

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE.

Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences agronomiques

Département de Biologie

Mémoire de Fin d'Etudes
En vue de l'obtention du Diplôme de Master en sciences
biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé :

**Etude de la biodégradation des colorants textiles par les
actinobactéries**

Présenté par Présenté par :

FENEK Liza

FERNANE Safia

GUELMA Hassiba

Soutenu le 30/06/2025 devant le jury composé de :

President: MR. SEBBANE .H

Maitre de conférences A à l UMMTO

Promoteur: MR. HOUALI. K

Professeur à l'UMMTO

Co-promotrice :Mme MOUZAOUIL.Z

Examinatrice : Mme IRATNI. AICHE. G

Maitre de conférences A à l UMMTO

Année universitaire : 2024 / 2025

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions « Allah » qui nous a donné la santé, le courage et la volonté pour achever notre travail et aboutir enfin à notre objectif malgré les obstacles que nous avons rencontrés.

Toute notre gratitude,

*A nos encadrants **Mr Houali** et **Mme Mouzaoui** pour leurs aideet assistance durant la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions également les membres du jury **Mme Iratni** Et **Mr Sebbane** de nous avoir fait l'honneur de présider et de juger notre travail.*

A tous ceux qui nous ont apporté leur support moral et intellectuel tout au long de notre démarche.

A tous nos chers collègues de la promotion master 2 microbiologie appliquée.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*À mes chers parents, « **Karim et Fatma** », dont l'amour inconditionnel, le soutien constant et les encouragements inébranlables ont été le socle de mon parcours. Merci pour votre confiance, votre patience et les valeurs que vous m'avez transmises. Sans vous, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*À ma chère sœur, « **Dalila** » à son mari, « **Juba** » ainsi qu'à leurs adorables enfants. Votre famille est une source de joie et de bonheur, et je suis reconnaissante de l'avoir dans ma vie.*

*À mon cher frère, « **Mohammed Idir** » Avec gratitude pour ton amour, ton encouragement et ta présence.*

À toute ma famille

*À mes chères amies, « **Imene, Ines** »*

Enfin, à mon trinôme, Merci pour votre collaboration, votre entraide, votre soutien mutuel et les moments de partage qui ont rendu ce travail possible et enrichissant.

Liza

Je dédie ce modeste travail

*À mes chers parents, «Omar et Farida », dont l'amour inconditionnel, le soutien constant et les encouragements inébranlables ont été le socle de mon parcours.
Merci pour votre confiance, votre patience et les valeurs que vous m'avez transmises. Sans vous, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*À mon cher frère, «Ali» et à mes chères sœurs, «Souhila» et «Lidya»,
vous occupez une place toute particulière dans mon cœur.
Merci pour votre présence réconfortante, vos encouragements constants et
votre amour.*

Je vous souhaite une vie remplie de sérénité, de bonheur et de réussite.

*À mon cher fiancé, « Abderrahmane »,
Un remerciement particulier et sincère pour son soutien indéfectible, ses
encouragements.*

*Merci pour ta patience, ton amour et ta confiance sans faille.
Ta présence à mes côtés a été une source de motivation et de sérénité, et je suis
heureuse de partager avec toi ce succès.*

*Je ne peux oublier de remercier chaleureusement **mon cher oncle,**
« **GUELMA Karim** », dont les sacrifices et le soutien m'ont profondément
touchée.*

*Merci pour ta présence, tes encouragements et la motivation que tu m'as
transmise tout au long de ce parcours.*

Fassiba

Je dédie ce modeste travail

A la mémoire de mon très cher père «Karim »et grand-père « Yahia »qui demeurent à jamais dans mon cœur. Ce travail est aussi le fruit de leur amour, de leurs sacrifices et de leur exemple.

A ma mère « Nassera », pour sa force, son dévouement et son soutien indéfectible.

Merci d'avoir toujours cru en moi, même dans les moments les plus difficiles.

A ma sœur « Nabila » et à mes frères « Yacine » et « Kamal », pour leur affection, leur complicité et leur présence constante.

Votre présence a été une source de motivation inestimable.

A toute ma famille, pour l'amour, les encouragements et les prières qui m'ont accompagné tout au long de ce chemin.

A ma meilleure amie « Elza », pour son écoute, sa bienveillance et son soutien fidèle dans les moments de doute comme dans les moments de joie.

Enfin, à mon trinôme,

Merci pour votre collaboration, votre entraide, votre soutien mutuel et les moments de partage qui ont rendu ce travail possible et enrichissant.

Ce mémoire est le reflet de ma reconnaissance profonde envers vous tous.

Safia

Sommaire

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction..... 14

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les actinobactéries

1 Définition et généralités sur les actinobactéries..... 3

2 Historique..... 4

3 Caractères d'identification et de classification des actinobactéries 4

3 Caractères morphologiques..... 5

4 Cycle de développement des actinobactéries..... 6

5 Enzymes synthétisées par les actinobactéries 6

5.1 Cellulases 6

5.2 Protéases..... 7

5.3 Chitinases 7

5.4 Amylases 7

5.5 Lipases..... 7

Chapitre 2 : les colorants synthétiques

1. Définition 8

2. Classification des colorants..... 8

3. Propriétés des colorants étudiés 9

3.1 La safranine O 9

3.2 Le Rouge Congo 9

3.3 Le bleu de méthylène..... 10

4. Toxicité des colorants étudiés 11

5. Impact des effluents textiles sur les ecosystemes aquatique..... 11

6. Définition des colorants textiles..... 12

7. Procédés d'élimination des colorants..... 12

7.1 Traitement Physique 13

7.2 Traitement Chimique 13

7.3	Traitement Biologique	13
-----	-----------------------------	----

Chapitre 3: Biodégradation microbienne des colorants textiles

1.	Enzymes microbiennes intervenant dans la biodégradation des colorants	14
1.1	Les oxydoréductases	14
1.2	Les oxydases	14
2.	Dernières avancées en matière de dégradation bactérienne des colorants	15
2.1	Consortium microbien	15
2.2	Utilisation des bactéries immobilisées	16
2.3	Génie génétique	16

Matériels et méthodes

1.	Produits	17
2.	Matériel biologique	18
3.	Revivification des souches	18
4.	Etude biochimique	18
4.1.	La recherche de la catalase	18
4.2.	La recherche de la nitrate réductase	18
4.3.	La recherche de l'oxydase	19
5.	Etude microscopique	19
6.	Culture sur lamelle	19
7.	Criblage primaire de la biodégradation des colorants	20
8.	Etude macroscopique	21
9.	Etude physiologique	22
9.1.	Croissance à différentes températures	22
9.2.	Tolérance au pH	22
9.3.	Tolérance au Na Cl	22
10.	Mise en évidence de l'activité enzymatique	22
10.1.	Hydrolyse de l'amidon	22
10.2.	Hydrolyse de la cellulose	23
10.3.	Hydrolyse de la caséine	23
10.4.	Hydrolyse de la pectine	24
10.5.	Hydrolyse du Tween 20 et Tween 80	24
10.6.	Hydrolyse de la gélatine	24
10.7.	Hydrolyse de la L-asparagine	25
10.8.	Hydrolyse de la L-glutamine	25

10.9.	Hydrolyse de la tyrosine	25
10.10.	Hydrolyse de la chitine colloïdale.....	25
10.11.	Hydrolyse de l'urée.....	26

Résultats et discussions

1	Résultats de l'étude biochimique	27
1.1.	Recherche de la catalase	27
1.2.	Recherche du nitrate réductase	27
1.3	Recherche de l'oxydase	27
2	Résultats de l'étude microscopique	28
2.1	La coloration GRAM.....	28
3	Résultats du criblage primaire de la biodégradation des colorants.....	32
3.1	Biodégradation du rouge Congo.....	32
3.2	Biodégradation du bleu de méthylène	33
4	Résultats de l'étude macroscopique.....	34
5.	Résultats de l'étude physiologique	36
5.1	Tolérance à la température	36
5.2	Tolérance au pH.....	36
5.3	Tolérance au Na Cl.....	37
6.	Résultats des activités enzymatiques	37
6.1	Résultats de l'hydrolyse de l'amidon	37
6.2	Résultats de l'hydrolyse de la cellulose.....	38
6.3	Résultats de l'hydrolyse de la caséine	39
6.4	Résultat de l'hydrolyse de la pectine	39
6.5	Résultat de l'hydrolyse de Tween 20 et 80.....	40
6.6	Résultat de l'hydrolyse de la gélatine.....	40
6.7	Résultat d'hydrolyse de l'asparagine.....	41
6.8	Résultat d'hydrolyse de la glutamine	41
6.9	Résultat de l'hydrolyse de la tyrosine.....	42
6.10	Résultat de dégradation de la chitine colloïdale	42
6.11	Résultat de dégradation de l'urée	42

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Dans le cadre de cette étude, treize souches d'**actinobactéries** ont été sélectionnées afin d'évaluer leur potentiel de **dégradation des colorants textiles**. Les résultats issus du criblage initial, réalisé sur des milieux minéraux gélosés, en présence ou en l'absence de glucose, avec l'ajout séparé des colorants rouge Congo (**RC**), bleu de méthylène (**BM**) et safranine (**SO**), ont permis d'identifier deux souches présentant une activité significative de dégradation. Plus particulièrement, la souche Actino2 a montré une capacité à dégrader le **BM** à des concentrations allant de 50 mg/l à 150 mg/l, tandis que la souche Actino 6 s'est avérée efficace pour dégrader le **RC** à des concentrations allant de 50 mg/l à 250 mg/l tandis qu'aucune souche n'a présenté une activité dégradante significative pour la safranine. Ces souches se révèlent ainsi prometteuses pour leur exploitation en **bioremédiation** dans des environnements contaminés par ce type de colorants.

Par ailleurs, notre démarche s'est également orientée vers l'étude de la biodiversité métabolique des **actinobactéries**, en mettant l'accent sur les enzymes, lesquelles constituent des biomolécules de grande importance en biotechnologie. Nous avons donc exploré la diversité des **activités enzymatiques** exprimées par ces micro-organismes, soulignant leur potentiel en tant que sources de nouvelles enzymes aux applications variées dans ce domaine.

Mots clés : dégradation, colorants textiles, RC, BM, SO, bioremédiation, actinobactéries, activités enzymatiques.

Abstract

As part of this study, thirteen strains of *Actinobacteria* were selected to assess their potential for **degrading textile dyes**. The results of the initial screening carried out on mineral agar media, with or without glucose, with the separate addition of Congo red (**CR**), methylene blue (**MB**) and safranin (**SO**) dyes identified two strains with significant degradation activity. More specifically, the Actino 2 strain showed an ability to degrade **MB** at concentrations ranging from 50 mg/l to 150 mg/l, while the Actino 6 strain proved effectivity in degrading **CR** at concentrations ranging from 50 mg/l to 250 mg/l range, with no strain showing significant degradation activity for safranin. These strains therefore show promise for use in **bioremediation** in environments contaminated with this type of dye.

In addition, our approach also focused on studying the metabolic biodiversity of *Actinobacteria*, with an emphasis on enzymes, which are biomolecules of great importance in biotechnology. We therefore explored the diversity of **enzymatic activities** expressed by these microorganisms, highlighting their potential as sources of new enzymes with various applications in this field.

Keywords: degrading, textile dyes, RC, BM, SO, bioremediation, *Actinobacteria*, enzymatic activities.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales caractéristiques physico-chimiques de la SO...	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 2: Principales caractéristiques physico-chimiques du RC.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 3 : Principales caractéristiques physico-chimiques du BM.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 4: Résultats des colorations GRAM et les cultures sur lamelle des isolats étudiés.	29
Tableau 5: Résultats de la biodégradation du rouge Congo.....	32
Tableau 6: Résultats de la biodégradation du bleu de méthylène.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 7: Caractères morphologiques de la souche 2 sur différents milieux.....	34
Tableau 8: Caractères morphologiques de la souche 6 sur différents milieux.....	35
Tableau 9: Résultats des cultures à différentes températures.	36
Tableau 10: Résultats des cultures à différents pH.	36
Tableau 11: Résultats des cultures à différentes concentrations en NaCl.....	37

Liste des figures

Figure 1. Croissance d'un isolat d'actinobactérie sur le milieu ISP 2. a. mycélium aérien b. mycélium de substrat.	5
Figure 2 : Cycle de développement du genre Streptomyces sur milieu solide (Barka et al., 2016).....	6
Figure 3: Classification des colorants (Pandey et al., 2020).	8
Figure 4: Les risques associés aux effluents de l'industrie textile (Babuponnusami et Muthukumar, 2014).....	12
Figure 5: schéma représentatif du criblage primaire des colorants.....	21
Figure 6: Résultats de la catalase des souches étudiés.....	27
Figure 7: Résultats de la catalase des souches étudiés.....	28
Figure 8: Résultats de la biodégradation du RC.....	33
Figure 9: Résultats de la biodégradation du BM.	34
Figure 10: Caractères culturels des souches étudiés.....	34
Figure 11: Résultats de la dégradation de l'amidon.....	38
Figure 12: Résultats de la dégradation de la cellulose.....	38
Figure 13: Résultats de l'hydrolyse de la caséine.....	39
Figure 14: Résultats de l'hydrolyse de la pectine.....	40
Figure 15: Résultats de l'hydrolyse du Tween. (1) : Tween 80.....	40
Figure 16: Résultats de l'hydrolyse de la gélatine.....	41
Figure 17: Résultats de l'hydrolyse de l'asparagine.....	41
Figure 18: Résultats de l'hydrolyse de la glutamine.....	42
Figure 19: Résultats de l'hydrolyse de l'urée.	42

Liste des abréviations

MA: Mycélium aérien

MS: Mycélium de substrat

MO : Microscope optique

ISP : The International *Streptomyces* Project.

BM : bleu de méthylène

RC : rouge Congo

OGM : Organismes génétiquement modifiés

Introduction

Introduction

L'industrie textile se distingue clairement comme l'une des principales sources de pollution aquatique, étant responsable d'environ 20 % de la pollution mondiale de cette ressource essentielle. En effet, les effluents colorés issus des processus de teinture textile représentent une proportion considérable de cette contamination, avec environ 200 milliards de litres d'eaux usées teintées générées chaque année à l'échelle mondiale. Le rejet direct de ces effluents dans l'environnement pose un danger majeur, en raison de leur stabilité et de leur faible biodégradabilité. Ces eaux usées peuvent engendrer des phénomènes d'eutrophisation, perturber les écosystèmes aquatiques, et favoriser l'accumulation de substances toxiques dérivant des transformations chimiques ou biochimiques des colorants (**Sarkar et al., 2021**).

Dans un souci de préservation de l'environnement, des méthodes biologiques, connues sous le nom de bioremédiation, ont été proposées comme alternatives prometteuses. Ces techniques, qui font appel à l'utilisation de microorganismes, représentent une avenue innovante pour lutter contre cette pollution (**Kishor et al., 2018 ; Ceretta et al., 2020**). La bioremédiation et la biodégradation reposent sur l'action de divers microorganismes qui se révèlent particulièrement efficaces dans le traitement des eaux usées, grâce à leur croissance rapide, leur grande adaptabilité environnementale et leur polyvalence biochimique (**Chen et al., 2018 ; Bilińska et al., 2019 ; Garg et al., 2020**). Ces organismes ont la capacité de dégrader, décolorer, détoxifier et minéraliser une multitude de polluants à travers différentes voies métaboliques. De nombreuses études ont d'ailleurs démontré l'efficacité de diverses souches bactériennes pour la décoloration des eaux usées contenant des colorants.

Dans le cadre de notre recherche, nous aspirons à approfondir cette thématique en nous focalisant sur la capacité des isolats d'actinobactéries à dégrader les colorants. Les actinobactéries, qui appartiennent au phylum *Actinobacteria*, se caractérisent par leur nature Gram-positif et présentent souvent une morphologie filamenteuse évoquant celle des champignons, avec la capacité de former des spores. Cette particularité morphologique leur confère un avantage indéniable en termes de colonisation efficace des divers environnements.

