fait par fragmentation et segmentation ou formation de conidies. L'aspect morphologique des actinobactéries est compact donnant un aspect

poudreux avec une surface sèche sur le milieu de culture et est fréquemment recouvert de mycélium aérien (**Ranjani et al, 2016**).

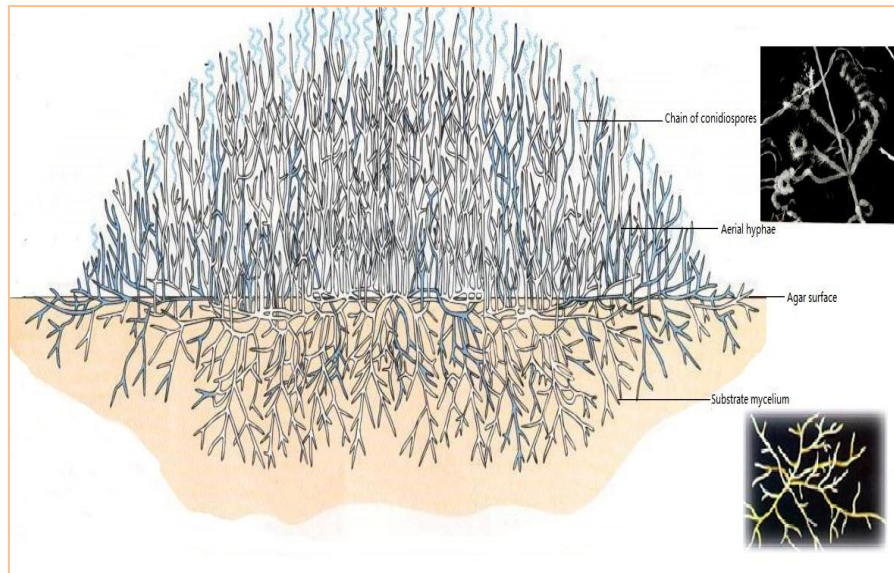


Figure 1 : coupe transversale d'une colonie d'actinomycète (**Prescott et al, 2018**).

1.3. Taxonomie des actinomycètes

La classification des actinomycètes ont été basées anciennement sur La première édition de bargey qui divise les actinomycètes en 7 sections basées principalement sur des propriétés telles que le type de paroi , la disposition des conidies , la présence ou l'absence d'un sporange (**Prescott et al,2003**), mais les caractères morphologique ne suffit pas de faire la distinction entre de nombreux genres, car certains sont semblables sur le plan morphologique, mais différent de leur composition chimique (**Wang ,2016**).

La recherche de méthodes de classification fiables reflétant les relations phylogénétiques/génomiques conduit à des modifications taxonomiques résultant dans le volume 5 du manuel, le phylum Actinobacteria comprend 6 classes, 23 ordres, 50 familles et 221 genres. Cependant, de nombreux nouveaux taxons continuent d'être découverts et cette liste est donc inévitablement incomplète (**Goodfellow et al, 2012**).

1.4. La distribution des actinomycètes dans la nature

Les actinomycètes sont largement répandus dans les écosystèmes terrestres et aquatiques. Bien que les membres de ce grand phylum existent en tant que saprophytes libres, commensal colonisent différents sites (les tissus, les organes...) ou partenaires symbiotiques des plantes, insectes, animaux aquatiques ainsi que des animaux terrestres et des êtres humains *Bifidobacterium and Corynebacterium* (Harvey1 et al, 2018).

On peut les trouver sous forme symbiotique avec les insectes comme le cas chez les pyrales (Pyrrhocoridae: *Pyrrhocoris apterus*) ou la colombe européen (Crabronidae: *Philanthus*) qui héberge des Streptomycètes producteurs d'antibiotiques pour protéger les larves de guêpe contre les infections fongiques (Benndorf, 2018).

Et on peut également trouver sous forme symbiotique avec les plantes comme les études de (Shan et al ,2018) montres, Qui isolée *Streptomyces sp.* KIB-H033 à partir de *Camellia sinensis* (Des plantes de thé).

Les actinomycètes sont uniques dans leurs besoins en matière d'habitat par l'exp :
Streptomyces sp préfère les sols riches en compost.

Micromonospora sp préfère les habitats aquatiques.

Dactylosporangium préfère les sols avec plus de feuilles mortes.

- Un gramme de sol agriculture riche en peut contenir 10^4 à 10^5 de *micromonospora* et 10^6 *streptomyces* (Subramaniam, 2016).

L'une des raisons de leur nature omniprésente est leur unique cycle de développement, ces bactéries se développent pour former un mycélium de substrat et développer des spores lorsque l'environnement devient défavorable à la croissance (Lee, 2018).

Table 1 : la distribution de quelques genres d'actinomycètes dans la nature

(Saravanamuthu , 2010)

Genres d'actinomycètes	Pourcentage % de distribution dans la nature
<i>Streptomyces</i>	95.34
<i>Nocardia</i>	1.98
<i>Micromonospora</i>	1.40
<i>Thermonospora</i>	0.22
<i>Actinoplanes</i>	0.20
<i>Microbiospora</i>	0.18
<i>Streptosporangium</i>	0.10
<i>Actinomadura</i>	0.10
<i>Actinosynnema</i>	0.10
<i>Dactylosporangium</i>	0.06

1.5. Potentiel biotechnologique des actinomycètes du sol

Les actinomycètes sont largement répandus dans la nature et ont la capacité de produire de nombreuses substances biologiquement actives généralement accompagnée par la production des métabolites primaires et secondaires (Elbendary, 2017). Telles que les antibiotiques, antifongiques, antivirales, antiparasitaires, herbicides, pesticides, antioxydants et anti tumoraux ...

Tableau 2: l'application des actinomycètes dans différents domaines.

Les domaines	Les substances bioactives	Exemples
Médicale	Antibiotique	novobiocine, l'amphotéricine, la vancomycine, la néomycine, la gentamycine, le chloramphénicol, la tétracycline, l'érythromycine, la nystatine (Sharma, 2014).
	Antifongique	Polyxène B et D : interfère spécifiquement avec la formation de la paroi cellulaire fongique en agissant comme inhibiteur de la chitine synthétase (Sharma, 2018).
	Antiparasitaire	avermectines Produites par <i>Streptomyces avermitilis</i> sont considérer comme des 'excellentes anti némathelminthe (Jinsong, 2016) Insecticide isolé à partir <i>Streptomyces phaeochromogenes</i> LD-37 produite des molécules contre les mouches de fruits <i>Ceratitis capitata</i>

		(Samri, 2016).
	Anticancéreuse	<p>Les hypogeamicines A, B, C et D</p> <p>Ont été produites par <i>Nonomuraea specus</i> isolé du système de grottes de Hardin dans le Tennessee, aux États-Unis. L'hypogeamicine A montré une cytotoxicité vis-à-vis la lignée cellulaire du cancer du côlon TCT-1</p> <p>(Pharada et Wasu, 2019).</p>
Médicale	Inhibiteurs d'enzymes	<p>Inhibiteur d'alpha-glucosidase</p> <p>isolés à partir <i>Actinoplanes sp</i> sont utilisés pour traiter le diabète de type II et l'obésité en ralenti l'absorption du glucose et en réduisant l'hyperglycémie</p> <p>(Panchanathan, 2014).</p>
Industrie	Enzymes	<p>Aminoacylase</p> <p>Utiliser dans la Production de pénicillines semi-synthétiques et de céphalosporine</p> <p>Produise par différents souches</p>

		<p>Telle que : <i>S. olivaceus</i> <i>S. roseiscleroticus</i> <i>S. sparsogenes</i> (Harir et et al, 2018).</p>
Agriculture	<p>Biodégradation Production d'acétyl Co-A</p>	<p>Frankia convertie le naphthalène ou un dérivé du naphthalène en acétyl Co-A et succinyle Co-A (Rehan, 2016).</p>
	<p>Facteur de croissance chez les plantes</p>	<p>production de phytohormones telles que acide indole-3-acétique (IAA), cytokines; améliorer la nutrition des plantes par la solubilisation de minéraux tels que le phosphore (P) et le fer, contribuer à la croissance des plantes production des molécules contre les phytopathogènes : produit des antibiotiques et des composés volatils(COV), synthèse d'enzymes extracellulaires dégradant la paroi cellulaire fongique, induction de résistance systémique et compétition pour les nutriments et les niches (Ek-Ramos et al,2019)</p>

2. Chapitre2 : La cellulose et les enzymes de cellulases

2.1 La cellulose

La cellulose est la matière organique la plus vaste et la plus répandue dans la nature (**Budihal, 2015**), est synthétisé par les plantes pour environ 4×10^7 tonnes par an qui expliquer leur abondant sur terre (**Larry, 2011**) C'est le principal constituant des végétaux et en particulier des parois de leurs cellules (**Bettache, 2018**).

Tableau 3 : Teneur en cellulose de différentes espèces végétales.