De surcroît, ce groupe bactérien est largement reconnu pour sa richesse en diversité et son rôle crucial dans une multitude d'écosystèmes. Les actinobactéries participent activement aux processus de décomposition, contribuant ainsi au recyclage des éléments nutritifs dans le sol et la préservation de l'équilibre écologique.

Introduction

Notre objectif principal vise ainsi à évaluer l'efficacité de quelques souches d'actinobactéries non seulement pour leur aptitude à dégrader les colorants, mais aussi pour mieux comprendre leurs mécanismes métaboliques et leurs interactions avec les polluants, dans le but de développer des solutions durables pour le traitement des eaux usées. Cette recherche pourrait ainsi éclairer de nouvelles voies pour atténuer l'impact environnemental des effluents issus de l'industrie textile, tout en mettant en exergue le potentiel biotechnologique de ces microorganismes.

Synthèse bibliographique

***Chapitre 1 : Généralités sur les
actinobactéries***

1. Définition et généralités sur les actinobactéries

Les actinomycètes constituent un groupe de bactéries à Gram positif, caractérisées par un coefficient de contenu en bases guanine-cytosine (G+C) élevé, et adoptent un mode de vie saprophyte (**Goodfellow et O'Donnell, 1989**). Bien qu'ils soient des microorganismes procaryotes, leur morphologie présente une analogie frappante avec celle des microorganismes eucaryotes, tels que les champignons filamenteux (**Osada, 1998**). La majorité des actinomycètes se trouvent dans des milieux terrestres, bien que certaines espèces soient également marines (**Mincer et al., 2002**).

Ces bactéries sont omniprésentes dans l'environnement, la plupart d'entre elles étant chimioorganotrophes, aérobies et mésophiles. Elles prospèrent de manière optimale dans une plage de pH allant de 5,0 à 9,0, avec une proximité idéale à la neutralité (**Williams et Wellington, 1982a ; Goodfellow et Williams, 1983**). Divers facteurs influent sur l'abondance et l'activité des actinomycètes dans les sols, notamment la disponibilité des nutriments, la nature et la quantité de matière organique, la salinité, l'humidité relative, la température, le pH et la couverture végétale (**Goodfellow et Williams, 1983**).

La classification des actinobactéries a suscité des controverses, essentiellement du fait qu'elle reposait sur des critères morphologiques. Des études moléculaires ont mis en lumière l'insuffisance de cette approche, indiquant que des critères tels que la présence ou l'absence d'hyphes, ainsi que l'incapacité à produire des filaments ramifiés, ne sauraient être des bases adéquates pour leur classification (**Osada, 1998 ; Goodfellow, 1983**).

Selon le « **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology** » (volume 5), les actinobactéries se répartissent en sept classes taxonomiques majeures. Ces classes englobent une vaste diversité morphologique, incluant des cocci, des bacilles, des formes hyphales fragmentées et des mycéliums ramifiés (**Goodfellow, 1983**).

2. Historique

Cohn a été le premier à isoler des actinobactéries à partir d'échantillons humains en 1875 (**Williams et al., 1984**). En 1943 Waksman a réussi à isoler un type d'actinobactéries provenant du sol, de matières organiques en décomposition, des eaux et pratiquement de tous les environnements où la vie peut exister (**Theilleux, 1993**). Selon ce même auteur, l'histoire des actinobactéries se divise en quatre catégories majeures :

La première s'étend de 1874 aux années 1890 durant laquelle a eu lieu la découverte de leur rôle en pathologie.

La seconde période, de 1900 à 1919, est dédiée à l'identification et à l'étude des actinobactéries du sol, grâce aux travaux de **Kraisky, Cohn, Waksman et Curtis**.

La troisième période s'étend de 1919 à 1940, durant laquelle une meilleure compréhension du microbe a été acquise grâce aux travaux de recherche de **Waksman, Lieske et d'autres**.

La période la plus récente est celle qui a marqué l'avènement de la production d'antibiotiques par les actinobactéries. Cela remonte à 1940 et l'on associe ce fait au nom de **Salman Waksman (Boudemagh, 2007)**.

3. Caractères d'identification et de classification des actinobactéries

Les actinobactéries se distinguent par une grande diversité morphologique, étant parmi les bactéries à Gram positif les plus variées en termes de forme et de structure. Bien que leur organisation cellulaire soit typique des procaryotes, elle est fondamentalement différente de celle des champignons, tant sur le plan structural qu'en termes de fonction.

La cellule hyphale des actinobactéries, par exemple, présente une organisation qui reflète leur nature bactérienne. À l'intérieur du cytoplasme, on y trouve des zones contenant de l'ADN génomique, des ribosomes pour la synthèse des protéines, ainsi que diverses inclusions. Ces inclusions sont souvent des substances de réserve, telles que des poly phosphates, des lipides ou des polysaccharides, qui jouent un rôle essentiel dans la survie et la croissance des actinobactéries en fournissant des nutriments lorsque ceux-ci sont limités. (**Qinyuan et al., 2016**)

3 Caractères morphologiques

Les actinobactéries classiques possèdent également un mycélium radial, qui est bien développé et structurellement important pour leur mode de vie. Ce mycélium peut être subdivisé en deux catégories : le **mycélium de substrat**, qui se fixe au sol ou à la substance nutritive, et le **mycélium aérien**, qui se projette au-dessus de la surface. Cette distinction est cruciale, car elle permet aux actinobactéries de s'adapter à différents environnements et d'optimiser leur accès aux ressources.

De plus, certaines actinobactéries ont la capacité de former des structures complexes telles que des spores, des chaînes de spores, des sporanges et des sporangiospores (Qinyuan et al., 2016). Ces structures permettent non seulement la reproduction, mais elles offrent aussi une protection lors des conditions défavorables.

Les caractéristiques morphologiques des actinobactéries sont variées et influencent leur classification. Des facteurs tels que les modes de croissance et de rupture du mycélium de substrat, la position et le nombre de spores, ainsi que leur mobilité, sont d'une importance capitale. De plus, les structures de surface des spores, leur emplacement sur les hyphes et leur forme, ainsi que la morphologie des sporanges, sont tous des critères essentiels à prendre en compte. La présence ou l'absence de flagelles sur les sporangiospores est également un facteur différenciateur significatif dans leur classification (Bousnina et Ghedeir, 2020).

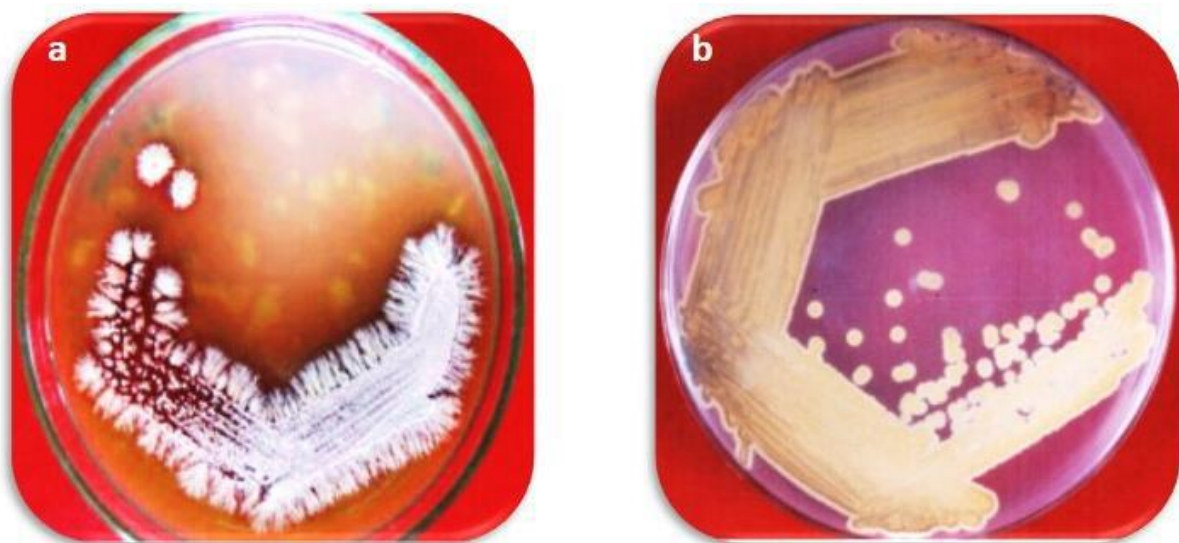


Figure 1. Croissance d'un isolat d'actinobactérie sur le milieu ISP 2. a. mycélium aérien b. mycélium de substrat.

4 Cycle de développement des actinobactéries

Le cycle de développement des actinomycètes est similaire à celui des champignons. Elles possèdent un cycle de vie de trois phases majeures, débutant par une croissance végétative, suivi d'une différenciation et une sénescence cellulaire s'achevant par la mort (Danielkoet *al.*, 2005).

Le cycle de vie de nombreuses actinobactéries débute par la germination des spores. Cette étape donne naissance à un mycélium primaire ramifié, appelé mycélium de substrat (Flrdh et Buttner, 2009), qui se développe à la surface du milieu de culture. Par la suite, un mycélium aérien émerge et s'élève au-dessus du mycélium de substrat, marquant une nouvelle phase du développement.

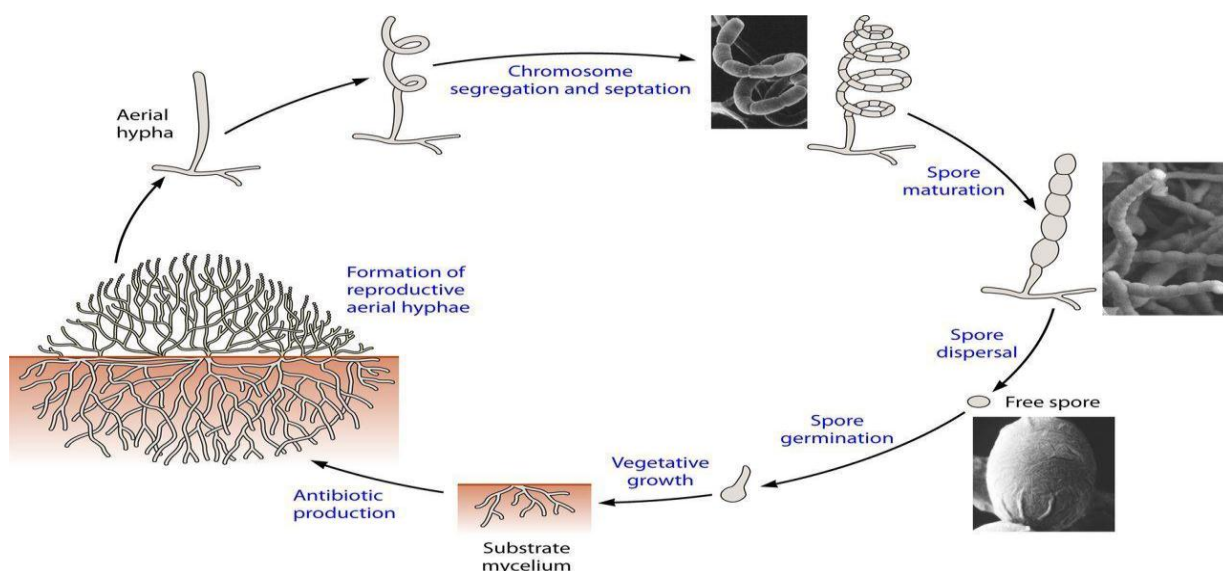


Figure 2 : Cycle de développement du genre *Streptomyces* sur milieu solide (Barka et al., 2016)

5 Enzymes synthétisées par les actinobactéries

Les actinobactéries sont reconnues pour leur la capacité de produire une diversité d'enzymes extracellulaires telles que : les protéases, les chitinases, les amylases, les cellulases, et les lipases (Park *et al.*, 2002).

5.1 Cellulases

Les cellulases sont des enzymes fréquemment utilisées dans l'industrie notamment dans le domaine textile et alimentaire (Mukhtar, 2017). Elles sont synthétisées par *Streptomyces*, *Thermobifida* et *Micromonospora* (Prakshet *al.*, 2013).

5.2 Protéases

Les protéases sont des enzymes importantes en biotechnologie. Elles sont synthétisées par les *Streptomyces*, les *Nocardia* et les *Nocardiopsis* (Mukhtar *et al.*, 2017). Elles sont appliquées dans les domaines : pharmaceutique, alimentaire et traitement de déchets. (Vonthiniet *al.*, 2008).

5.3 Chitinases

Les chitinases sont des enzymes connues pour leur haute performance dans des conditions extrêmes (Prakash *et al.*, 2013), sont utilisées contre les champignons pathogènes et pour le traitement des déchets de crustacés (Tsuji *et al.*, 2003). Elles sont produites par plusieurs actinobactéries comme *Streptomyces* et *Microbispora* (Mukhtar *et al.*, 2017).

5.4 Amylases

Les amylases sont des enzymes qui jouent un rôle important dans la dépollution, notamment dans le traitement des eaux usées industrielles riches en amidon. Elles sont produites notamment par *Streptomyces erumpens* et *Thermobifida fusca*. (Mobini-Dehkorde et Javan, 2012).

5.5 Lipases

Les lipases sont des enzymes produites par *Streptomyces exfoliatus* et *Nocardiopsis alba* (Mukhtar *et al.*, 2017). Elles sont utilisées dans l'élimination des effluents gras et la dépollution d'eau souterraine. (Mukhtar *et al.*, 2017).

Chapitre 2 : les colorants synthétiques

Chapitre 2 : Les colorants synthétiques

1. Définition

Les colorants synthétiques sont des composés chimiques, organiques, colorés et solubles dans l'eau (hydrosolubles) ou dans des solvants organiques (liposolubles), ce qui les rend adaptés à diverses applications. Ils sont conçus pour se lier fermement aux molécules de polymère des fibres textiles et doivent résister à une variété d'effets externes (Chequer et al., 2013 ; Benkhaya et al., 2020 ; Kiron, 2021). Cette résistance découle de l'interaction entre la molécule du colorant et le substrat à teindre, qui se forme par la création d'une liaison sélective entre la partie réactive de la molécule colorante et la molécule à teindre. Le substrat utilisé pour la teinture doit être stable à la lumière et résistant au lavage (Chatwal, 2009). Ces caractéristiques des colorants organiques augmentent leur persistance dans l'environnement et limitent leur biodégradabilité (PAGGA et BROWN, 1986).

2. Classification des colorants

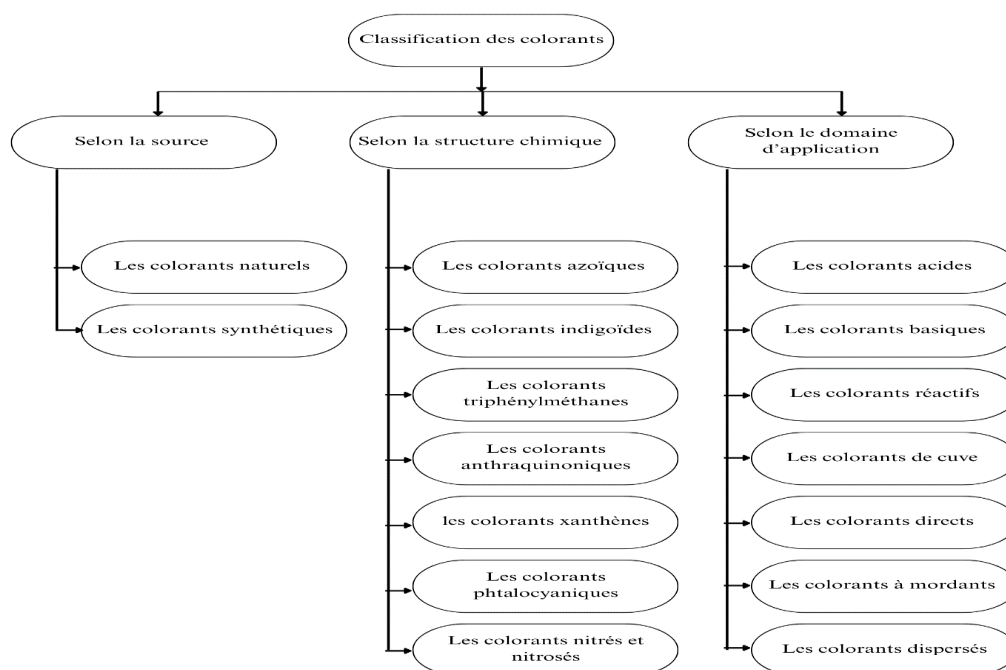


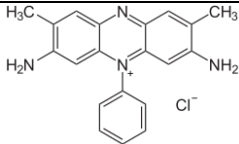
Figure 3: Classification des colorants (Pandey et al., 2020).