Espèces végétales	Teneur en cellulose (%)
Coton	88 – 96 (Demir et al, 2018).
Bois	40-45 (Särkkä et al, 2018).
Son de maïs	30 (Huang et al, 2018).

La cellulose est un polymère glucidique composé de dizaines à des centaines à plusieurs milliers d'unités mono saccharidiques (**Mai, 2018**) de 8 000 à 12 000 unités de glucose liées ensemble par une liaison (bêta -1,4.glucoside) (**Larry, 2011**).

La cellulose est insoluble dans l'eau et dans la majorité des solvants, la faible solubilité est attribuée principalement à la forte liaison d'hydrogène (intramoléculaire et intermoléculaire) entre les chaînes (**Devabaktuni, 2011**).

Il existe deux types de structures cellulosiques (amorphes et cristallines). La forme amorphe est soluble et est facilement digérée par les enzymes, tandis que la structure cristalline est formée par des chaînes de cellulose qui sont fortement liés par des liaisons hydrogène, formant des microfibrilles. Ce type de cellulose est très récalcitrant à la dégradation et à la solubilisation (**Ravindran, 2015**).

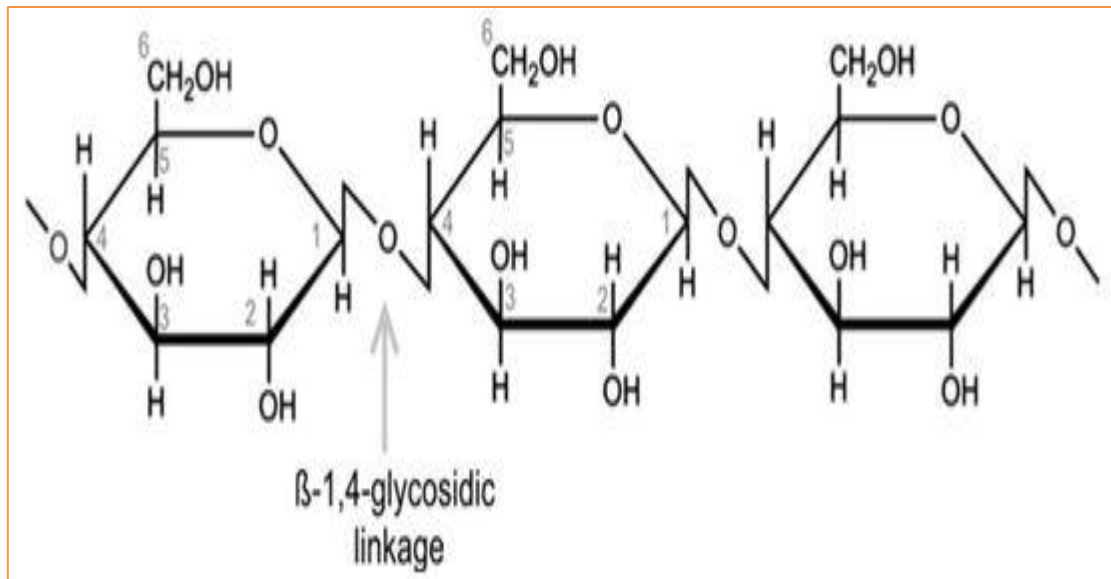


Figure 2: structure de cellulose (Meurant, 2012)

2.2 Les enzymes de cellulases

Le système cellulolytique comprend trois composants principaux:

La **1,4-β glucane glucanohydrolase** agissant comme **endoglucanase**, la **1, 4-β-D-glucane cellobiohydrolase** présentant une activité **exoglucanase** et la **β-glucosidase** qui sépare le **cellobiose**. Le système enzymatique de cellulase fonctionne de manière synergique, c'est-à-dire que les **endoglucanases** provoquent des scissions aléatoires de la chaîne de la cellulose, ce qui donne du glucose et des oligosaccharides; les **exoglucanases** attaquent l'extrémité non réductrice de la cellulose en formant de la cellobiose; et enfin les **cellulobiase** hydrolysent le cellobiose en glucose (Vaijyanthi et al ,2016)

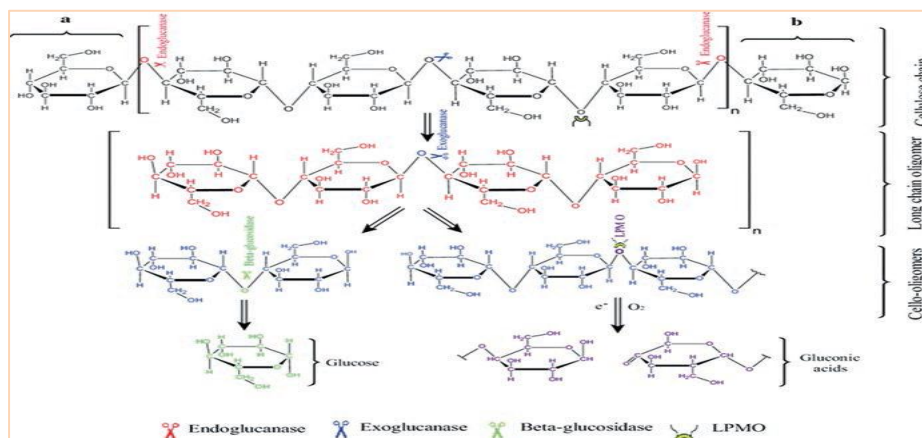


Figure 3: le mode d'action de cellulase (Tiwari et Verma ,2019).

2.3 Application industrielle de cellulase

La cellulase a montré une application marquée et une large accessibilité dans toutes les industries (alimentaire, pharmaceutique, agricole et médical...) au cours les trois dernières décennies. La cellulase a fait l'objet de recherches biotechnologique en raison de sa large applicabilité. Les nouvelles recherches sur la cellulase ont décrit leur utilisation possible dans différents domaines comprenant l'industrie alimentaires, la vinification, industries de transformation des fruits et légumes, industrie du papier et de la pâte à papier, et industrie des matériaux et du lavage (Srivastava et al, 2019).

Tableau 4: l'application industriel de la cellulase.

L'industrie	L'application
La production du papier et pulpe	améliorer la texture en hydrolysant la cellulose dans les fibres, créant des points faibles dans les fibres, rendant les fibres souples (Shuang ,2012).
Textile	Les cellulases agissent sur le tissu de coton et cassent les extrémités de la petite fibre à la surface du fil, relâchant ainsi le colorant, qui est facilement éliminé par abrasion mécanique dans le cycle de lavage (Srivastava et al ,2019).
Alimentaire	L'infusion de pectinase et de β -glucosidase modifie la texture, la saveur et d'autres propriétés sensorielles telles que l'arôme et les caractéristiques volatiles des fruits et des légumes le mélange d'enzymes contenant des pectinases, des cellulases et des hémicellulases sont utilisés pour améliorer l'extraction de l'huile d'olive (Kuhad, 2011) et (Imran et al ,2016). La combinaison de cellulases et de pectinases donne des bons résultats dans les industries du jus et du vin (Abdulkhair, 2016).

Revue bibliographique

Agriculture	La cellulase aide à améliorer et maintenir la stabilité du sol en libérant des nutriments tels que l'azote et le phosphore par la minéralisation de la matière organique (Fariq, 2016).
Bioénergie	La production du biocarburant à partir la bioconversion de la cellulose en molécules de glucose pour le processus de fermentation (Ramírez ,2016).

Matériels

Et

Méthodes

1. L'échantillonnage

Dans le but d'explorer et isolée des actinomycètes possèdent une activité cellulolytique à partir de la wilaya de Laghouat qui est caractérisé par un climat de type saharien et aride avec une température élevé et une pluviométrie varie entre 150mm au sud. (Boutmedjet et al, 2018), des échantillons du sol ont été prélevés à partir de différents endroits : (Assafia (A) .Tadjmout (T) .Hamda (H). Ghaicha (G). Centre-ville de Laghouat(R)) (Figure 4).