Chapitre 2 : Les colorants synthétiques

3. Propriétés des colorants étudiés

3.1 La safranine O

Tableau 1 : Principales caractéristiques physico-chimiques de la SO.

Nom	Safranine O
Famille	Phénazines
Formule brute	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄
Nomenclature	[diméthyl(phényl)ammonio]phénazin-5-yl]diméthylammonium dichlorure
Masse molaire (g/mol)	350.85
Solubilité dans l'eau à 20°C (g/l)	50
Structure	

➤ Les groupements fonctionnels de la SO

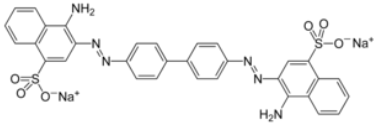
- Groupement amine (-NH₂) : il y a généralement deux groupements amine secondaires sur les cycles aromatiques. Ceux-ci sont impliqués dans la base de la structure phénazinique.
- Cycle aromatique : la SO comporte des noyaux benzéniques, ce qui lui confère une stabilité et permet la délocalisation des électrons.
- Cation ammonium (chargé positivement), -N⁺(CH₃)₂.

3.2 Le Rouge Congo

Tableau 2: Principales caractéristiques physico-chimiques du RC.

Nom	Rouge Congo
Famille	Azoïque
Formule brute	C ₃₂ H ₂₂ N ₆ O ₆ S ₂ Na ₂
Nomenclature	Sel de sodium de l'acide 3,3'-([1,1'-biphényl]-4,4'-diyl) bis (4-aminonaphtalène-1-sulfonique)

Chapitre 2 : Les colorants synthétiques

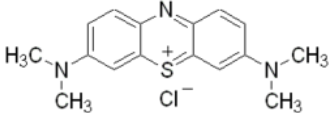
Masse molaire (g/mol)	696.7
Solubilité dans l'eau à 20°C (g/l)	2.3
Structure	

➤ Les groupements fonctionnels du RC

- Groupement Azo (-N=N-) : le RC contient deux liaisons Azo qui relient les cycles aromatiques. Ce sont les groupements chromophores principaux ils confèrent la couleur à la molécule.
- Groupes sulfonate (-SO₃⁻) : deux groupements sulfonate sont présents sur les extrémités de la molécule. Ils sont fortement polaires et chargés négativement, ce qui rend le rouge Congo hydrosoluble et lui permet d'interagir avec des structures chargées positivement telles que les protéines.
- Cycles aromatiques (benzéniques).
- Groupes amine aromatique (-NH₂) : présents sur les cycles aromatiques centraux. Ces amines sont électron-donneurs, ce qui renforce la délocalisation électrique à travers les liaisons Azo.

3.3 Le bleu de méthylène

Tableau 3 : Principales caractéristiques physico-chimiques du BM.

Nom	Bleu de méthylène
Famille	Xanthènes
Formule brute	<i>C₁₆H₁₈N₃SCl</i>
Nomenclature	Chlorure de 3,7-bis (diméthylamino)phénothiazin-5-ium
Masse molaire (g/mol)	320
Solubilité dans l'eau à 20°C (g/l)	40
Structure	

Chapitre 2 : Les colorants synthétiques

➤ Les groupements fonctionnels du BM

- Groupe amine secondaire (-NH-): il se trouve dans le cycle central. Il participe à la conjugaison des électrons sur l'ensemble de la molécule, il est essentiel pour la couleur.
- Groupement diméthylamino (-N (CH₃)₂): c'est un groupement amine tertiaire attaché à un cycle aromatique. Il est fortement électron-donneur par effet mésomère, ce qui influence la délocalisation électronique et donc l'adsorption de la lumière.
- Cycle aromatique.
- Ion thiazinium: le cœur de la molécule est un hétérocycle thiazine à six atomes, dont un azote quaternaire (chargé positivement, N⁺). Cette charge rend la molécule cationique, ce qui lui permet d'interagir avec les molécules chargées négativement (comme l'ADN ou les membranes cellulaires).

4. Toxicité des colorants étudiés

- Nausées, vomissements, douleurs abdominales.
- Céphalées, vertiges, confusion.
- Une irritation cutanée et respiratoire.
- Des brûlures oculaires endommageant la cornée.
- Des réactions allergiques et attaque microbienne (**Hongmiao et al., 2012**).

5. Impact des effluents textiles sur les écosystèmes aquatique

L'industrie des colorants est l'un des principaux contributeurs à la pollution de l'environnement. (**Cristovao et al. 2008**).

Chapitre 2 : Les colorants synthétiques

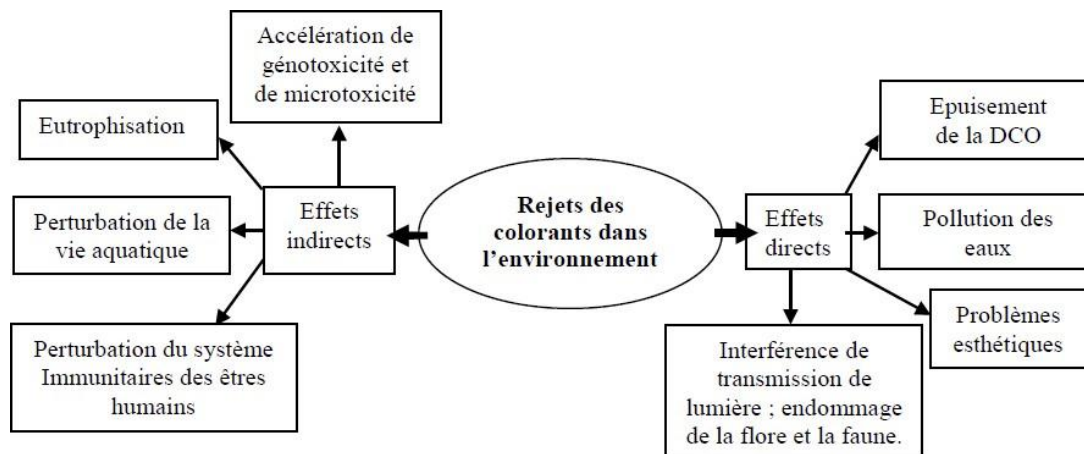


Figure 4: Les risques associés aux effluents de l'industrie textile(Babuponnusami et Muthukumar, 2014).

6. Définition des colorants textiles

Les colorants textiles sont composés de produits organiques ils peuvent être classés selon leur composition chimique (azoïques, anthraquinoniques, au soufre, à base de triphénylméthane, indigoïdes, à base de phtalocyanines, etc.) ou selon leur domaine d'application.

Dans le domaine textile, ces colorants doivent répondre à plusieurs critères techniques afin de garantir la durabilité des produits finis : résistance à l'abrasion, stabilité des couleurs à la lumière, résistance aux agents oxydants comme les détergents, ainsi qu'aux agressions microbienne. (Guivarch,2004).

Un colorant doit non seulement avoir sa propre couleur, mais également la capacité de teindre. Cette propriété découle d'une affinité particulière entre le colorant et la fibre, ce qui constitue l'une des principales difficultés rencontrées durant les traitements. L'affinité du colorant pour la fibre est particulièrement élevée pour les colorants présentant des caractères acides ou basiques marqués. les caractéristiques propres aux colorants organiques accroissent leur persistance dans l'environnement et les rendent peu disposés à la biodégradation. (PAGGA et BROWN, 1986).

7. Procédés d'élimination des colorants

Les techniques de dépollution intervenant le plus couramment dans les industries textiles se divisent en trois types :

Chapitre 2 : Les colorants synthétiques

7.1 Traitement Physique

Les techniques physiques de dégradation des colorants s'appuient sur des actions d'adsorption, floculation, osmose et filtration. Malgré leurs efficacités elles nécessitent souvent des coûts élevés et des processus de prétraitement.

7.2 Traitement Chimique

Les techniques chimiques d'élimination des colorants consistent en l'utilisation d'oxydants, d'agents réducteurs et de chlore. Bien que ces méthodes soient prouvées efficaces, elles peuvent générer des sous-produits toxiques et des volumes importants de boues.

7.3 Traitement Biologique

Ces méthodes consistent à faire intervenir une variété de micro-organismes pour la dégradation des colorants tels que les microalgues, les champignons, les bactéries. Les actinobactéries représentent un potentiel prometteur dans la bioremédiation.

*Chapitre 3: Biodégradation microbienne des
colorants textiles*

Chapitre 3 : Biodégradation microbienne des actinobactéries

Les actinobactéries disposent de plusieurs propriétés industrielles, ce sont les meilleurs candidats pour une application dans la bioremédiation. De nombreuses actinobactéries ont été identifiées pour leur aptitude à dégrader ces colorants (Lu *et al.*, 2013), telles que :

- *Rhodococcus* et *Kocuria rosea* excellent dans la dégradation du rouge de méthyle (Maniyam *et al.*, 2020).
- *Streptomyces globosus* est capable d'éliminer le colorant rouge acido-alcoolique (Ting, 2020).
- Même des souches issues de milieux extrêmes, comme *Thermobifida fusca* BCRC 19214, peuvent dégrader des colorants complexes, y compris ceux utilisés dans les produits capillaires (Chen *et al.*, 2013).

1. Enzymes microbiennes intervenant dans la biodégradation des colorants

1.1 Les oxydoréductases

1.1.1 L'azoréductase

Les colorants azoïques, résistants et persistants nécessitent une dégradation efficace pour réduire leur toxicité. Les azoréductases, jouent un rôle clé dans ce processus en catalysant la réduction de la liaison azoïque, ce qui permet de décomposer ces colorants en composés simples et non toxiques (Reda *et al.*, 2018 ; Jadhav *et al.*, 2007 ; Jeevitha *et al.*, 2018).

Ces enzymes appartenant à la classe des oxydoréductases, utilisent des cofacteurs comme le NADH ou le NADPH pour transférer des électrons, et leur mécanisme implique souvent la rupture de la liaison -N=N- en amines aromatiques, résultant la formation de produits non toxiques tels que le dioxyde de carbone, l'eau ou des sels inorganiques (SenthilRathi *et Senthil Kumar*, 2022).

1.2 Les oxydases

1.2.1 La laccase

Les laccases sont des enzymes de la classe des oxydases qui catalysent l'oxydation de divers composés aromatiques, tout en réduisant l'oxygène pour former de l'eau (Janusz *et al.*, 2020). Elles peuvent décomposer des composés phénoliques et non phénoliques liés à la lignine, ainsi que divers polluants environnementaux très résistants, ce qui en fait des outils

Chapitre 3 : Biodégradation microbienne des actinobactéries

précieux pour la bioremédiation, la détoxification des effluents industriels et le traitement des eaux usées. Les laccases, qui contiennent du cuivre, peuvent dégrader les colorants azoïques sans médiateurs Red/Ox, bien que leur spectre d'action puisse s'élargir par l'ajout de médiateurs. Elles clivent ces colorants en produisant des molécules d'azote non toxiques, facilitant ainsi leur élimination. La combinaison de laccase brute et de nanoparticules d'iodure de cuivre permet une dégradation rapide des colorants azoïques, surpassant les autres méthodes de dégradation (**Sridharan et al., 2021**)

1.2.2 Tyrosinase

Les tyrosinases sont des poly phénol oxydases à base de cuivre qui catalysent l'hydroxylation de certains mono phénols, ainsi que l'oxydation des o-diphénols en o-quinones, utilisant l'oxygène moléculaire pour ces réactions (**Chen et Flurkey, 2002**). Ces enzymes ont été largement étudiées pour leur rôle potentiel dans la dégradation microbienne des colorants. De manière générale, cette enzyme ne requiert que l'oxygène moléculaire comme cofacteur pour effectuer la détoxification. Lors de son action, la tyrosinase induit la polymérisation et la précipitation des phénols, facilitant leur élimination lors du traitement des eaux usées.

2. Dernières avancées en matière de dégradation bactérienne des colorants

La recherche sur la biodégradation des colorants connaît des avancées importantes et continues, essentielles pour répondre aux défis environnementaux liés à la pollution colorée. Ces progrès offrent des solutions prometteuses pour réduire l'impact nocif de ces substances sur les écosystèmes et la santé humaine, soulignant l'importance de poursuivre les efforts dans ce domaine.

2.1 Consortium microbien

Les consortiums microbiens, composés de microorganismes en synergie, dégradent efficacement les colorants dans les eaux usées grâce à leurs enzymes variées et leur capacité d'adaptation, offrant une solution performante pour la dépollution. (**Das et al., 2023**).

Chapitre 3 : Biodégradation microbienne des actinobactéries

2.2 Utilisation des bactéries immobilisées

L'immobilisation des bactéries renforce leur stabilité et leur efficacité pour dégrader les colorants dans les eaux usées, grâce à des supports stables et économiques. (Moyo et al., 2022).

2.3 Génie génétique

La bioremédiation a été révolutionnée par la génie génétique, permettant de créer des organismes modifiés pour améliorer la dégradation des colorants. Ces OGM sont conçus pour être plus efficaces dans des environnements spécifiques. Par exemple : une souche d'*E. coli* capable de décomposer le remazol rouge a été créée en transférant un gène spécifique de *Bacillus*. (Varjani et al., 2020).

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

Cette section est consacrée à la présentation du matériel et des méthodes employées pour l'étude de la biodégradation des colorants synthétiques par les actinobactéries. L'expérimentation a été conduite au sein du laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologie (LABAB) de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

1. Produits

- **Colorants**
 - Bleu de méthylène
 - Rouge de Congo
 - Safranine O
 - Fuchsine basique
 - Violet de gentiane
- **Réactifs**
 - Acétate de cuivre à 7.5%
 - Rouge de phénol
 - Phénol
 - Ethanol
 - Iodure de potassium
 - Iode
- **Composants des milieux de culture**
 - Tryptone
 - Extrait de levure
 - Extrait de malt
 - Glucose
 - Peptone
 - NaCl
 - Amidon
 - Tween 20 et Tween 80
 - Gélatine
 - Pectine
 - Tyrosine

Matériels et méthodes

- Urée
- Chitine
- Agar
- Eau distillée

2. Matériel biologique

Le matériel biologique de cette étude qui comporte des isolats de 13 souches d'actinobactéries a été procuré par Mme Mouzaoui. Le choix des deux souches étudiées s'est établi par une sélection se basant sur leur performance dans la production de divers métabolites secondaires.

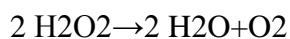
3. Revivification des souches

La revivification des souches conservées à une température de 4°C a été réalisée par un repiquage sur le milieu ISP2 et incubation à 28°C pendant 7-15 jours.

4. Etude biochimique

4.1. La recherche de la catalase

La catalase est une enzyme d'une importance capitale dans le métabolisme aérobie. Cette molécule enzymatique facilite la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), en eau (H_2O) et en dioxygène (O_2) (Dunod, 1999). Cette réaction est représentée par l'équation chimique suivante :

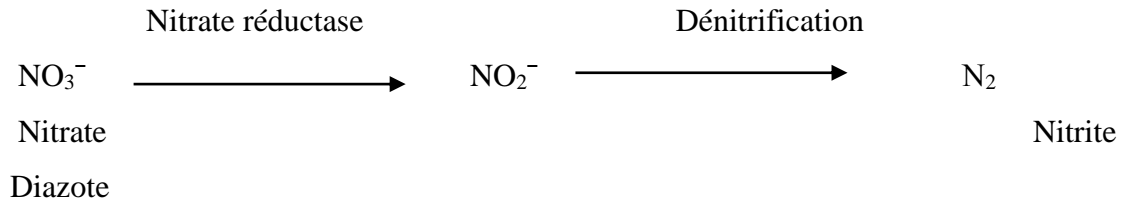


Pour mettre en évidence la présence de la catalase, on procède comme suit: sur une lame déposer une goutte d'eau oxygénée, puis ajouter une colonie de la souche à tester. En présence de catalase, on observera un dégagement gazeux de dioxygène indiquant que le test catalase est positif (Li et al., 2016)

4.2. La recherche de la nitrate réductase

La nitrate réductase est une enzyme qui catalyse la réaction de réduction des nitrates en nitrites. La détection de ces nitrites s'effectue à l'aide des réactifs NR1 et NR2. Certaines bactéries poursuivent cette réduction jusqu'à atteindre le processus de dénitrification selon :

Matériels et méthodes



Pour rechercher les nitrate-réductases, des souches bactériennes sont cultivées dans des tubes de bouillon nitraté incubés pendant 6 jours à 28 °C.