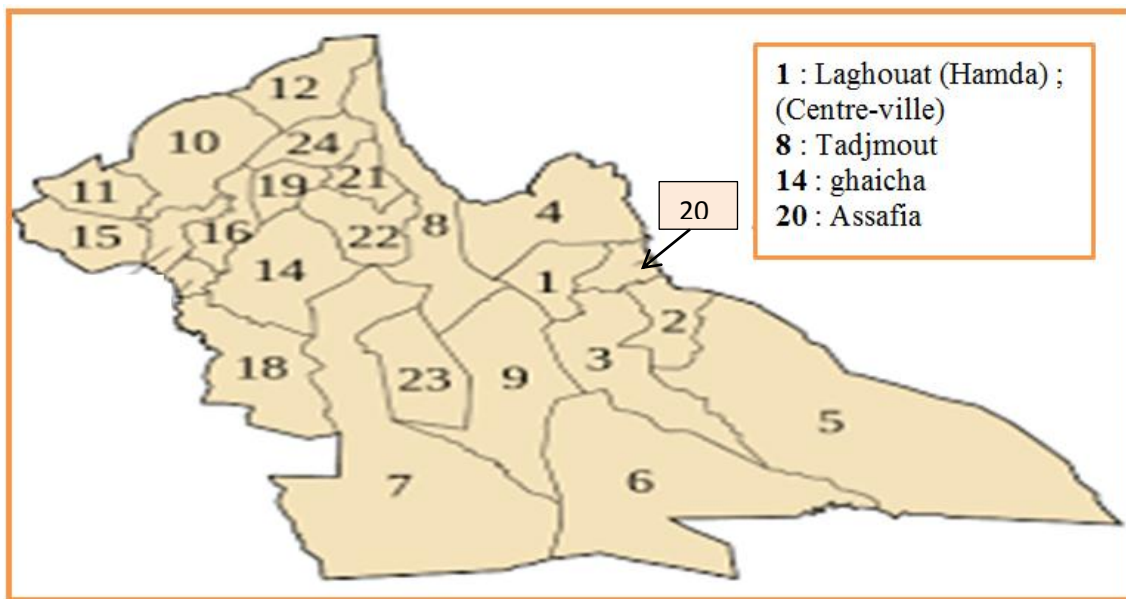


Figure 4 : la carte géographique de Laghouat montrant les sites d'échantillonnages.

Les échantillons du sol ont été prélevés durant le mois de Janvier 2019, à partir d'une profondeur de 10 cm de la profondeur, après écartement des cinq premiers centimètres de la surface du sol.

Après prélèvement, les échantillons sont déposés sur une feuille d'aluminium.

2. Isolement des actinomycètes

2.1 Le prétraitement des échantillons du sol

Le prétraitement des échantillons permet de réduire la croissance de la flore bactérienne indésirable, en effet, les échantillons du sol ont été séchés à la température ambiante pendant 7 jours (Jiang et al, 2016).

2.2 Préparation des dilutions et ensemencement

Dans le but d'isoler des actinomycètes possédant une activité cellulolytique, le milieu **cellulose agar**, qui contient la cellulose comme seule source de carbone et d'énergie, a été utilisé : cellulose 10 g, NaNO₃ (1.2g), KH₂PO₄ (6g), Mg SO₄ (0.2g), CaCl₂ (0.05g), MnSO₄ (0.01g), Zn SO₄ (0.001 g), Agar (18g) dans 1l d'eau distillée.

Afin d'inhiber la croissance des champignons, l'antifongique cycloheximide a été ajouté à la concentration finale de 50 µg/ml (Nejeng et al, 2017).

Des suspensions de dilutions ont été préparées par mélange de 10g de sol avec 90 ml d'eau physiologique stérile (dilution 10⁻¹). La suspension est vortexée pendant 15 minutes, puis à partir de cette solution mère, des dilutions (10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵) ont été préparées.

Un volume de 100 µL de chaque dilution est ensemencé sur le milieu cellulose agar, les boîtes sont ensuite incubées à 30 °c pendant 15 jours à 30 jours et vérifiées régulièrement

(Ganesan et al., 2017 ; Zhang et al., 2016).

2.3 Purification des isolats d'actinomycètes

Après incubation, les colonies qui se rapprochent par leurs aspects macroscopiques (colonie dure, sèche et incrustée dans la gélose, et microscopique (bactéries filamenteuses et ramifiées) aux actinomycètes, ont été purifiées dans le milieu **caséine Agar Amidon (CAA)** : Amidon (10g), Caséine (0.3g), Na cl (2g), K₂H PO₄ (2g), MgSO₄ (0.05g), CaCO₃ (0.02g), FeSO₄ (0.01g), Agar (18g) dans 1l d'eau distillée). La purification est réalisée par des stries. L'incubation a été réalisée à la température de 30°C pendant 5 jours

(Charousová et al, 2017).

3. Conservation

Les souches d'actinomycètes obtenues sont conservées pour être utilisés dans des tests ultérieurs.

La conservation est réalisée par ensemencement des isolats sur le milieu CAA (en strie) coulé dans des tubes inclinés. Les tubes sont ensuite incubés à 30 °c pendant 7 jours. Et en suite placé en 4°c (Meklat et al, 2014).

4. Mise en évidence de l'activité cellulolytique

L'activité cellulolytique des isolats d'actinomycètes est mise en évidence par l'utilisation de deux milieux de cultures, le milieu cellulose agar et le milieu **CMC agar** : peptone (10g), CMC (10g), K₂HPO₄ (2g), MgSO₄ (0.3g), Gélatine (2g), Agar (15g) dans 1l d'eau distillée).

Les boîtes contenant le milieu CMC agar et cellulose agar, sont d'abord divisé en quatre parties, de manière que chaque partie sera ensemencé par un isolat différents sous forme d'une colonie unique.

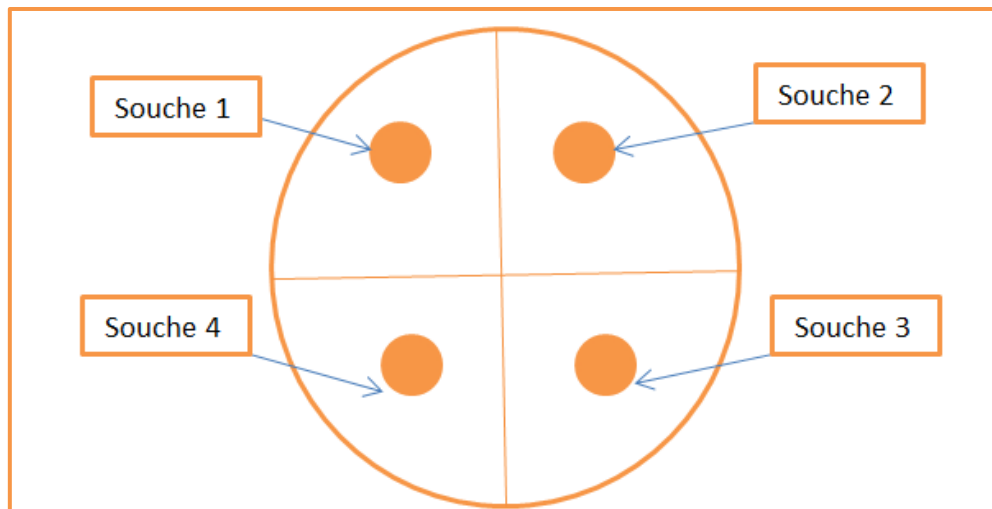


Figure 5 : la Méthode d'ensemencement des souches d'actinomycètes sur le milieu CMC agar et le milieu Cellulose agar (Houfani et al, 2016).

Après incubation des boîtes à 30°c pendant 15 jours, la révélation de l'activité cellulolytique est effectuée avec une solution de rouge Congo à 0,2% pendant 30 min suivi par un lavage avec une solution de NaCl à 1M (mal, 2012).

L'hydrolyse de la CMC est traduite par l'observation d'un halo clair autour des colonies (Ahmed et al, 2013).

5. L'observation microscopique

Quelques souches d'actinomycètes qui ont une activité cellulolytique sont observées au microscope optique en utilisant la technique de scotch avec l'utilisation de la coloration simple de bleu de méthyle.

La morphologie de mycélium aérien est notée au grossissement 100x10 avec l'huile d'immersion (**Bouznada et al, 2016**).

RESULTATS
ET
DISCUSSION

Résultats et discussions

1. Résultat d'isolement des actinomycètes

Après incubation pendant 15 à 30 jours à la température de 30°C, des colonies présentent l'aspect macroscopique et microscopique d'actinomycètes apparaissent, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 5.

Tableau 5: le nombre des souches d'actinomycètes isolées à partir de chaque région de Laghouat

Les régions	El'Assafia	Tadjmout	Hamda	El-Ghaicha	Centre-ville
Le nombre d'isolat obtenus	8	6	6	2	2

Selon les résultats du tableau (5) : 24 colonies d'actinomycètes ont été obtenues à partir de tous les échantillons prélevés du sol de la région de Laghouat, en effet, 8 souches d'actinomycètes ont été isolées de la région d' El'Assafia, ce qui correspond au nombre le plus élevé d'actinomycètes obtenus dans cette étude. 6 souches d'actinomycètes ont été également récoltées du sol de Hamda, le même nombre (6 souches d'actinomycètes) ont été isolés à partir de sol de Tadjmout, alors que deux souches d'actinomycètes ont été obtenues à partir du sol d'El-Ghaicha et le Centre-ville.

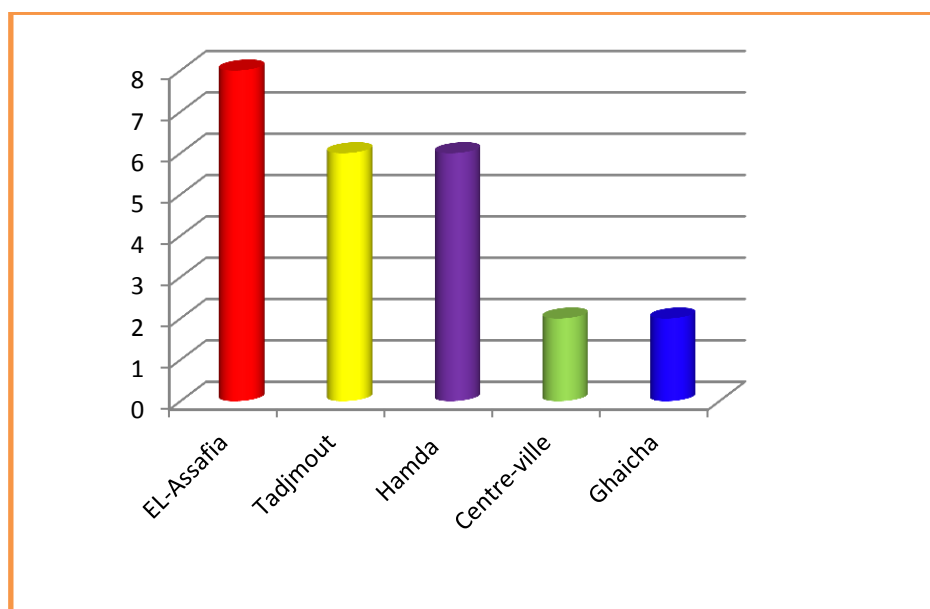


Figure 6 : les résultats de la distribution des actinomycètes à partir de cinq régions de la wilaya de Laghouat

Résultats et discussions

Selon les résultats de (figure 6), il apparaît que le nombre d'actinomycètes isolés à partir des échantillons d'El-Assafia, Hamda, Tadjmout, qui sont tous des régions agricoles, est nettement supérieur à celui obtenu à partir des échantillons d'El-Ghaicha et du centre-ville. Ceci peut s'expliquer par le fait que les sols agricoles sont plus riches en matière organique par rapport aux régions non agricoles, en revanche, le nombre des actinomycètes est corrélé positivement avec le taux de la matière organique selon **(Lee et Hwang ,2002)**.

D'autres paramètres écologiques peut influencer sur la distribution des actinomycètes dans le sol, **(Sagova-Mareckova et al ,2015)** montre que la quantité et la qualité des communautés bactériennes dans le sol est influencé par l'abondance de la matière organique, l'humidité, le pH et la température du sol.

Le milieu de culture cellulose agar, semble sélectif pour l'obtention des actinomycètes à partir du sol, en effet, ce milieu de culture contient la cellulose comme seul source de carbone et d'énergie, et peu de microorganisme qui disposent l'arsenal enzymatique nécessaire pour l'utilisation de cette molécule complexe. **Saini et al (2016)** ont isolés 20 souches d'actinomycètes à partir du sol agricole, par l'utilisation d'un milieu de culture à base minérale qui contient 1% de cellulose.

2. Résultat de l'activité cellulolytique

L'activité cellulolytique a été testée sur deux milieux de culture, le CMC et la cellulose agar.

Après 7 jours d'incubation à 30 °C, les résultats de l'activité cellulolytique sur le milieu CMC des 24 souches étudiées sont illustrés dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : résultats de l'activité cellulolytique des souches testées sur le milieu CMC obtenues à partir de chaque région

Les régions	Les codes des souches	L'activité cellulolytique
El'Assafia	A ₁	++
	A ₂	-
	A ₃	++
	A ₄	++
	A ₅	+
	A ₆	+
	A ₇	++
	A ₈	-
Tadjmout	T ₁	+++
	T ₂	+
	T ₃	+++
	T ₄	+++
	T ₅	-
	T ₆	++
Hamda	H1	+
	H2	++
	H3	+
	H4	-
	H5	-
	H6	+++
Centre-ville	R1	-
	R2	+
Ghaicha	G1	+
	G2	++

(+++) Activité élevée, (++) activité moyenne, (+) activité faible, (-) l'absence de l'activité

L'activité cellulolytique se traduit par la formation d'un halo clair, qui correspond à une zone d'hydrolyse due à la sécrétion de cellulase, autour des colonies d'actinomycètes. D'après les résultats du tableau 6, on remarque que 18 souches d'actinomycètes, sur les 24 souches testées, ont montré une activité cellulolytique à des degrés différents.

Résultats et discussions

Plusieurs auteurs ont signalé que les actinomycètes peuvent sécréter l'enzyme cellulase pour la dégradation de cellulose, en effet, neuf isolats d'actinomycètes, possèdent une activité cellulolytique, ont été isolés à partir de différents échantillons de sédiments de mangroves de Bhitarkanika. L'activité cellulolytique a été observée, après formation d'un halo clair autour de la colonie d'actinomycète, sur le milieu CMC agar en utilisant le rouge Congo comme colorant (Kishore, 2014).

L'absence d'activité cellulolytique chez certaines souches d'actinomycètes, peut être expliquée, soit par l'absence de l'enzyme cellulase ou par la non induction du gène qui code pour la biosynthèse de cellulase, en effet, (Mondejar et al, 2016) montre que la présence de gènes qui code pour la biosynthèse de cellulase et de l'hémicellulase dans un génome, n'implique pas nécessairement que la souche bactérienne est capable de dégrader la cellulose. Les souches d'actinomycètes actives ont été subdivisées, à l'œil nu, en fonction de leurs activités cellulolytiques (Figure 7), en activité élevée (+++), activité moyenne (++) , activité faible (+), pas d'activité (-).

Par conséquent, parmi les 18 souches actives, quatre isolats ont montré une activité cellulolytique élevée (T₁, T₃, T₄, H₆), 8 isolats ont montré une activité cellulolytique moyenne (A₁, A₃, A₄, A₇, T₆, H₂, R₂, G₂), alors que les 12 isolats restent présentés une activité cellulolytique faible ou nulle (figure8).

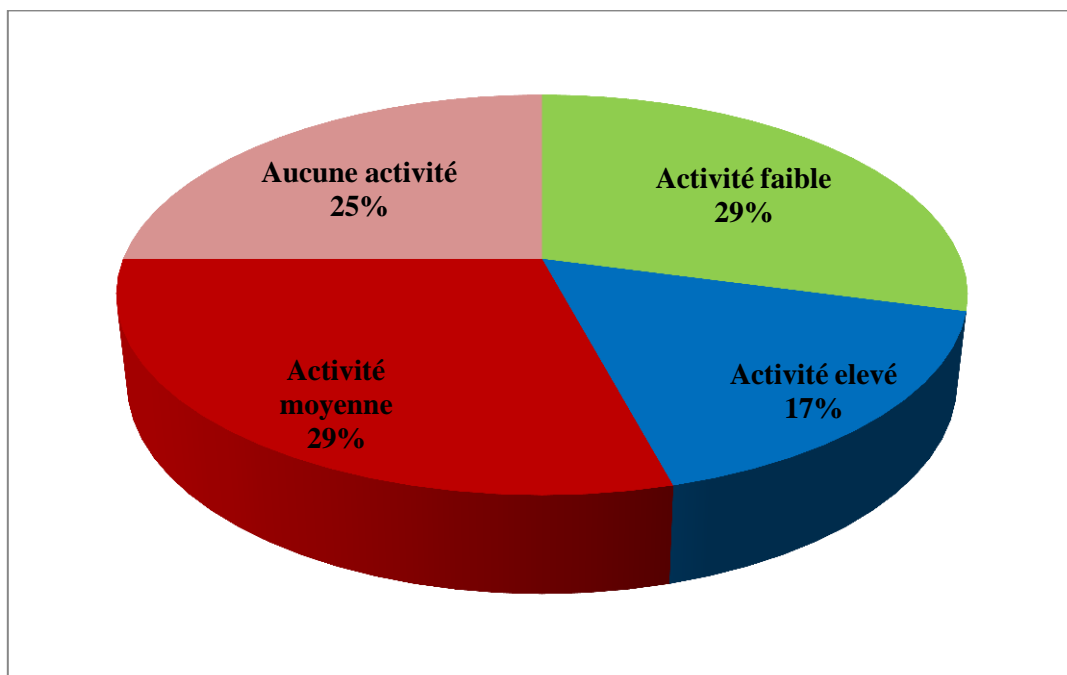


Figure 7: Répartition de l'activité cellulolytique de souches testées.

Résultats et discussions

Les résultats de la dégradation de cellulose microcristalline, après 15 jours d'incubation à 30°C, indiquent l'absence de l'activité cellulolytique, ceci est expliqué par la difficulté de la dégradation de cette molécule complexe par rapport au Carboxymethyl Cellulose (**figure 9**).