4.3. La recherche de l'oxydase

L'oxydase est une enzyme qui oxyde le réactif N-diméthyle-paraphénylène-diamine en présence d'oxygène et de cytochrome C, formant un composé violet.

Pour la recherche de l'oxydase, nous avons déposé une colonie pure d'actinobactérie sur un disque d'oxydase, placé sur une lame. Un résultat positif se manifeste par l'apparition d'une coloration violette sur le disque.

5. Etude microscopique

Nous avons effectué la coloration de gram pour l'ensemble des souches afin de vérifier leurs puretés et confirmer leurs appartenances au actinobactéries.

- Réalisation d'un frottis.
- Coloration par le violet de gentiane pendant 2minutes.
- Fixation avec du Lugol deux fois pendant 45 secondes.
- Décoloration avec de l'alcool pendant 30 secondes puis rinçage.
- Recoloration avec de la fuchsine pendant 2 minutes puis rinçage.
- Observation à l'immersion (objectif100).

6. Culture sur lamelle

La culture des actinobactéries sur lamelle est une technique permettant d'étudier leur morphologie et leur croissance. Cette méthode est utile pour l'identification et la caractérisation des actinobactéries, notamment pour observer la structure de leurs mycéliums. Elle se réalise sur une lamelle stérile insérée dans un milieu de culture (ISP2) formant un angle de 45° avec la surface du milieu. Une goutte d'inoculum est ensuite déposée sur la lamelle, en contact avec le milieu de culture. Les lamelles

Matériels et méthodes

sont ensuite incubées à 28°C pendant 10 jours. Après incubation elles sont retirées du milieu, déposées sur une lame puis observées au microscope optique Gr × 40.

7. Criblage primaire de la biodégradation des colorants

Préparation des solutions mères des colorants

Nous avons préparé des solutions mères à 5g/l pour chaque colorant (RC, BM et SO) dans 100 ml d'eau distillée. Agiter soigneusement jusqu'à obtention d'une solution parfaitement homogène. Filtrer ensuite cette solution à l'aide d'un filtre à seringue stérile (0,22 µm).

Préparation des milieux avec différentes concentrations de colorants

Après avoir préparé le milieu minéral, avec ou sans glucose comme indiqué dans l'annexe, réaliser une série de dilutions contenant des concentrations croissantes de colorant, allant de 50 à 250 mg/l.

Inoculum général

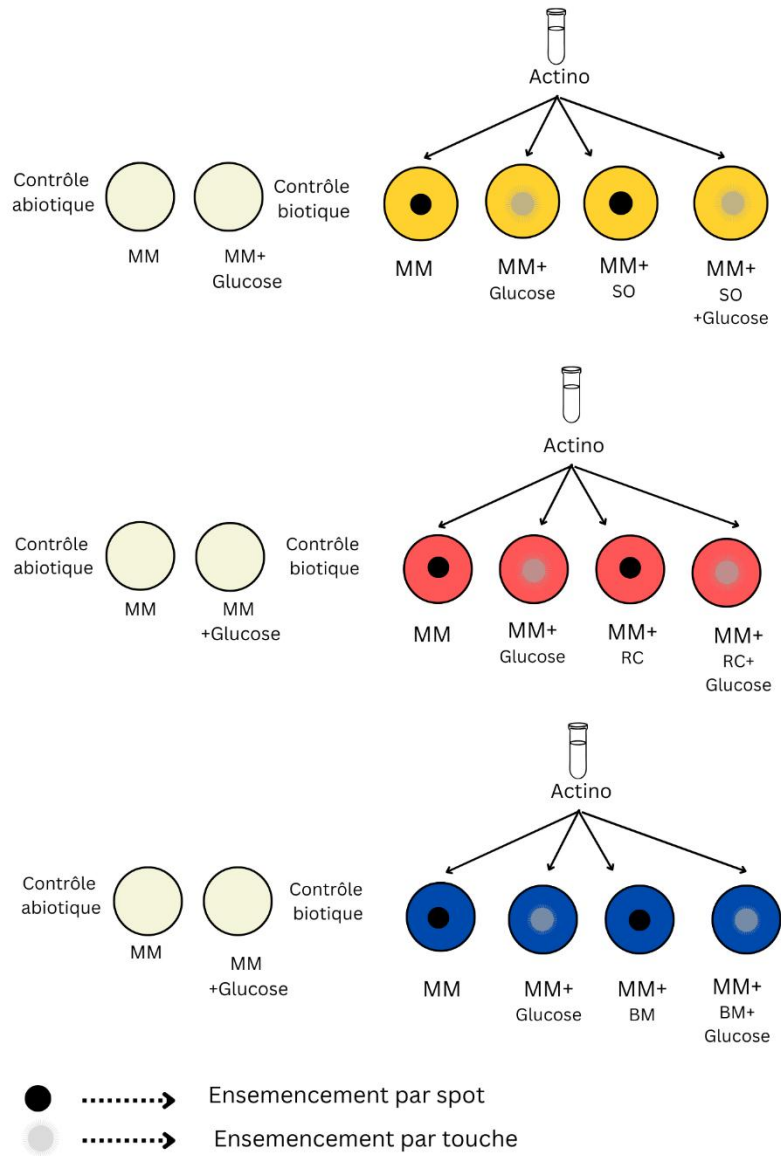
Les souches étudiées sont cultivées dans un milieu ISP2 pendant une période de 07 à 15 jours à 28°C. Ensuite, des suspensions denses sont préparées à partir de ces cultures : à l'aide d'une boucle, on racle les colonies et on les met en suspension dans de l'eau physiologique stérile.

Test d'activité sur milieu solide

Pour l'étude de la biodégradation des colorants, nous avons sélectionné : le bleu de méthylène, le rouge Congo et la safranine O. Cette étude a été menée en utilisant deux milieux minéraux distincts : l'un contenant du glucose, et l'autre en l'absence de celui-ci. Les souches microbiennes ont été ensuite inoculées par spots et par touche, puis incubées à une température de 28°C pendant une durée de 28 jours. La dégradation des colorants a été caractérisée par l'apparition de zones de décoloration, entourant les colonies microbiennes.

Les souches les plus performantes ont été sélectionnées pour la suite de l'étude.

Matériels et méthodes



MM : milieu minéral

SO : Safranine O

RC : Rouge Congo

BM : bleu de méthylène

Figure 5: schéma représentatif du criblage primaire des colorants.

8. Etude macroscopique

Les caractères morphologiques représentent une grande importance en taxonomie bactérienne. Ils consistent à étudier l'aspect des colonies, la production des pigments et la forme du mycélium aérien et du mycélium du substrat. Ils sont déterminés sur différents milieux tels que : ISP2, ISP1, ISP3, ISP6, ISP7, milieu BENNET et Williams. L'ensemencement est réalisé par la technique d'épuisement

Matériels et méthodes

afin d'obtenir des colonies isolées. Les souchesensemencées sont ensuite incubées à 28°C pendant sept jours.

9. Etude physiologique

9.1. Croissance à différentes températures

Chaque bactérie possède une température spécifique à laquelle sa croissance atteint son degré optimal, ainsi que des seuils extrêmes au-delà desquels son développement cesse. La croissance des actinobactéries a été étudiée sur milieu ISP2, à différentes températures (5°C, 20°C, 28°C, 30°C, 35°C, 37°C, 40°C, 45°C et 50°C) sur une période de 21 jours, conformément à la méthodologie décrite par **Meklat (2012)**.

9.2. Tolérance au pH

L'évaluation de la tolérance au pH a été effectuée en utilisant le milieu ISP2, dont le pH a été ajusté allant de 3 à 13, afin d'étudier la capacité de nos souches à survivre et à se développer dans des conditions physico-chimiques extrêmes. Pour ce faire, les souches ont été inoculées sur des boîtes de Pétri par technique de stries, puis incubées à une température constante de 28°C durant 14 jours.

9.3. Tolérance au Na Cl

L'analyse de la tolérance aux diverses concentrations de chlorure de sodium (NaCl) a été réalisée sur un milieu de culture ISP2, en faisant varier la teneur en NaCl selon plusieurs niveaux, notamment : 3%, 5%, 7% et 10%. Les souches sont ensuite incubées à 28°C pendant 7 jours. Cette étude vise à déterminer leur seuil de tolérance et leur adaptation à des environnements salins.

10. Mise en évidence de l'activité enzymatique

10.1. Hydrolyse de l'amidon

Le test d'hydrolyse de l'amidon peut être effectué sur plusieurs milieux de culture, tels que le milieu BENNET, l'ISP 9, la gélose de GAUSSE, ainsi que le milieu MA, qui contient de l'amidon à des concentrations de 1 % ou 2 %. L'inoculation des souches à tester peut se réaliser soit par dépôt de spots, soit par l'application d'une strie centrale. Les cultures doivent ensuite être incubées à une température de 28 °C

Matériels et méthodes

pendant une période variant de sept à dix jours (**dos Santos et al., 2012 ; Khwaja et al., 2011**).

L'évaluation de l'hydrolyse de l'amidon s'effectue par l'inondation des boîtes de culture avec une solution de Lugol. Après une minute d'exposition, il est possible d'observer une coloration bleuâtre sur la gélose, signalant ainsi la présence d'amidon. Par ailleurs, une zone claire entourant les spots d'inoculation indique la dégradation de l'amidon, et par conséquent, l'hydrolyse effectuée par les souches testés (**Tatsinkou et al., 2005 ; Boudemagh, 2007 ; Haritha et al., 2010**).

10.2. Hydrolyse de la cellulose

L'activité cellulolytique est réalisée sur un milieu gélosé enrichi d'un pourcentage de 1 % de carboxyméthyl cellulose (CMC) dont la composition est détaillée en annexe.

Pour étudier l'hydrolyse de la cellulose, les cultures microbiennes sont soigneusement inoculées et incubées à une température constante de 28 °C pendant une durée de sept jours, selon les protocoles établis par **Saini et al. (2016) et Jeffrey (2008)**.

Afin de mettre en évidence la formation de zones claires sur le milieu gélosé, on emploie des techniques de coloration. Deux colorants sont souvent utilisés pour cette visualisation : le rouge Congo et l'iode de Gram. Pour utiliser le rouge Congo, une solution à 0,1 % est appliquée sur les cultures pendant 15 minutes. Ensuite, pour retirer l'excès de colorant, une décoloration est réalisée avec une solution de NaCl à 1M, qui est appliquée pendant 15 à 20 minutes, comme le précisent **Rathore et al. (2012) ainsi que Das et al. (2012)**. Ceci permettra de visualiser une zone d'hydrolyse autour des stries ou spots inoculées sur la gélose.

10.3. Hydrolyse de la caséine

Pour évaluer l'activité protéolytique, on utilise des milieux de culture solides gélosés enrichis en sources de protéines, tels que des milieux contenant 5 % de lait écrémé ou l'ISP9 additionné de 20 % de lait écrémé (voir annexe) (**Viswanathan et al., 2015 ; Habbeche et al., 2013 ; Jani et al., 2012**).

L'inoculation des souches à tester se réalise par l'application de stries sur la surface gélosée, suivie d'une incubation à une température constante de 28 °C pendant une

Matériels et méthodes

durée de sept jours. L'évaluation de l'activité protéolytique est effectuée en observant l'apparition d'une auréole claire autour des colonies microbiennes (**Raval et al., 2012 ; Roy et al., 2014**). Ce halo clair résulte de l'hydrolyse des protéines par les enzymes protéolytiques sécrétées par les actinobactéries, confirmant ainsi leur capacité à décomposer les protéines.

10.4. Hydrolyse de la pectine

Afin de déterminer l'activité pectinolytique, on utilise différents milieux contenant de la pectine, comme le milieu Pectine-Agar, ISP9 additionné de pectine. (Annexe)

Les souches étudiées sont ensemencées en stries ou en spots puis incubées à 28°C pendant sept jours (**Priyanka, 2019 ; Salehghamari et al, 2010**).

La production de pectinase est observée en ajoutant l'acétate de cuivre pendant 1 heure, ce dernier fait apparaître des halos clairs autour des colonies indiquant ainsi la dégradation de la pectine. (Saoudie al, 2015 ; Daseal., 2012).

10.5. Hydrolyse du Tween 20 et Tween 80

Pour étudier la capacité de nos souches à dégrader la Tween 20 et Tween 80, celles-ci ont été mises en culture dans le milieu Sierra additionné de Tween20 ou Tween80 dont la composition est détaillée en annexe. (**Jeffri et Halizah, 2014 ; Kishore, 2011**).

L'ensemencement est réalisé en spots et en strie centrale. L'incubation se fait à 28°C pendant 7 à 15 jours. L'apparition d'un halo opaque autour des spots et des stries indique la dégradation de la Tween 20 ou la Tween 80. (**Korayem et al., 2015 ; Mansour et al., 2015**).

10.6. Hydrolyse de la gélatine

Pour évaluer la capacité des souches étudiées à dégrader la gélatine on réalise une culture dans de l'ISP 2 additionné de gélatine répartie dans des tubes afin de bien visualiser la dégradation ou non de la gélatine.

L'incubation est réalisée à 28°C pendant 7 jours.

Matériels et méthodes

Après l'incubation, la liquéfaction de la gélatine indique la présence des gélatinases chez nos souches.

10.7. Hydrolyse de la L-asparagine

La recherche de la L-asparginase est réalisée sur le milieu de culture M9 (voir annexe), ensemencée par l'application de stries et des spotset incubée à une température de 28°C. L'observation a été effectuée après une période de 7 jours, puis prolongée jusqu'au dixième jour d'incubation. La dégradation de la L-asparagine se traduit par une coloration rose apparaissant autour des colonies bactériennes, conformément aux observations de **Ravi Varma et al. (2016)**.

10.8. Hydrolyse de la L-glutamine

La détection de l'activité de la glutaminase a été réalisée sur la gélose MGA (voir annexe), conformément à la méthodologie décrite par **Reda (2015)**. Le milieu a été ensemencé par la méthode de stries et des spots, puis incubé à une température de 28°C. Les observations ont été effectuées au bout de 7 à 10 jours. La dégradation de la L-glutamine se manifeste par l'apparition d'une coloration rose, qui s'étend autour des colonies bactériennes.

10.9. Hydrolyse de la tyrosine

Ce test consiste à évaluer la capacité des isolats à produire la tyrosinase, sur une gélose enrichie en tyrosine. Le milieu est ensemencé par application de spots, puis incubé à une température de 28°C. L'observation initiale est effectuée après 5 jours d'incubation, et le suivi se poursuit jusqu'à un délai maximal de 21 jours. La dégradation de la tyrosine par l'action de la tyrosinase se manifeste par l'apparition d'une auréole décolorée entourant les colonies. Au fil du temps, cette auréole peut évoluer vers une coloration noire (**Raval et al., 2012 ; Roy et al., 2014**).

10.10. Hydrolyse de la chitine colloïdale

La capacité de nos isolats à dégrader la chitine colloïdale a été évaluée sur une gélose enrichie en chitine dont la composition est détaillée en annexe. Le milieu est ensuite ensemencé en spots et en stries puis incubé à une température de 28 °C pendant une période de 15 jours. La manifestation d'une zone claire ou halo autour

Matériels et méthodes

des colonies, visible à l'œil nu, constitue un indicateur positif de production de chitinase par les isolats, **Roberts et Selitrennikoff (1988)**.