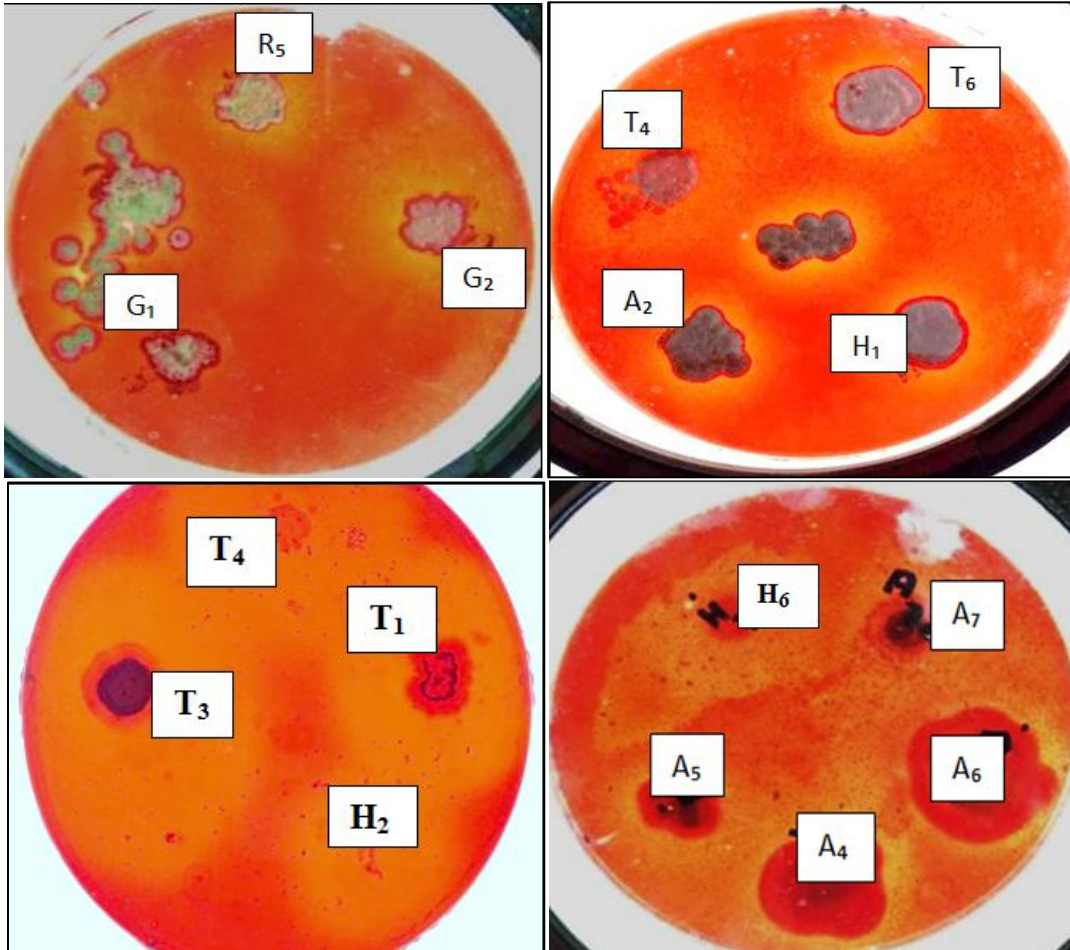


Figure 8 : l'activité cellulolytique de quelques souches d'actinomycètes sur le milieu CMC.

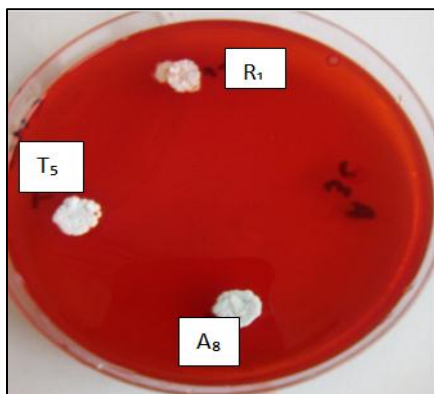


Figure 9 : l'activité cellulolytique de quelques souches d'actinomycètes sur le milieu cellulose agar.

La comparaison entre les résultats de la dégradation de CMC et de cellulose cristalline, indique que le CMC est un bon substrat pour l'induction de la sécrétion de l'enzyme cellulase, en effet, des résultats similaires ont été obtenus par (Fatokun *et al* ,2016), qui a étudié l'effet de plusieurs sources de carbone, cellulose microcristalline, CMC, cellobiose, mannose, arabinose ,galactose, D-glucose, D-xylose, sur l'induction de la sécrétion de cellulase par une souche de *Streptomyces* marine, les résultats obtenus indique que la meilleure source de carbone qui induit la sécrétion de cellulase est le CMC, alors que l'activité cellulolytique a été absente quand il a utilisé la cellulase microcristalline comme seul source de carbone. Jusqu'à présent, l'activité cellulolytique des souches fongiques était la plus élevée parmi les microorganismes. Les actinomycètes, très proches morphologiquement aux champignons microscopiques, en particulier le genre *Streptomyces*, présentent une activité cellulase nettement supérieure à celle des espèces bactériennes pures.

3. Diversité morphologique de souches isolées

Les colonies obtenues, après la purification sur le milieu caséine agar amidon (CAA), étaient toutes incrustées dans la gélose, avec différents, taille, forme et couleur. Les colonies d'actinomycètes ont été reconnues par leur aspect morphologique caractéristique. Elles apparaissent sèches, rugueuses, colorées ou non, et présentent un mycélium végétatif et aérien, certaines montrent seulement un mycélium du substrat. L'aspect microscopique, indique la présence des fins filaments ramifiés qui est un caractère morphologie typique des actinomycètes. Quelques souches d'actinomycètes ont été prélevées, au hasard, sur la base de l'observation macroscopique et microscopique, les souches prélevées ont été subdivisées en cinq groupes :

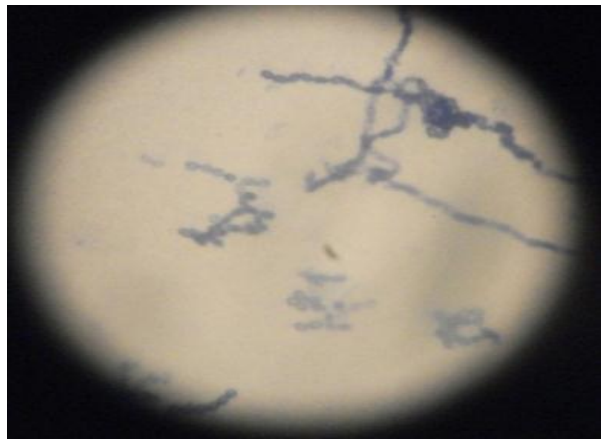
Résultats et discussions

Groupe 1 : ce groupe se caractérise par une surface des colonies poudreuses. Après maturation, les souches développent un mycélium aérien de couleur blanchâtre, il n'y a pas production de pigments diffusibles.

Le mycélium aérien forme des longues chaînes de spores droites et immobiles (**figure 10**).



Aspect macroscopique du mycélium de substrat de l'isolat T1



observation microscopique du mycélium aérien de l'isolat T1 (a grossissement 100)

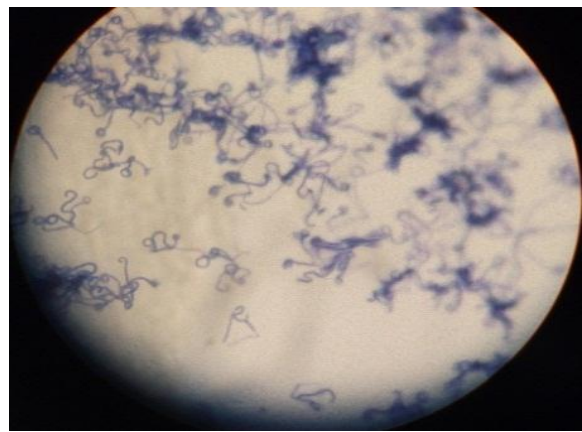
Figure 10: l'aspect morphologique de la souche T1

Groupe 2 : ce groupe se caractérise par la formation de colonies poudreuses de couleur grise au centre, blanche aux bords, il n'y a pas de production des pigments diffusibles.

Le mycélium aérien possédant des chaînes de spores enroulées à l'extrémité. (**Figure 11**).



Aspect macroscopique du mycélium de substrat de l'isolat A5



observation microscopique du mycélium aérien de l'isolat A5 (a grossissement 100)

Figure 11 : l'aspect morphologique de la souche A5

Résultats et discussions

Groupe 3 : ce groupe se caractérise par la formation des colonies de surface poudreuse, de couleur blanchâtre, il n'y a pas production de pigments diffusibles.

Le mycélium aérien se forme des longues chaînes de spores (10-20), qui étaient immobiles (**figure 12**).



Aspect macroscopique du mycélium de substrat de l'isolat A1



observation microscopique du mycélium aérien de l'isolat A1 (a grossissement 100)

Figure 12 : l'aspect morphologique de la souche A1.

Groupe 4 : ce groupe se caractérise par la formation des colonies poudreuses de couleur grise. Il n'y a pas de production des pigments diffusibles.

Le mycélium aérien port de courtes chaînes de spores immobiles (**figure 13**).

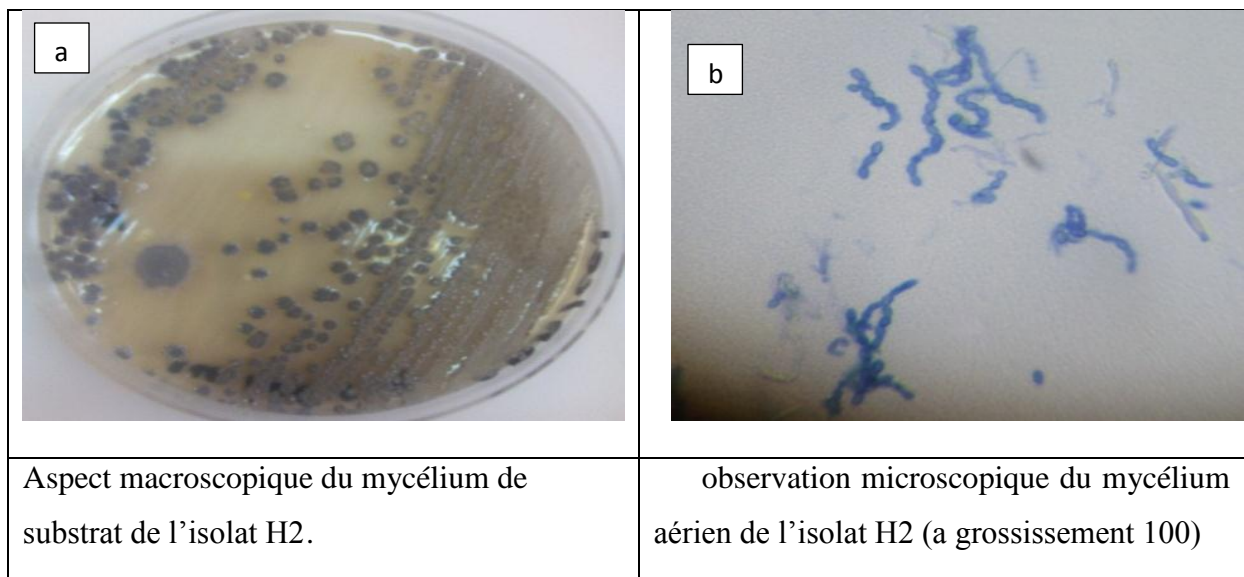


Figure 13 : l'aspect morphologique de la souche H2.

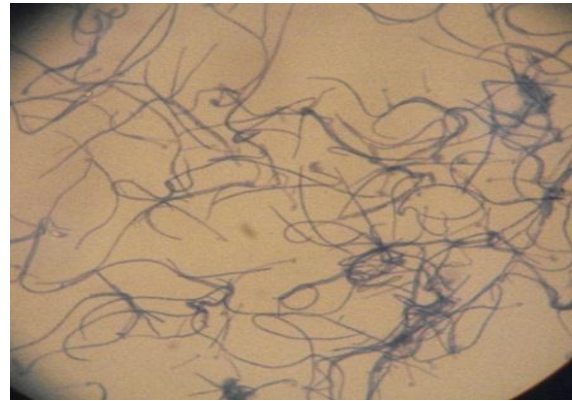
Résultats et discussions

Groupe 5 : ce groupe se caractérise par la formation des colonies poudreuses, avec production des pigmentations jaunes.

Le mycélium filamenteux ramifié (**Figure 14**).



Aspect macroscopique du mycélium de substrat de l'isolat R5



observation microscopique du mycélium aérien de l'isolat R5 (à grossissement 100)

Figure 14 : l'aspect morphologique de la souche R5.

D'après les résultats morphologiques des souches testées on peut estimer que les isolats obtenus appartiennent aux genres qui se caractérisent par la formation de chaîne de spores telles que le genre *Streptomyces* (**Genilloud, 2012**).

L'étude morphologique des souches d'actinomycètes peut orienter l'identification, en effet cératines genres d'actinomycètes peuvent être reconnue directement par leurs aspects microscopiques, en effet, le genre *Planomonospora*, formant des sporanges cylindriques (**Chaouch et al, 2018**), le genre *Spirillospora*, formant des sporanges sphériques avec libération des spores mobiles (**Song et al, 2018**). Mais actuellement, l'identification des actinomycètes est basée sur le séquençage du gène qui code pour l'ARNr16s (**Qinyuan et al.2016**).

Conclusion

Conclusion

La préoccupation actuelle est de rechercher des alternatives de l'énergie fossile, en particulier le pétrole et le gaz, en effet, la tendance actuelle est les recherches orientées vers l'énergie renouvelable, en particulier l'énergie issue de la fermentation de la biomasse pour produire le bioéthanol. Ceci nécessite d'abord la transformation de cellulose en glucose par le biais des cellulases.

Parmi les sources de cette enzyme on trouve les actinomycètes, bactéries à Gram positive avec un G+C élevé, surtout ceux obtenus à partir des régions non exploitées. Notre travail vise à isoler des actinomycètes à partir du sol algérien et la mise en évidence de leur activité cellulolytique.

24 souches ont été isolées à partir du sol de différentes régions de la wilaya de Laghouat. En effet, 8 souches ont été obtenues à partir du sol de El-Assafia, 6 souches à partir de la région de Tadjmout et Hamda, alors que deux souches ont été obtenues à partir des deux régions de El- Ghicha et du centre-ville. Toutes les souches ont été testées pour la mise en évidence l'activité cellulolytique contre deux substrats (CMC, Cellulose agar), les résultats obtenus indiquent que, 18 isolats, sur les 24 souches, ont montré une activité cellulolytique sur le milieu CMC, alors qu'aucune activité n'a été remarquée contre la cellulase microcristalline.

Les 18 souches actives ont été groupées en fonction de leur activité cellulolytique sur le milieu CMC, en revanche, 4 souches ont montré une activité forte, 8 souches ont une activité moyenne, alors 12 souches ont montré une activité faible à nulle.

Une caractérisation morphologique a été effectuée par l'observation microscopique du mycélium aérien par la technique de scotch, alors qu'une caractérisation culturale a été effectuée pour les isolats obtenus. Les résultats obtenus de l'étude morphologique ont permis le rapprochement des isolats caractérisés au genre *Streptomyces* selon le Bergey's manual of systématique.

Comme perspective de ce travail,

- ✓ L'identifier moléculaire des souches obtenues,
- ✓ Extraire et purification de l'enzyme cellulase.
- ✓ Etude de l'activité enzymatique des cellulases.

REFERENCES

1. **Abdulkhair, W.M.,Alghuthaymi,M.A.** (2016). “Enzymes and Phytohormones from Micromonospora” in Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications, ed. D. Dhanasekaran (Rijeka: InTech), 291-313.
2. **Ahmed,B.,Nigar,S.,Sadaf,S.,Shah,A.,Bashir,S.,Ali,J.,Yousaf,S.,Bangash,J.A.**(2013). Isolation and identification of cellulose degrading bacteria from municipal waste and their screening for potential antimicrobial. World Applied Sciences Journal .27 (11),p 1420-1426.
3. **Akond, M.A., Jahan, N.M., Sultan, A., Rahman, F.** (2016). Temperature, pH and NaCl on the Isolates of Actinomycetes from Straw and Compost Samples from Savar, Dhaka, Bangladesh. American Journal of Microbiology and Immunology.1.p 10-15.
4. **Al Dhabi,N.A., and Ignacimuthu,S.**(2017).Antimicrobial activity of some actinomycetes from western Ghats Tamil Nadu, India.Alexandria Journal of Medicine. 53.p 101-110.
5. **Azman,A.S.,Othman,I.,Velu,S.S.,Ghan,K.G.,Lee,L.H.**(2015).Mangrove rare actinobacteria: taxonomy, natural compound, and discovery of bioactivity. Frontiers in microbiology.6.p. 856.
6. **Baraka, E.A., Vasta ,P ., Sanchez , L., Gaveau ,N ., Klenk ,H.P ., Clement, C., Ouhdouch ,Y.**(2016). Taxonomy, physiology, and nature products of actinobacteria. MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS. 80 .p 43.
7. **Benallaoua, S.** (2018). Lignocellulosic Biomass and Cellulolytic Enzymes of Actinobacteria. SAJ Biotechnol. 5. p 203.
8. **Benndorf,R.,Guo,H.,Sommerwerk,E.,Weigel,C.,Garcia,M.A.,Martin,K.,Hu,H.,**
9. **Bettache,A.,Azzoz,Z.,Boucherba,N.,Bouiche,C.,Hamma,S.,Maibeche,R.,Gahfif,O.,**
10. **Boutmedjet, A., Hoyou, Z.,Ouakid,L.M.**(2018). Effects of soil degradation on the distribution of soil macro-arthropods in the daya of the Algerian steppe. Journal of research in ecology. 6(1).p 1716-1722.
11. **Bouznada,K., Bouras,N., Mokrane,S., Chaouch,C.F., Zitouni,A., Potter,G., Sproer,C., Klenk,H.P., and Sabaou,N.**(2016).*Saccharothrix isguenensis* sp. Nov. An., an actinobacterium isolated from desert soil.International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.66. p 4785-4790.
12. **Brumm ,P ., Xie , D ., Allen ,L ., Mead ,D.A .** (2018). Hydrolysis of Cellulose by Soluble Clostridium Thermocellum and Acidothermus Cellulolyticus Cellulases. Journal of Enzymes .1.p10.