10.11. Hydrolyse de l'urée

L'évaluation de la capacité de nos isolats à produire l'enzyme uréase a été réalisée sur le milieu de Christensen, selon les travaux de **Hammad et al. (2013)**. Ce milieu est ensemencé par stries et spots, puis incubé à une température de 28 °C, durant une période comprise entre 10 et 14 jours. La présence d'une activité uréase est indiquée par une augmentation du pH local. Cette augmentation est exprimée par le changement de couleur, passant d'un jaune initial à une teinte rose.

Résultats et discussions

Résultats et discussions

1 Résultats de l'étude biochimique

1.1. Recherche de la catalase

L'ajout d'une goutte d'eau oxygénée à des colonies, a montré une activité catalase positive pour toutes les souches indiquées par la formation de bulles de dioxygène.

La Figure 09 présente le résultat de la dégradation de La catalase :



Figure 6: Résultats de la catalase des souches étudiés.

1.2. Recherche du nitrate réductase

Après l'incubation, on ajoute le réactif de GRIESS aux tubes. L'absence de changement observé à cette étape est ensuite suivie de l'ajout de poudre de zinc. L'ajout de zinc n'effectuant aucun changement, indique que toutes les souches ont réduit les nitrates (NO_3^-) en azote gazeux, ce qui constitue un résultat positif. (Delarras, 2014).

1.3 Recherche de l'oxydase

Après avoir imbibé les disques d'oxydase avec les suspensions d'actinobactéries, une coloration violette a été observée, témoignant ainsi la présence de l'enzymatique oxydase chez ces souches.

La Figure 10 présente le résultat de la dégradation de l'oxydase :

Résultats et discussions

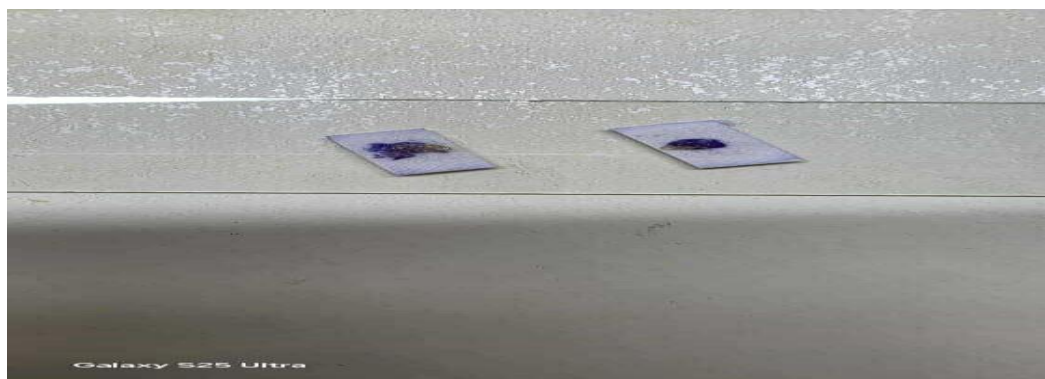


Figure 7: Résultats de la catalase des souches étudiés.

2 Résultats de l'étude microscopique

2.1 La coloration GRAM

L'observation microscopique de nos isolats, après coloration de Gram a démontré que les 13 souches étudiées sont des bactéries à Gram positif ayant une structure filamenteuse.

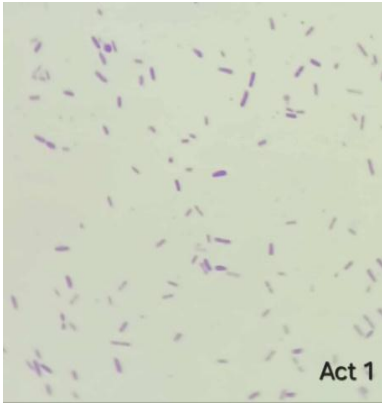
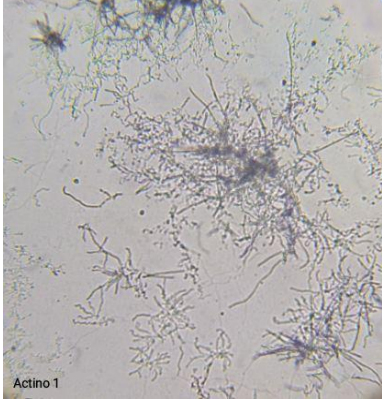
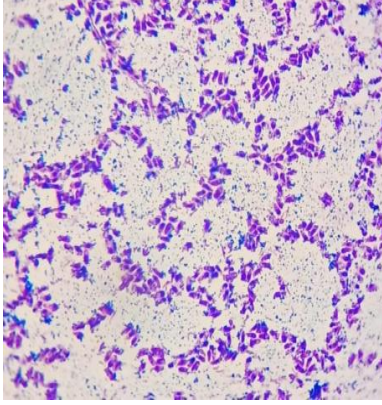
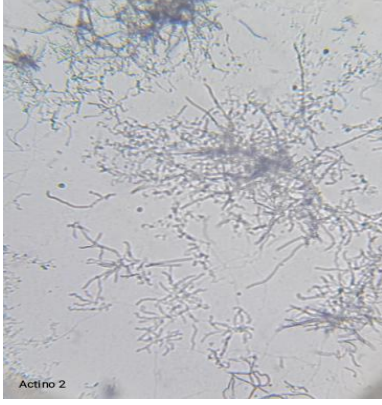
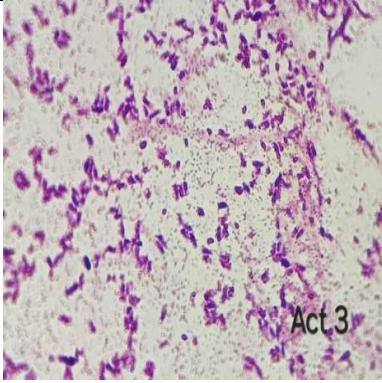
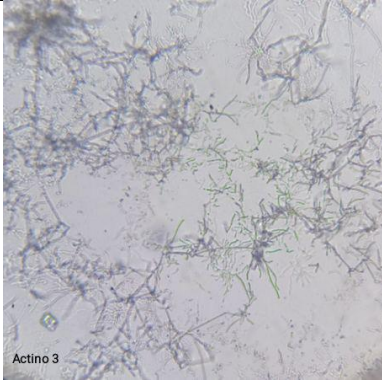
En effet, ces résultats concordent parfaitement avec ceux obtenus par **Zerizer et al. (2006)**, ainsi que par **Djaballah (2010)** et **Boudjella (2007)**. Ces chercheurs ont mis en évidence que l'observation microscopique des actinomycètes, et plus particulièrement des genres *Streptomyces*, révèle un aspect filamenteux marqué par la présence de spores, que ce soit isolées ou regroupées en amas. Ces spores peuvent se présenter sous forme de chaînes courtes ou longues, ou encore apparaître sous forme d'enchevêtrements non fragmentés, renforçant ainsi leur affiliation à la famille des bactéries à coloration de Gram positive.

En somme, ces observations microscopiques confirment la nature structurale et biologique de nos isolats, leur conférant une identité cohérente avec la morphologie typique des actinomycètes, en particulier des streptomycètes, et leur appartenance à la classe des bactéries à Gram positif, conforme aux données scientifiques existantes.

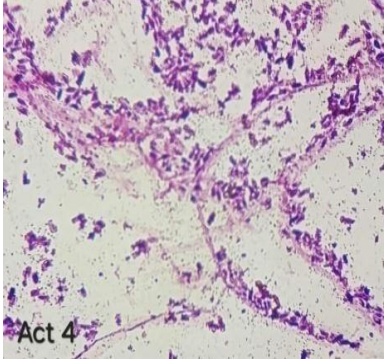
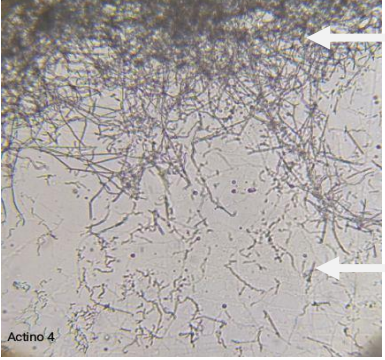
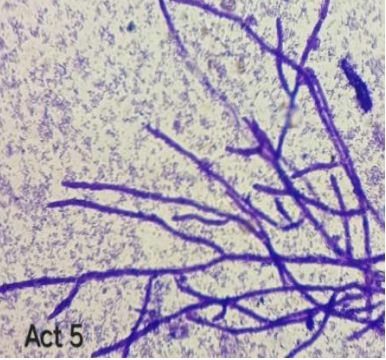
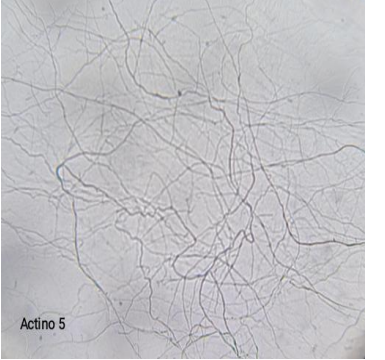
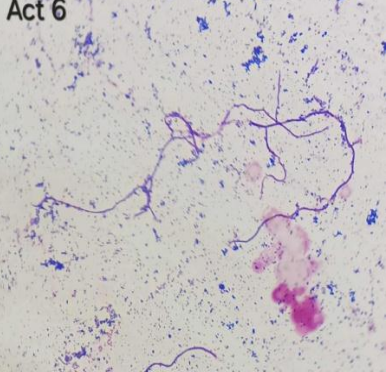
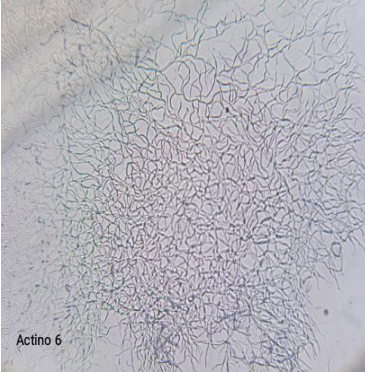
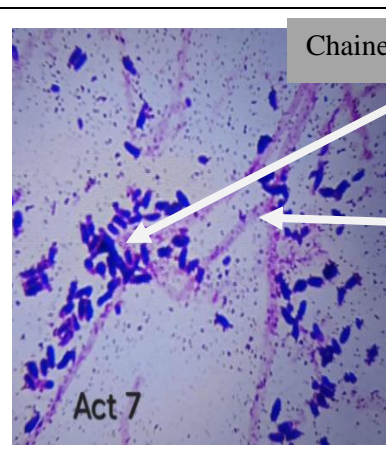
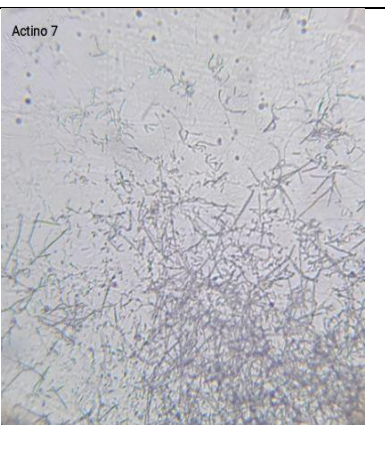
Les résultats de la coloration GRAM et la culture sur lamelle apparaissent dans le tableau suivant :

Résultats et discussions

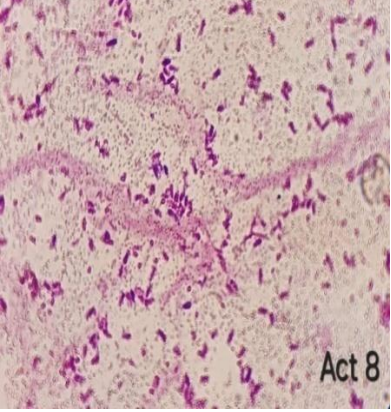
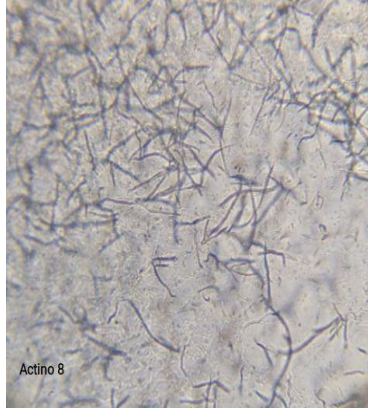
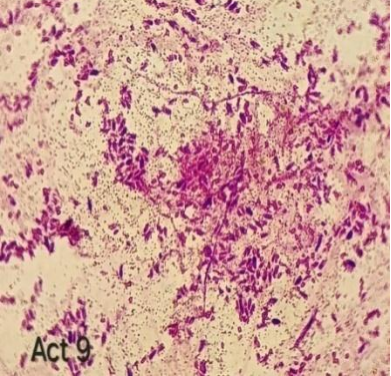
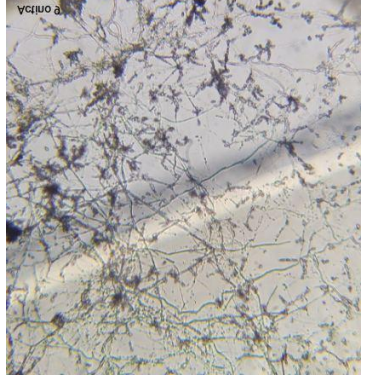
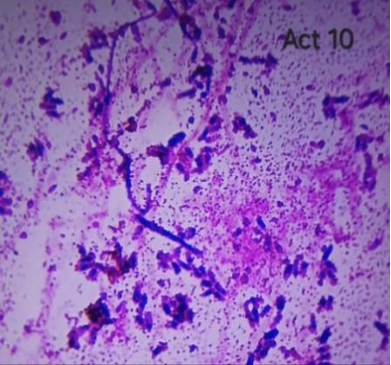
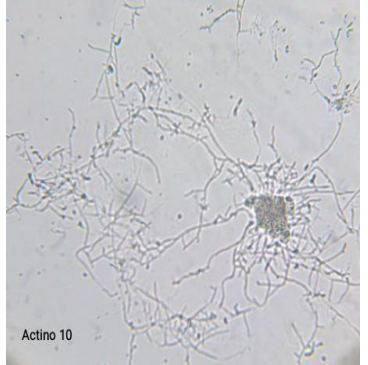
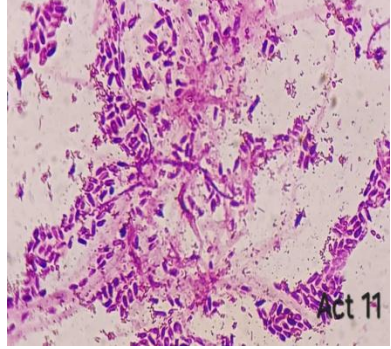
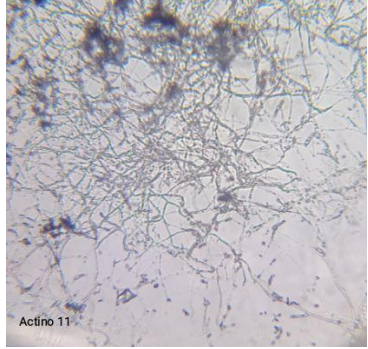
Tableau 4: Résultats des colorations GRAM et les cultures sur lamelle des isolats étudiés.