13. **Budihal, R.S., Agsar, D., Patil, R.S.** (2015). Diversity and detection of cellulolytic Actinobacteria. International research journal of emerging trends in multidisciplinary.1.p 49-53.
14. **Chaouch,F.C.,Bouznada,K.,Bouras,N.,Meklat,A.,Tata,S.,Mokranel,S.(2018).**Planomonospora, Saccharothrix and Actinophytocola genera in Saharan soils of Algeria: Isolation, taxonomic identification and antagonistic properties .Journal of microbiology, biotechnology and food sciences .7(5).p 460-465.
15. **Charousovà, I., Medo, J., Halenàrovà, E., Javorekovà,S.(2017).** Antimicrobial and enzymatic activity of actinomycetes isolated from soils of coastal islands.Journalof Advanced Pharmaceutical Technology and Research.8 (2).p 46-51.
16. **Demir, A.G., Oliveira, F.R., Gulumser, T., Souto, A.P.** (2018). New Possibilities of Raw Cotton Pre-treatment before reactive dyeing. Materials Science and Engineering .p460.
17. **Devabaktuni,L.,Kulkarni,P.K.,Mudit,D.,Prudhvi,K.R.,Naga,V.K.(2011).** Sources of cellulose and their application-a review. International journal of drug formation and reserch.2.p.19-38.
18. **Ek-Ramos,M.J., Gomez,R., Orozco,A.A., Cristina Rodríguez,C., González,G.O., Tamez,G.(2019).** Bioactive Products From Plant-Endophytic Gram-Positive BacteriaFrontier_Microbiology.10.p 463.
19. **El Meziane, A.,Brakate,M.(2016).** Insecticidal activity of a Moroccan strain of Streptomyces phaeochromogenesLD-37 onlarvae, pupae and adults of theMediterranean fruit fly,Ceratitis capitata(Diptera: Tephritidae). Cambridge University Press. Bulletin of Entomological Research. 107(2).p 217-224.
20. **Elbendary,A.A.,Hessain,A.M.,El Hariri,M.D.(2017).** Isolation of antimicrobial producing *Actinobacteria* from soil samples. Saudi journal of biological sciences. P 1-12.
21. **Fariq, A.(2016).** MICROBIAL CELLULASES: PRODUCTION AND APPLICATIONS. Journal of Biotechnology Science Research.3(1).p 122-127.
22. **Fatkoun, N.E., Uchekukwu, U., Nwodo,A.I.(2016).** Classical Optimization of Cellulase and Xylanase .Applied Sciences.2.p 286.
23. **Ganesan,P., Reagan,A.D., David,R.H.A., Gandhi,M.R., Paulraj,M.G.,**
24. **Genilloud,O.(2012).**Bergey's manuel of systematic. 2ed. spring, New York.5.1039.
25. **Goodfellow,M.,Kampfer,P.,Busse,H.J.,Trujillo,M.E.,Suzuki,K.I.,Ludwig,W.,WhitmanW.B.(2012).** BERGEY'S MANUAL® OF **Bacteriology**. Second EditionVolume Five**The Actinobacteria, Part A.**

26. Harir,M., Bendif,H., Bellahcene,M., Fortas,Z., Pogni,R. (2018). “*Streptomyces* Secondary Metabolites in Basic Biology and Applications of Actinobacteria” in Basic Biology and Applications of Actinobacteria, ed. Shymaa Enany (Rijeka: InTech), 99- 122.
27. Harveyl, M.E., Brzezinskil, R., Beaulieul,C .(2018). Chitinolytic functions in actinobacteria: ecology, enzymes, and evolution. Appl Microbiol Biotechnol.102(17).p 7219-7230.
28. Houfani, A.A., Vetrovsky, T., Baldrian, P., Benallaoua, S. (2016). Efficient screening of potential cellulases and hemicellulases produced by *Bosea sp.* FBZP-16 using the combination of enzyme assays and genome analysis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* .33(29).p 2-14.
29. Huang,S.,Zhou,L.,Li,M.C,Wu,Q.,Zhou,D.(2018). Cellulose Nanocrystals (CNCs) from Corn Stalk: Activation Energy Analysis. Giorgio Biasiol, Academic Edito Materials (Basel). 10(1): 80.
30. Imran,M.,Anwar,Z.,Irshad,M.,Asad,M.J.,Ashfaq,H.(2016). Cellulase Production from Species of Fungi and Bacteria from Agricultural Wastes and Its Utilization in Industry: A Review. *Advances in Enzyme Research*. 4.p 44-55.
31. Jiang, Y., Li, Q., Chen, X., and Jiang, C. (2016). “Isolation and cultivation methods of Actinobacteria” .in *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*, ed. D. Dhanasekaran (Rijeka: InTech), 39–57.
32. Jinsong,C.,Mei,L.,Xueting,L.,Jin,Miao.,Chengzhang,F.,Gao,H.,Muller,Rolf.,Zhang,Q .,Zhang,L.(2016). Interrogation of *Streptomyces_avermitilis* for efficient production of avermectins. *Synthetic Systems Biotechnology* .1(1).p 7–16.
33. Kishore,M.Y.(2014). Isolation of Cellulose-Degrading Actinomycetes and Evaluation of their Cellulolytic Potential. *Bioengineering and Bioscience* 2(1). p 1-5
34. Kufner, M., Poulsen, Michael. Beemelmanss,C.(2018). Natural Products from Actinobacteria Associated with Fungus-Growing Termites. *Antibiotics* (Basel). 7(3).p 83.
35. Kuhad, C., Gupta, R., Singh, A. (2011). Microbial Cellulases and Their Industrial Application. *Enzyme Research*.p10.
36. Kumar, S., Mukherjee, J., Choudhury, B.U., Dhawa,A.K .(2018). Advances in crop environment interaction .Springer: New York. p 437.
37. Larry, L., Diana,E.(2011). *Microbial ecology*. Wiley-Blackwell: New Jersey. P: 440.
38. Lee, J.Y., Hwang, B. K. (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Can J Microbiol*, 48(5).p 407–417.

39. **Lee,L.H.,Ghan,K.G.,Stach,J.,Wellington E.M.H.,Goh,H.**(2018). Editorial: The Search for Biological Active Agent(s) From Actinobacteria. *Front Microbiology* .9.P824.
40. **Long, L.Y., Weng, Y.X., Wang, Y.Z. (2018).** Cellulose Aerogels: Synthesis, Applications, and Prospects. *Polymers*. 10 (6). 623.
41. **Madigan,M .,Martinko,J.**(2012). brock biologie des microorganismes. 11^e édition p 594. Editeur PEARSON.
42. **Mai,A.B.,Burah,B.,Milala,M.A.,Abbas,M.I.**(2018).Isolation production and optimization of cellulose from a combination of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* isolated from decaying woods . *International journal of biochemistry and physiology*.3 (4).p139.
43. **Mal, J.** (2012). In vitro cellulose rich organic material degradation by cellulolytic *streptomyces albospinus* (MTTCC 8768). *Malaysian Journal of Microbiology*. 8(3). p. 164-169.
44. **Mansora , A.M ., Lima, J.S., Anib, F.N ., Hashima,H ., Ho, W.S .**(2019) . Characteristics of Cellulose, Hemicellulose and Lignin of MD2 Pineapple Biomass. *CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS*. 72.
45. **Meklat ,A., Bouras, N ., Zitouni,A ., Sabaou ,N ., Mathieu,F., Schumann,P., Sproer ,C., and Klenk,H.** (2014). *Saccharopolyspora ghardaiensis* sp. nov., an extremely halophilic actinomycete isolated from Algerian Saharan soil.*The Journal of Antibiotics*. 67. P 299-303.
46. **Meurant, G.** (2012). *Actinomycetes in biotechnology*. Elsevier Science & Technology. ACADEMIC PRESS: London P: 510.
47. **Mohammadipanah, F., Wink ,J.** (2016). *Actinobacteria* from Arid and Desert Habitats: Diversity and Biological Activity .*Front Microbiol*. 6. P.1541.
48. **Mondejar,L.,Zuhlek,D.,Vetrovsky,T.,Becher,D.,Riedel,K.,Baldrian,P.**(2016). Decoding the complete arsenal for cellulose and hemicellulose deconstruction in the highly efficient cellulose decomposer *Paenibacillus* O199. *Biotechnology for Biofuels*. 9. P 104.
49. **Nejeng, P.W., Mwaura, F.B., Wagacha, J.M.,Gathura,E.M.**(2017). Methods of isolating Actinomycetes from the soils of menengai crater in Kenya. *archives of clinical microbiology*.8.p 3-45.
50. **Okafor, N.** (2016). *Modern industrial microbiology and biotechnology*. CRC press. Science PublishersEnfield (NH)JerseyPlymouth.Open Life Sci. 10.p 61–70.