Souches	Coloration GRAM	Culture sur lamelle
Souche 1	 <p>Act 1</p>	 <p>Actino 1</p>
Souche 2		 <p>Actino 2</p>
Souche 3	 <p>Act 3</p>	 <p>Actino 3</p>

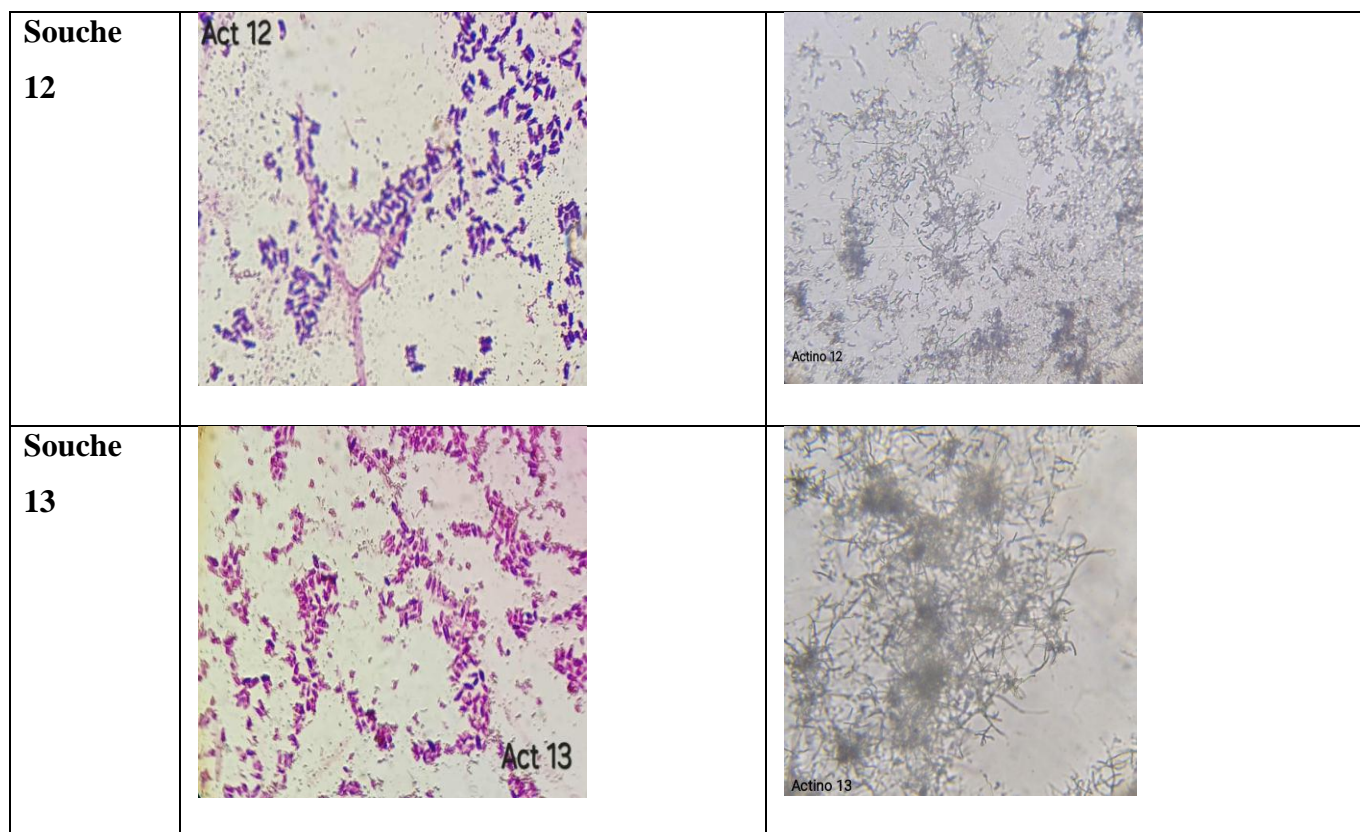
Résultats et discussions

<p>Souche 4</p>		
<p>Souche 5</p>		
<p>Souche 6</p>		
<p>Souche 7</p>		

Résultats et discussions

Souche 8	 <p>Act 8</p>	 <p>Actino 8</p>
Souche 9	 <p>Act 9</p>	 <p>Actino 9</p>
Souche 10	 <p>Act 10</p>	 <p>Actino 10</p>
Souche 11	 <p>Act 11</p>	 <p>Actino 11</p>

Résultats et discussions



3 Résultats du criblage primaire de la biodégradation des colorants

3.1 Biodégradation du rouge Congo

Les souches 2 et 6 ont dégradé le rouge Congo dans toutes les concentrations de 50 mg/là 250 mg/l et elles étaient plus performantes en présence du glucose.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant

Tableau 5: Résultats de la biodégradation du rouge Congo.

Milieu \ Souche	MM		MM+G	
	S	T	S	T
Souche 6	+++	+++	++++	++++
Souche 2	++	++	+++	+++

++++ : très abondant ; +++ : abondant ; ++ : modéré ; S : spot ; T : strie

Résultats et discussions

MM : milieu minéral.

T : ensemencement par touche.

MM+G : milieu minéral + glucose.

S : ensemencement par spots

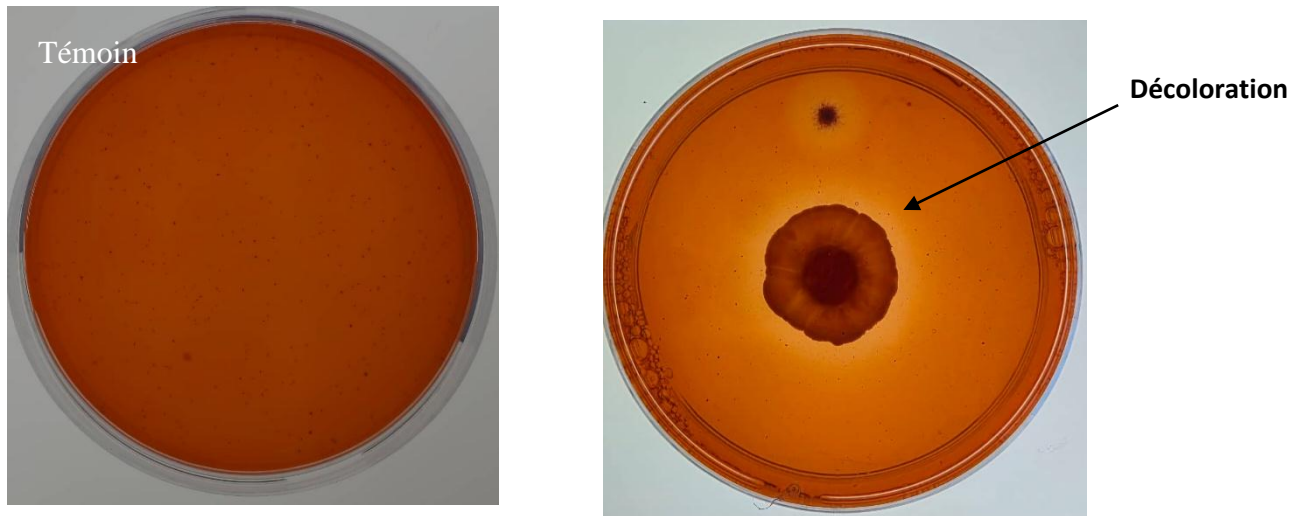


Figure 8: Résultats de la biodégradation du RC.

3.2 Biodégradation du bleu de méthylène

La souche 2 a dégradé le bleu de méthylène uniquement dans les concentrations 50 mg/l, 100 mg/l et 150 mg/l et avec une meilleure performance en présence du glucose, quant à la souche 6, elle n'a même pas pu pousser sur le milieu contenant le bleu de méthylène. Cela indique que le bleu de méthylène est toxique pour cette souche. Le tableau suivant présente les résultats de la dégradation du bleu de méthylène :

Tableau 6: Résultats de la biodégradation du bleu de méthylène.

Milieu \ Souche	MM		MM+G	
	S	T	S	T
Souche 2	+++	+++	++++	++++
Souche 6	-	-	-	-

+++ : abondant ; - : pas de croissance

Résultats et discussions

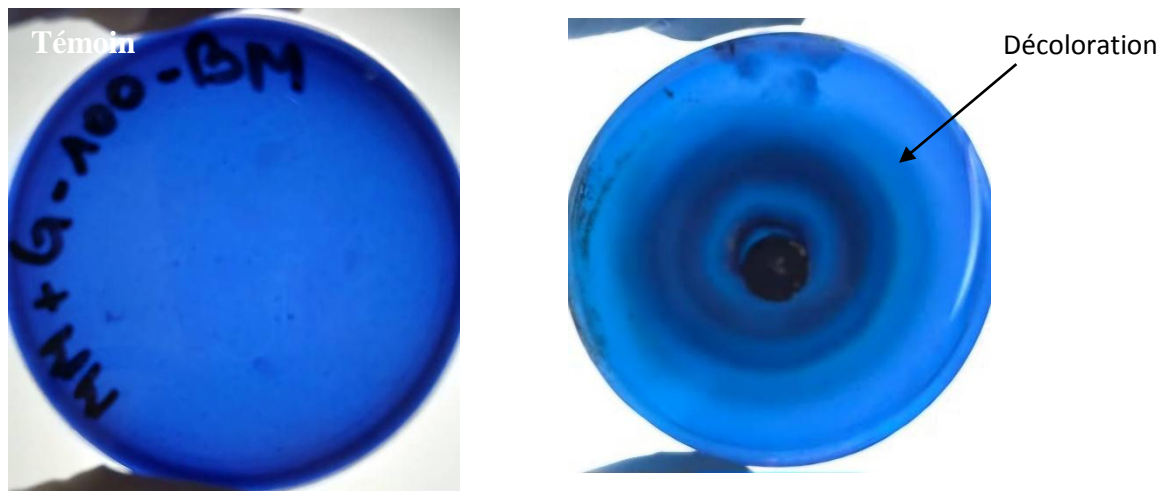


Figure 9: Résultats de la biodégradation du BM.

4 Résultats de l'étude macroscopique

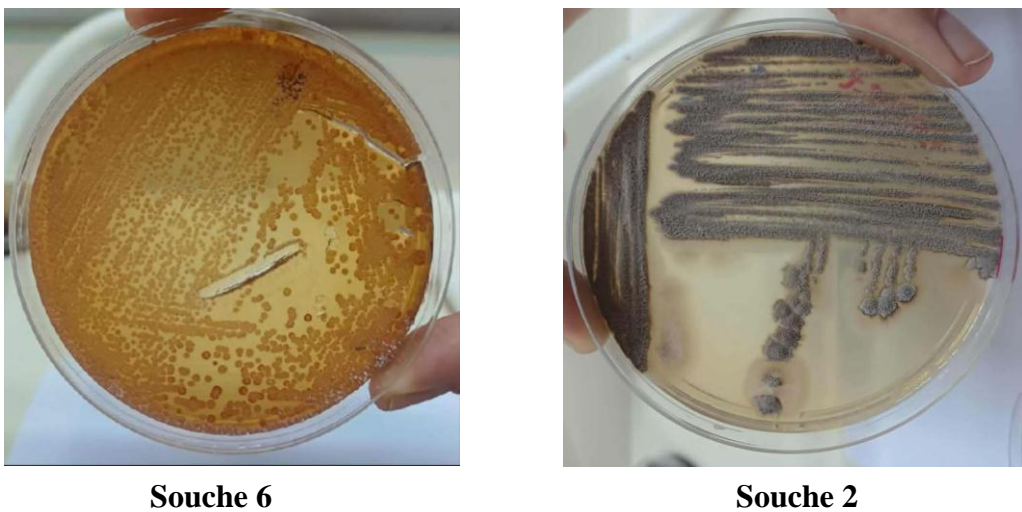


Figure 10: Caractères culturels des souches étudiés.

- Les caractères morphologiques de la souche 2 sont présentés par le tableau suivant :

Tableau 7: Caractères morphologiques de la souche 2 sur différents milieux.

Résultats et discussions

Caractère Milieu	MA	MS	Pigment	Spores
ISP 1	Blanc perlé	Blanc perlé	Absence	-
ISP 2	Marron pale	Marron pale	Absence	+++
ISP 3	Vert sapin	Vert sapin	Absence	+++
Bennet	Brun pale	Brun pale	Absence	+++
ISP 6	Ivoire clair	Ivoire clair	Absence	-
ISP 7	Noir	Noir	Absence	+++
Williams	Beige nacré	Beige nacré	Absence	-

+++ : abondant ; - : pas de croissance

- Les caractères morphologiques de la souche 6 sont présentés par le tableau suivant :

Tableau 8: Caractères morphologiques de la souche 6 sur différents milieux.

Caractère Milieu	MA	MS	Pigment	Spores
ISP 1	Ivoire clair	Jaune sablé	Beige	-
ISP 2	Rose nacré	Orange	Marron clair	+++
ISP 3	Marron	Marron	Beige clair	-
Bennet	Marron	Brun olive	Absence	++
ISP 6	Ivoire clair	Brun olive	Brun olive	-
ISP 7	Marron	Marron	Brun olive	-
Williams	Rouge beige	Rouge beige	Beige	+

+++ : abondant ; ++ : modéré ; + : faible ; - : pas de croissance

Résultats et discussions

5. Résultats de l'étude physiologique

L'évaluation de la tolérance de nos isolats aux variations de température, aux différentes concentrations en Na Cl ainsi qu'aux diverses valeurs de pH a permis d'obtenir les résultats suivants :

5.1 Tolérance à la température

Tableau 9: Résultats des cultures à différentes températures.

	5°C	20°C	28°C	30°C	35°C	37°C	40°C	45°C	50°C
Souche 6	+++	+++	+++	++	++	++	-	-	-
Souche 2	+	+++	+++	+	+	+	-	-	-

+++ : abondant ; ++ : modéré ; + : faible ; - : pas de dégradation

- La souche 6 a marqué une croissance remarquable pour les températures allant de 5°C à 37°C, et aucune croissance pour 40°C, 45°C et 50°C, quant à la souche Actino 2, elle a légèrement poussé pour les températures 5°C, 30°C, 35°C et 37°C, et a parfaitement poussé pour 20°C et 28°C, et n'a marqué aucune croissance de 40°C à 50°C.
- D'après les résultats obtenus on déduit que la température optimale des souches 2 et 6 est de 28°C.

5.2 Tolérance au pH

Tableau 10: Résultats des cultures à différents pH.

	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Souche 6	-	-	+	+++	+++	+++	+	+	+	+	-
Souche 2	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	-

Résultats et discussions

+++ : abondant ; + : faible ; - : pas de croissance

- La souche 6 présente une croissance remarquable sur une large gamme de pH, allant de 5 à 12, avec une performance optimale entre pH 6 et 7. En revanche elle ne tolère pas les conditions extrêmes d'acidité et d'alcalinité (pH 3 et pH 13).
- La souche 2 possède une meilleure adaptabilité aux différentes conditions de pH elle survit à tous les milieux avec une croissance optimale au pH 3.

5.3 Tolérance au NaCl

Tableau 11: Résultats des cultures à différentes concentrations en NaCl.

	3%	5%	7%	10%
Souche 6	++	++	-	-
Souche 2	-	-	-	-

++ : croissance modérée ; - : pas de croissance

- La souche 6 tolère des concentrations de salinité de 3% et 5% avec une meilleure croissance à 3%.
- En revanche la souche 2 ne survit à aucune de ces concentrations indiquant ainsi qu'elle est sensible aux conditions de salinité élevée.

6. Résultats des activités enzymatiques

6.1 Résultats de l'hydrolyse de l'amidon

Après une incubation de sept jours des souches 2 et 6, les boîtes ont été aspergées de Lugol pendant une minute. L'apparition de zones claires autour des spots et des stries, indique que ces souches ont la capacité de dégrader l'amidon grâce aux amylases (voir figure 11). Les résultats des études menées pour rechercher l'activité amylase de Khwaja *et al.* (2011) et Janaki (2017) montrent que plusieurs espèces d'actinomycètes comme les *Streptomyces limosus* et *Thermomonospora curvata* et *Thermomonospora viridis* sont une source puissante d'enzyme d'amylase.

Résultats et discussions



Figure 11: Résultats de la dégradation de l'amidon

6.2 Résultats de l'hydrolyse de la cellulose

La dégradation de la cellulose est mise en évidence par une coloration au rouge Congo pendant 15 min suivie d'une décoloration au Na Cl permettant de visualiser des halos jaune orangé entourant les colonies. (El- Sersy et al., 2010)

Les souches 2 et 6 ont présenté une activité cellulolytique (voir la figure 12), conformément aux études réalisées par Jang et Chenks qui ont prouvé la production de cellulase par différents actinomycètes appartenant aux genres *Cellulomonas*, *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Actinopolyspora*, *Actinoplanes*, *Microbiospora*, *Thermomonospora*, *Rhodococcus*, *Nocardia* et *Thermoactinomyces* (Jang et Chenks, 2003 ; De Menezes et al., 2008, 2012; Saratale et al., 2010).

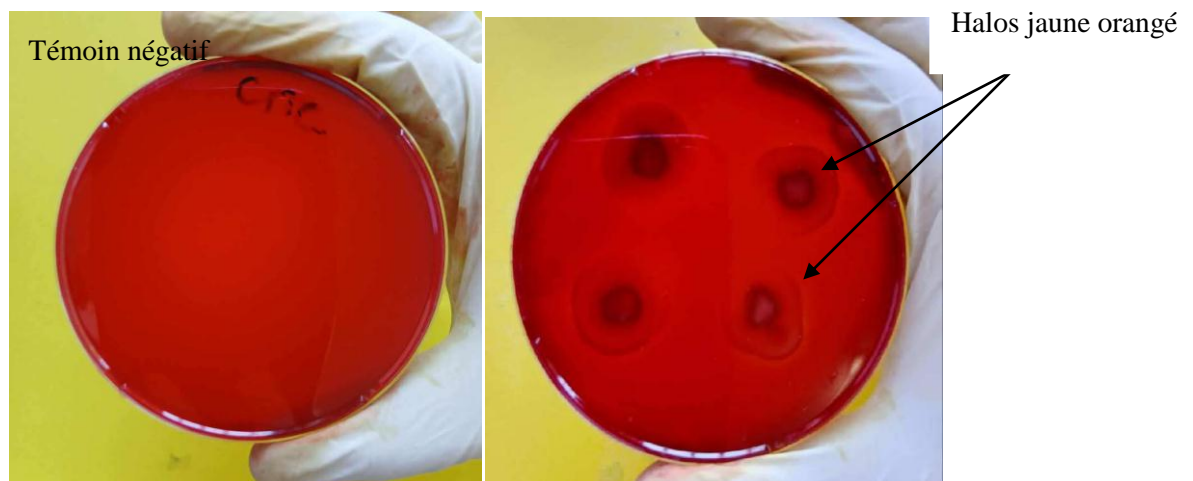


Figure 12: Résultats de la dégradation de la cellulose.

Résultats et discussions

6.3 Résultats de l'hydrolyse de la caséine

L'apparition d'une zone claire autour des colonies des souches 2 et 6 implique la dégradation de la caséine et la présence d'une activité protéolytique (Ara et al, 2012)(Voir Figure 13).

Les résultats de l'étude des activités enzymatiques des actinomycètes réalisée par Okpukpara et George-okaforont montré que les genres *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia* et *Streptosporangium*s possèdent une activité protéolytique importante (Okpukpara et George-okafor, 2016).

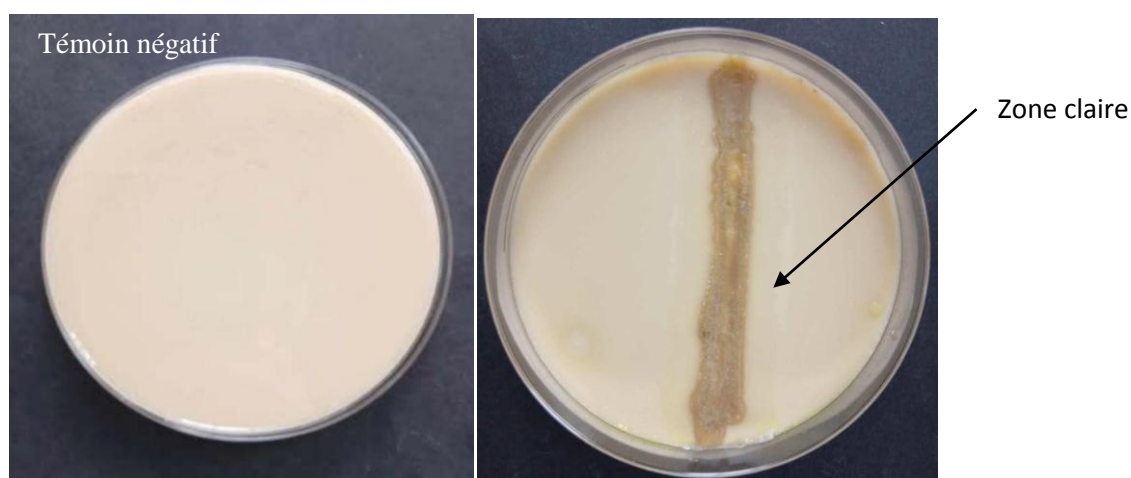


Figure 13: Résultats de l'hydrolyse de la caséine.

6.4 Résultat de l'hydrolyse de la pectine

L'ajout de l'acétate de cuivre aux souches après incubation révèle des halos clairs autour des colonies prouvant la dégradation de la pectine autour de ces dernières. (Saoudi et al., 2015 ; Das et al., 2012).

Les souches 2 et 6 se sont présentées capables de dégrader la pectine grâce aux pectinases qu'elles produisent(voir figure 14).

Dans des travaux précédents de Parveen kumar et Suneeth (2015), la production d'enzymes pectinolytiques a été mise en évidence chez quelques genres d'actinomycètes tel que : *Micromonospora*, *Microbispora*, *Actinoplanes*, *Streptosporangium* et *Streptomyces*.

Résultats et discussions



Figure 14: Résultats de l'hydrolyse de la pectine.

6.5 Résultat de l'hydrolyse de Tween 20 et 80

L'apparition d'un halo opaque autour des colonies sans l'ajout d'aucun réactif indique la dégradation du Tween 20 et Tween 80. (Korayem et al., 2015 ; Mansour et al., 2015)(voir figure 15).

La souche 2 n'a pas dégradé le Tween 20 et 80 impliquant ainsi l'absence d'estérases chez cette souche contrairement à la souche 6 qui présente une réaction positive pour ces tests.

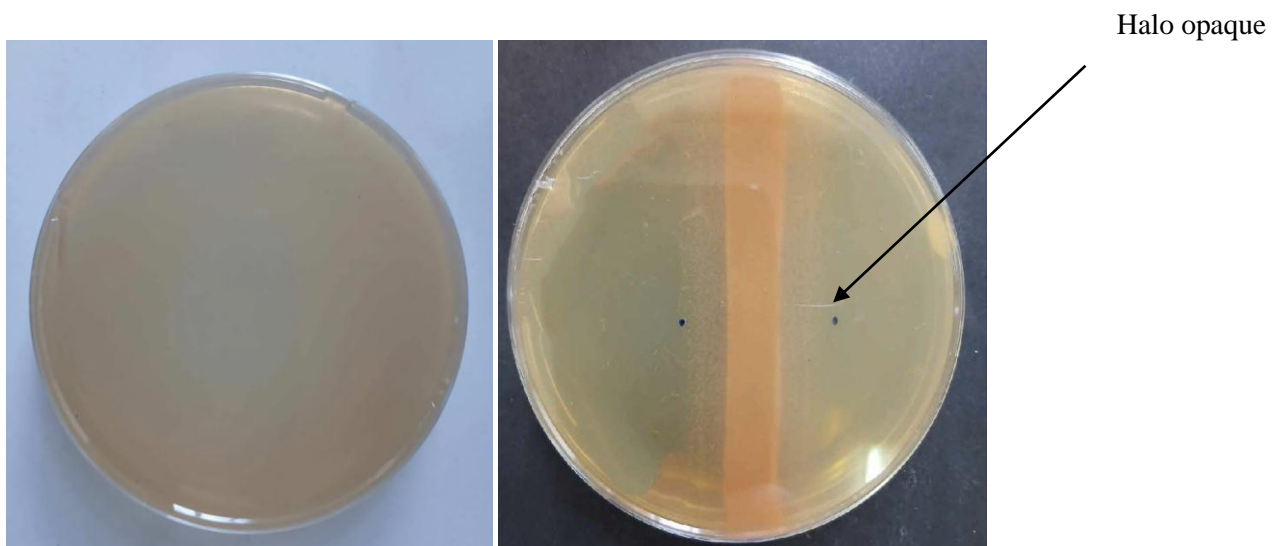


Figure 15: Résultats de l'hydrolyse du Tween. (1) : Tween 80

6.6 Résultat de l'hydrolyse de la gélatine

La détection de production de gélatinase s'observe par la liquéfaction de la gélatine dans les milieux ensemencés. (Marchal et Bourdon, 1973, modifié)

La souche 6 s'est avérée capable de dégrader la gélatine contrairement à la souche 2

Résultats et discussions

(voir figure 16).

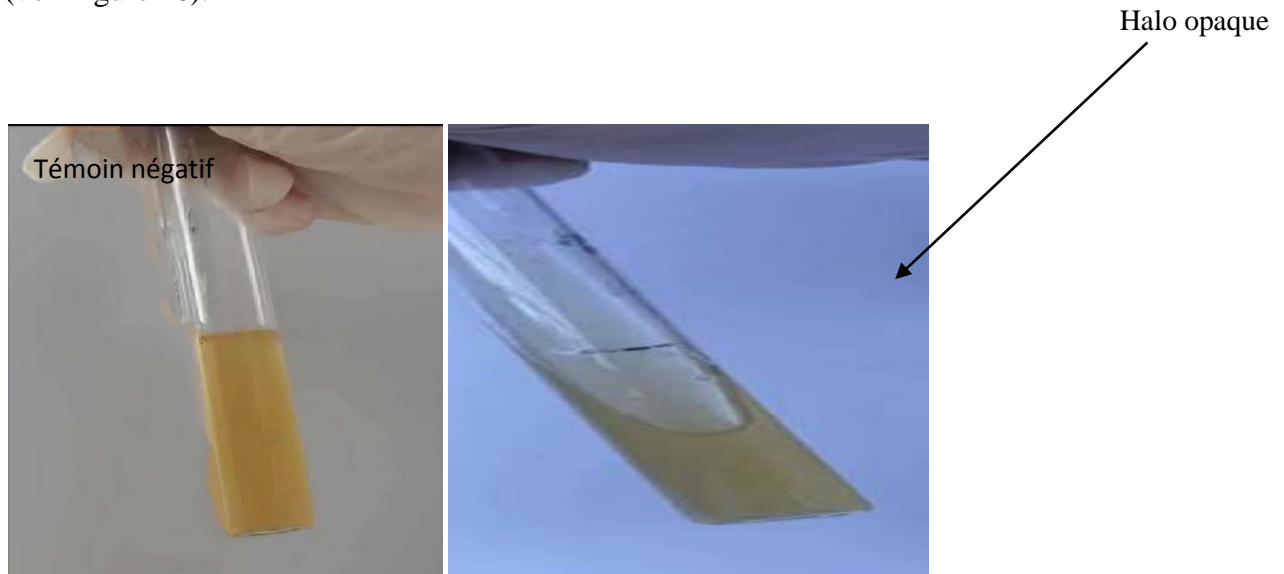


Figure 16: Résultats de l'hydrolyse de la gélatine

6.7 Résultat d'hydrolyse de l'asparagine

La dégradation de L-asparagine s'observe par l'apparition d'une coloration rose de la gélose, ce virage de couleur est dû à l'augmentation du pH du milieu M9(voir figure 17).

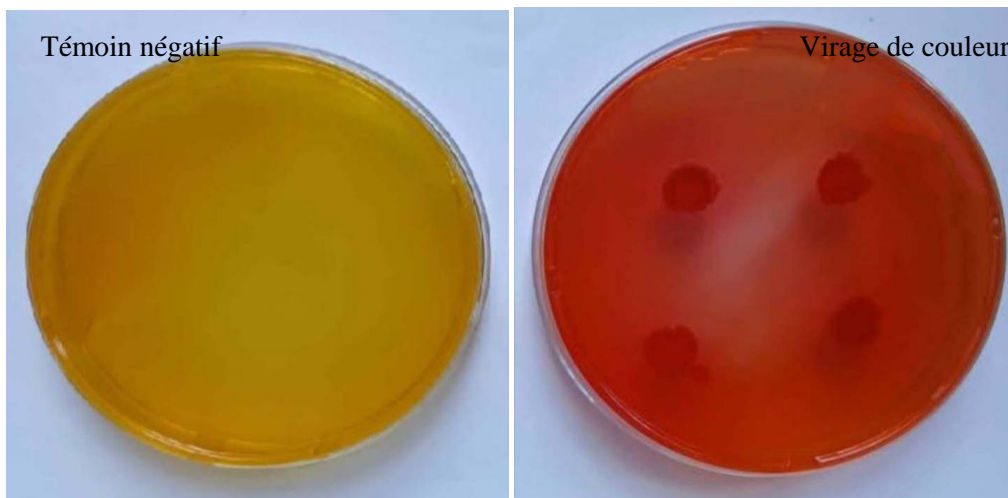


Figure 17: Résultats de l'hydrolyse de l'asparagine.

6.8 Résultat d'hydrolyse de la glutamine

La dégradation de L-glutamine s'observe par l'apparition d'une coloration rouge sur le milieu, ce virage de couleur est dû à l'augmentation du pH du milieu MGA (voir figure 18).

Résultats et discussions

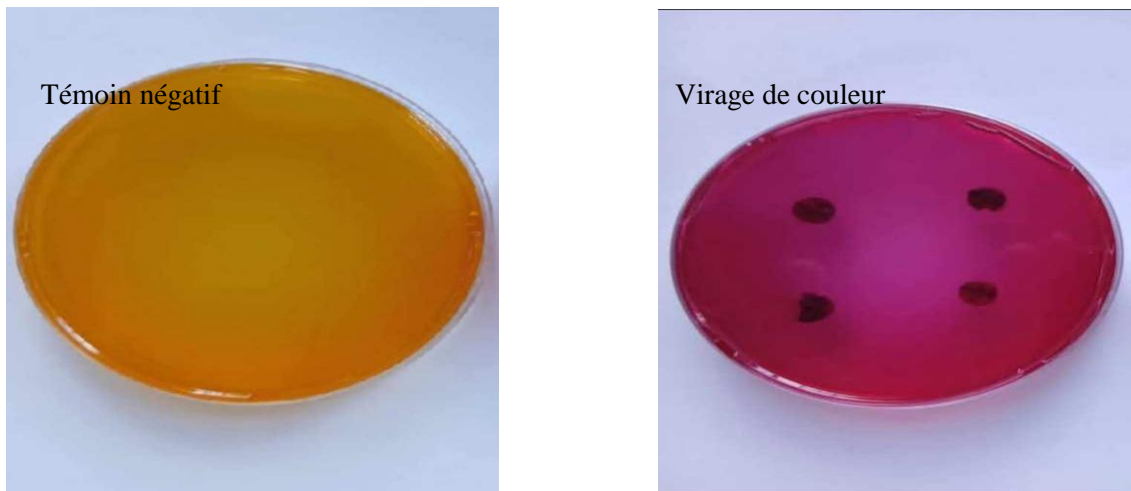


Figure 18: Résultats de l'hydrolyse de la glutamine.

6.9 Résultat de l'hydrolyse de la tyrosine

La dégradation de la tyrosine, s'observe par l'apparition d'une auréole décolorée autour des colonies, celle-ci peut évoluer vers une coloration noire avec le temps.

Les souches 2 et 6 n'ont pas dégradé la tyrosine.

6.10 Résultat de dégradation de la chitine colloïdale

Les résultats ont démontré que les souches 2 et 6 sont capables de dégrader la chitine colloïdale. La production de Chitinase se traduit par l'apparition de zone d'hydrolyse autour des stries et des spots.

6.11 Résultat de dégradation de l'urée

La dégradation de l'urée est observée par un virage de couleur du milieu vers le rose (voir figure 19).