51. **Panchana, M., Jayachadran, V., Kannan, S., Rit,KS.** (2014). Actinobacterial enzyme inhibitors – A review.critical reviews in microbiology; 41 (2): 261-72.
52. **Prescott, L.M., Willey, M.J., Sherwood, M.L., Woolverton,J.C.**(2018). Microbiologie. De Boeck Supérieur .p 554.
53. **Prescott. Harely,J ., Kelein,D.**(2003) . Microbiologie. de boeck 2. eme edition française. chapitre 24.
54. **Qinyuan,L.X., Chen,Y., J and Chenglin, J.** (2016). “Morphological identification of Actinobacteria”. In Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications, ed. Shymaa Enany (Rijeka: InTech), p 59-86.
55. **R.,Wasu,P.A.**(2019). Cave Actinobacteria as Producers of BioactiveMetabolites. Frontier in Microbiology. 10:387.p 1-36.
56. **Ramirez, M.V.,Calzadiaz,L.**(2016). Industrial Enzymes and Metabolites from Actinobacteria in Food and Medicine Industry....p.315-328.
57. **Ranjani, A., Dhanasekaran, D., Gopinath,P.**(2016). Production by a Marine Streptomyces Species. Applied Sciences. 6.p 286
58. **Ravindran,R.,Jaiswa,A.K.**(2015). A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosicfood industry waste: Challenges and opportunities. Bioresource Technology.199. p92-102
59. **Rehan, M., Swanson, E., Tisa,L.S.**(2016). Frankia as a Biodegrading Agent.p271-290
60. **Sagova-Mareckova, L.M, Cermak, M., Omelka, M., Kyselkova, J. K.**(2015).
61. **Saikumar, R., Budihal,L. Dayanand ,A., Sarvamangala, R. P.**(2015). Diversity and Detection of Cellulolytic Actinobacteria. International Research Journal of Emerging Trends in Multidisciplinary. 1. P 2395 – 4434.
62. **Saini, A., Neeraj, K., Aggarwal, L., Yadav, A.** (2016). Cellulolytic Potential of Actinomycetes Isolated from Different Habitats. Bioengineering and Bioscience 4(5).p 88-94.
63. **Saker,R.** (2015). Recherche de nouveaux taxons d’actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse de doctorat.
64. **Samri,S.E.,Baz,M.,GHalbane,I.,El Messoussi,S.,Zitouni,A.,**
65. **Sarkka,T.,Poch,M.G.,Kuhlberg,M.**(2018). Technological Transformation in the Global Pulp and Paper Industry 1800-2018: Comparative Perspectives.springer.p299.
66. **Shan, W., Zhou, Y., Liu, H., Yu,X.**(2018). Endophytic Actinomycetes from Tea Plants (Camellia sinensis): Isolation, Abundance, Antimicrobial, and Plant-Growth-Promoting Activities. Biomed Research International.p12.

67. **Sharma, M., Dangi, P., Choudhary, M.**(2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*.3 (2).p 801-832.
68. **Sharma, V., Salwan, R.** (2018). Biocontrol Potential and Applications of Actinobacteria in Agriculture. *India New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* .p 93-108.
69. **Shuang, L.i., Xiaofeng, Y ., Shuai ,Y., Muzi, Z., Xiaoning ,W.** (2012). Technology Prospecting on Enzymes: Application, Marketing and Engineering. *Computational and Structural Biotechnology Journa* .2(3).p 1-11.
70. **Song .J., Wang. J., Sun .T., Li. C., He. H., Shi .L., Guo X., Zhao .J., Xiang .W** .(2018).*Spirillospora tritici* sp. nov., a Novel Actinomycete Isolated from Rhizosphere Soil of *Triticum aestivum* L. *Curr Microbiol*. 75(11).p 1477-1483.
71. **Sravanamuthu, R., Maheshwari, D.K., Dubey, R.C.** (2010). *Industrial Exploitation of Microorganisms* .I.K. International Publishing House: New Delhi. P: 431.
72. **Srivastava, S.K., Maurya, K.K., Dutt, A.T., Mishra, M.S., Shaw, D.**(2019). Current Advancements in Recombinant Technology for Industrial Cellulases: Part-I . Applications of Microfluidic Systems in Biology and Medicine. P153-176.
73. **Subramaniam, G., Arumugam, S., Radjendran, V.** (2016). Plant Growth Promoting Actinobacteria: A New Avenue for Enhancing the Productivity and Soil Fertility of Grain Legumes. *springer* .p 298.
74. **Tiwari, S., Vema, T.**(2019). Cellulose as a Potential Feedstock for Cellulose Enzyme Production. *Springer Nature Switzerland AG*.
75. **Vaijyanthi, G., Vijayakumar, R., Dhanasekaran, D.**(2016). “Actinobacteria — A Biofactory of Novel Enzymes” in *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. ed. Shymaa Enany (Rijeka: InTech), 99- 122.
76. **Vazquez, M.A., Valino, E.C., Aceves, M.A., Mallol, J.L.** (2018). Cellulolytic and ligninolytic potential of new strains of fungi for the conversion of fibrous substrates. *Biotechnology Research and Innovation*. *Biotechnology Research and Innovation*, 3. P: 177-186.
77. **Wang, Y., Jiang, Y.**2016.”chemotaxonomy of actinobacteria” in *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. ed. Shymaa Enany (Rijeka: InTech), 113-139.

78. Zhang,Y.G., Liu,Q., Wang,H.F., Park,D.j., Guo,J.W., Kim,C.J., Zhang,Y.M., and Li,W.J.(2016). *Nocardioopsis ansamitocini* sp. Nov., a new producer of ansamitocin P-3 of the genus *Nocardioopsis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.66.p 230-235.

Résumé

L'investigation des écosystèmes inexplorés est cruciale pour l'obtention de nouvelles souches qui peuvent être la source de nouvelles enzymes dont la cellulase. La présente étude vise l'isolement des actinomycètes et la mise en évidence de leurs activités cellulolytiques. 24 souches d'actinomycètes ont été isolées à partir de différentes régions de la wilaya de Laghouat par l'utilisation de milieu cellulose agar. La mise en évidence de l'activité cellulolytique a été évalué sur deux milieu de cultures, le carboxymethyle cellulose (CMC) agar, et la cellulose agar avec l'utilisation de la coloration de rouge Congo pour la révélation de l'activité cellulolytique. Parmi les 24 souches isolées, 18 souches ont montré une activité cellulolytique, en effet, 4 souches ont montré une activité cellulolytique élevée, 8 souches ont montré une activité cellulolytique moyenne, alors que 6 souches ont une activité cellulolytique faible. Quelques isolats actifs ont été rapprochés morphologiquement au genre *Streptomyces*.

Mots clés : Isolement, Actinomycètes, Laghouat, cellulose, cellulase.

Abstract

The investigation of unexplored ecosystems is crucial for obtaining new strains that can be the source of new enzymes including cellulase. The objective of the present study is the isolation of actinomycetes and evaluation of their cellulolytic activities. 24 strains of actinomycetes were isolated from different regions of the wilaya of Laghouat using the cellulose agar medium. The cellulolytic activity was evaluated using two culture medium, carboxymethyl cellulose (CMC) agar, and cellulose agar, using Congo red as dye. Among 24 strains of actinomycetes isolated, 18 strains showed cellulolytic activity, in fact, 4 strains showed good cellulolytic activity, 8 strains showed moderate cellulolytic activity, while, 6 strains have weak cellulolytic activity. Some active isolates have been morphologically approximated to the genus *Streptomyces*.

Keyword : Isolation, Actinomycetes, Laghouat, cellulose, cellulase.

ملخص

بعد فحص الأنظمة البيئية غير المستكشفة أمرًا ضروريًا للحصول على سلالات جديدة يمكن أن تكون مصدرًا للأنزيمات الجديدة بما في ذلك السليلاز. الهدف من هذه الدراسة هو عزل اكتينومييسات وتقييم نشاطها الانزيمي (السليلاز). تم عزل 24 سلالة من الاكتينومييسات من مناطق مختلفة من ولاية الأغواط باستخدام أجار السليلوز. تم تقييم نشاط السليلولاز باستخدام وسطين ، أجار كاربوكسي ميثيل السليلوز (CMC) ، وأجار السليلوز ، باستخدام اللون الأحمر الكونغولي ككاشف لوني . من بين 24 سلالة من الأكتينومييسات المعزولة ، أظهرت 18 سلالة نشاط تحلل السليلوز ، في الواقع ، أظهرت 4 سلالات نشاط سيليلاز عالي ، وأظهرت 8 سلالات نشاط سيليلاز متوسط ، في حين أن 6 سلالات لديها نشاط سيليلاز ضعيف. وقد تم تقريب بعض العزلات النشطة من الناحية المورفولوجية إلى جنس العقديّة *Streptomyces* .

الكلمات المفتاحية : عزل, اكتينومييسات, الاغواط, سيليلوز, سيليلاز.