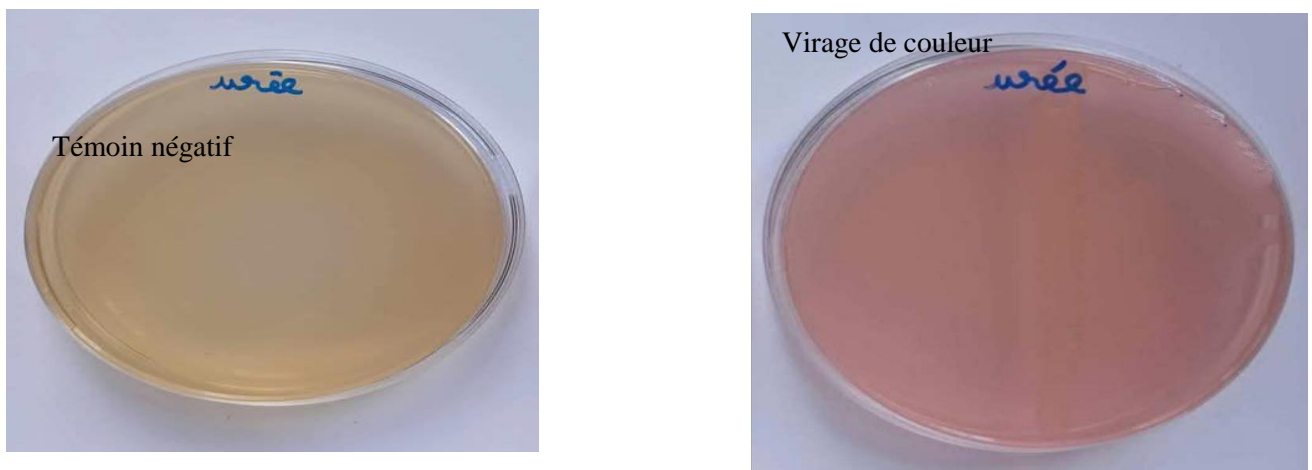


Figure 19: Résultats de l'hydrolyse de l'urée.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La pollution engendrée par les colorants textiles représente une menace environnementale majeure, exerçant des effets délétères tant sur les écosystèmes aquatiques que terrestres. Il devient indispensable de concevoir des solutions durables et écologiquement responsables afin de neutraliser ces substances nocives présentes dans les eaux usées issues de l'industrie textile. Parmi les approches innovantes, les traitements biologiques, notamment l'emploi de souches microbiennes spécifiquement capables de dégrader ces colorants, se révèlent particulièrement auspicieuses. En particulier, les actinobactéries ont été reconnues comme des agents potentiels dans la décomposition des colorants textiles.

L'objectif principal de cette étude était la mise en évidence des souches d'actinobactéries capables de dégrader des colorants textiles.

En réalisant un criblage primaire de la dégradation des colorants, nous avons sélectionné deux souches d'actinobactérie, Actino 2 capables de dégrader le bleu de méthylène, Actino 6 capable de dégrader le rouge Congo.

La capacité de ces souches à dégrader le bleu de méthylène et le rouge Congo a été évaluée sur un milieu minimum solide, avec et sans addition du glucose. Actino 2a montré une capacité de dégradation du bleu de méthylène aux concentrations allant de 50 mg/l à 150 mg/l en présence ou en absence de glucose, après 28 jours d'incubation à 28°C °. *Actino 6a* a démontré une capacité à dégrader le rouge Congo à des concentrations allant de 50 mg/l à 250 mg/l dans des conditions similaires.

Ces résultats suggèrent que ces souches pourraient être utilisées comme agents potentiels pour la bioremédiation des environnements contaminés par les colorants testés.

Une étude paramétrique de la dégradation des colorants par ces souches sur milieu liquide doit être réalisée afin de rechercher les enzymes responsables de cette dégradation et les purifier.

Références bibliographiques

A

- Alegbe EO, Uthman TO. A review of history, properties, classification, applications and challenges of natural and synthetic dyes. *Heliyon*. 2024 Jun 26;10(13):e33646. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e33646. PMID: 39040261; PMCID: PMC11261106
- Ali, H. Biodegradation of Synthetic Dyes—A Review. *Water Air Soil Pollut* **213**, 251–273 (2010).
- An, Y., Wang, Z., Wu, Z., Yang, D., et Zhou, Q. (2009). Characterization of membrane foulants in an anaerobic non-woven fabric membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 155(3), 709–715. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.09.003>.

B

- Babuponnusami A., Muthukumar K. (2014). A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2, 557–572.
- Boudemagh A. (2007). Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Université Mentouri, Constantine. p 144.
- Boudjella, H. (2007). Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens : caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par trois souches. Thèse de Doctorat : Botanique. Institut National Agronomique El Harrach (Alger), 177pp.
- Benkhaya, S., et al. (2020). "Review on Synthetic Dyes and Their Effluents." *Water Science and Technology*.
- Baar, Didier. *Observation microscopique des Macromycètes. Mémoire présenté à l'occasion du prix Jacques Kets 1996 de la Société Royale de Zoologie d'Anvers, mai 1996. 43 pages.*
- Barka E., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Klent HP., Clément C., Ouhdouche Y and Wezel GP van .2016. Taxonomy, physiology and natural products of Actinobacteria. *Microbial Mol Biol* 80 : 1 – 43.
- Benkhaya, S., M'rabet, S., et El Harfi, A. (2020). A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes. *Inorganic Chemistry Communications*, 115, 107891.

Ben Mansour, Hedi&Boughzala, Oualid&Dridi, Dorra&Barillier, Daniel &Chekir-Ghedira, Leila &Mosrati, Ridha. (2011). Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : CRIBLAGE de la toxicité et des méthodes de traitement. *Revue Des Sciences De L'Eau*. 24. 10.7202/1006453ar.

Boudemagh A., Kitouni M., Boughachiche F., Hamdiken H., Oulmi L., Reghioua S., ZerizerH., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A., Boiron P. 2005. Isolation and molecular identification of actinomycete microflora, of some saharian soils of south east Algeria (Biskra, EL-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *Journal de Mycologie Médicale*, 15: 39-44.

C

Chatwal, G. R. (2009). "Essentials of Chemistry." *Himalaya Publishing House*.

Chen, C.-Y., Huang, Y.-C., Wei, C.-M., Meng, M., Liu, W.-H., et Yang, C.-H. (2013). Properties of the newly isolated extracellular thermo-alkali-stable laccase from thermophilic actinomycetes, *Thermobifidafusca* and its application in dye intermediates oxidation. *AMB Express*, 3(1), 49.

<https://doi.org/10.1186/2191-0855-3-49>.

Chequer, F. M. D., et al. (2013) "SyntheticDyes:Environmental Aspects." *Environmental Science and Pollution Research*

Colour Index. (n.d.). "Répertoire des colorants et pigments." [Référence à un document ou une base de données, vérifier les détails pour une citation complète]

D

Donzé, R. (1988). "Les teintures textiles : histoire et évolution." Dans *Le textile à travers les âges*. [Référence à une publication ou un ouvrage, vérifier les détails pour une citation complète]

Danilenko V.N., Mironov V.A.,Elizarov S.M.2005.Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes .A Review *App BiochemMicrobiol* 41(4):319–329.

Das, S., Cherwoo, L., et Singh, R. (2023). Decoding dye degradation : Microbial remediation of textile industry effluents. *Biotechnology Notes*, 4, 64 76.

Dos Santos E.R., Santos Teles Z.N., Campos N.M., de Souza D.A.J., da Rocha Bispo A.S and do Nascimento R.P.2012. Production of α -Amylase from *Streptomyces* sp. SLBA-08 Strain Using Agro-Industrial By-Products. *Braz Arch BiolTechnol* 55 (5): 793-800.

Das A., Soudbakhsh M., Bhattacharya S., Hamedanik ., Suryan S., Prashanthi k. 2012. Enzymatic Screening, Antibacterial Potential and Molecular Characterization of *Streptomyces* Isolated from Wayanad District in Kerala, India. *International Journal of pharmacy and biological scie*

Djaballah C., 2010. Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants

Isolés se la sebkha de Ain M'Lila. Mémoire de Magister en Microbiologie. Université Mentouri - Constantine : 102p.

E

El-Sersy N., Abd-Elnaby H., Abou-Elela G. M., Ibrahim H. A. H. and El-Toukhy N. M. K. 2010. Optimization, economization and characterization of cellulase produced by marine *Streptomyces ruber*. *Afr Journal Biotechnol* 9 (38): 6355-6364.

F

Flardh K. et Buttner JM. (2009). Morphogénétique de *Streptomyces* : dissection de la différenciation chez une bacteria filamenteuse. *Nat RevMicrobiol*, 7(1), 36-49.

G

Galinha, C. F., Sanches, S., et Crespo, J. G. (2018). Chapter 6—Membrane bioreactors. In P. Luis (Éd.), *Fundamental Modelling of Membrane Systems* (p. 209 249). Elsevier.

Giwa, A., Dindi, A., et Kujawa, J. (2019). Membrane bioreactors and electrochemical processes for treatment of wastewaters containing heavy metal ions, organics, micropollutants and dyes : Recent developments. *Journal of Hazardous Materials*, 370, 172 195.

Goodfellow M and Cross T. 1984. Classification. *In: The Biology of the actinomycetes*.

Goodfellow M., Williams S.T. and Mordarski M. (Eds.). Academic Press London pp. 7-164.

Goodfellow M and O'Donnell A.G .1989. Search and discovery of industrially- significant actinomycetes. Proceeding of the 44th Symposium on Society for General Microbiology, (SCGM'89). Cambridge University Press Cambridge : 343-383 .

George M.,AnjumolA.,MohamedHalta A.A.2012.Distrubition and bioactive potential of soil actinomycetes from different ecological habitats.African Journal of Microbiology Research 6 (10) :2265-2271.

Goodfellow M., Williams S. T. 1983. Ecology of actinomycetes. Ann Rev Microbial 37:189-216

Guivarch(2004) Environmental Aspects of Textile Dyeing ,69

H

Houas, A., et al. (2001). "Les colorants synthétiques : Évolution et impact environnemental." *Revue des sciences et de la technologie*. [Référence à une publication ou un article, vérifier les détails pour une citation complète]

Hassaan, M. A., &Nemr, A. E. (2017). "L'utilisation des colorants dans diverses industries." *International Journal of Environmental Science and Technology*. [Référence à une publication ou un article, vérifier les détails pour une citation complète]

Haritha R., Siva Kumar K., Jagan Mohan Y.S.Y.V.2010 . Amylolytic and proteolytic actinobacteria isolated from marine sediments of Bay of Bengal. International J Microbiol Res 1(2): 37–44.

Habbeche A., Haberra S., Saoudi B., Kerouaz B., Ladjama A. 2013.Keratyinase production from a thermophilic Actinomycete strain Cpt29 newly isolated from poultry compost. J MinerovaBiotechnol 25: 151-159 .

J

Janaki T. 2017. Enzymes from Actinomycetes .Review. International Journal of ChemTech Research.10: 176-182.

Jang HD and Chenks. Production and charactrisation of thermostable cellulase from Streptomyces transformant T3-1.2003. Worked Journal MicrobiolBiotechnol 19:263-268.

J. Chapman, A.E. Ismail, C.Z. Dinu, Industrial applications of enzymes: recent advances, techniques, and outlooks, *Catalysts* 8 (2018) 20–29, <https://doi.org/10.3390/catal8060238>

Jeffrey L.S.H . 2008. Isolation, characterization and identification of actinomycetes from agriculture soils at Semongok, Sarawak .*Afr Journal of Biotechnol* 7 (20): 3697-3702.

Jani S.A., Chudasama C.J., Patel D.B., *et al.*2012. Optimization of extracellular protease production from alkali thermo tolerant actinomycetes: *Saccharomonosporaviridis*SJ-21. *Bull Environ Pharmacol Life Sci* 1(6): 84–92.

K

Kishore J. P., Manojkumar, Z. Chopdia and Raghunathan T.M. 2011. Lipase biodiversity. *Indian.JSciTechnol* 4(8).

Kiron, V. (2021). "Advances in Textile Dyeing Techniques." *Journal of Applied Polymer Science*.

Kushwaha, Anju & Kushwaha, Rashi & Singh, Pinki & Mishra, Shreya. (2023). Impact of chemical dyes on human health and environment. *International Journal of Home Science*. 9. 105-108.

K.J. Grayson, J.R. Anderson, The ascent of man(made oxidoreductases), *Curr. Opin. Struct. Biol.* 51 (2018) 149–155, <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2018.04.008>

Khwaja S., Ram P., Santosh K and Manish D.V.2011.Isolation of soil thermophilic strains of actinomycetesforthe production of α - amylase.*African Journal of Biotechnology* 10(77):17831-17836

Kishore J. P., Manojkumar, Z. Chopdia and Raghunathan T.M. 2011. Lipase biodiversity. *Indian.JSciTechnol* 4(8).

Korayem A.S., Abdelhafez A.A., Zaki M.M., Saleh E.A.2015. Optimization of biosurfactant production by *Streptomyces* isolated from egyptian arid soil using plackett-burman design. *Ann Agric Sci* 60:209–217.

L

Lu, L., Zeng, G., Fan, C., Ren, X., Wang, C., Zhao, Q., et Jiang, M. (2013). Characterization of a laccase-like multicopper oxidase from newly isolated *Streptomyces sp.* C1 in agricultural waste

compost and enzymatic decolorization of azo dyes. *Biochemical Engineering Journal*, 72, 70- 76.

<https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.01.004>.

M

Mukhtar S., Zaheer A., Aiysha D., Abdulla Malik K and Mehnaz S.2017. Actinomycetes: A Source of Industrially Important Enzymes. *J Proteomics Bioinform* 10: 316-319.

Mobini-Dehkordi M and Fahime A.J. 2012. Application of alpha-amylase in biotechnology. *Journal of Biology and today's world* : 39-50

Mansour, M. S., et al. (2010). "Statistiques sur la production mondiale de colorants." *Global Textile Report*. [Référence à une publication ou un article, vérifier les détails pour une citation complète]

Mansour, Hedi B., Boughzala, Oualid, Dridi, dorra, Barillier, Daniel, Chekir-Ghedira, Leila et Mosrati, Ridha « Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : CRIBLAGE de la toxicité et des méthodes de traitement ». *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science* 24, n° 3 (2011) : 209–238. <https://doi.org/10.7202/1006453ar>

Meenu Mathew, Abraham Mathew, Tess Babu, RejoKurien, Removal of safranin dye from water using *Meteoriopsis squarrosa* (Hook. Ex Harv.) M. Fleisch, *Materials Today: Proceedings*, 2023,

Mansour, Hedi B., et al. « Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : CRIBLAGE de la toxicité et des méthodes de traitement. » *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, volume 24, numéro 3, 2011, p. 209–238. <https://doi.org/10.7202/1006453ar>

Maniyam, M. N., Ibrahim, A. L., et Cass, A. E. G. (2020). Decolourization and biodegradation of azo dye methyl red by *Rhodococcus* strain UCC 0016. *Environmental Technology*, 41(1), 71- 85. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1491634>

Moyo, S., Makhanya, B. P., et Zwane, P. E. (2022). Use of bacterial isolates in the treatment of textile dye wastewater : A review. *Heliyon*, 8(6), e09632.

Mincer T. L., Jensen P.R ., Kauffman C.A and Fenical W . 2002. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *App Environ Microbiol* 68: 5005-5011.

Meklat A. (2012). Taxonomie et potentiel antagoniste des actinomycètes halophiles des sols sahariens et mise en évidence de nouvelles espèces d'Actinopolyspora. Thèse de Doctorat à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie. 162 p.

Mansour S.R., Abdel-Azeem A.M and Abo-Deraz S.S.S.2015. A new record of Actinobacteria isolated from soil in Jerusalem and their enzymatic potential. F1000Research 4:11.

O

Osada H. 1998. Bioprobes for investigating mammalian cell cycle control. J Anti Biot 51 :973-981.

P

Pandey, A., Shukla, P., et Srivastava, P. (2020). Remediation of Dyes in Water using Green Synthesized Nanoparticles (NPs).

Park JO., El-Tarabily KA., Ghisalberti EL. And Sivasithamparam, K. (2002). Pathogenesis of Streptovorticilliumalbireticuli on Caenorhabditiselegans and its antagonism to soil-borne fungal pathogens. Letters in AppliedMicrobiology, 35(5), 361-365

Prakash D., Nawani N., Prakash M., Bodas M., Mandal A., Khetmalas M and Kapadnis B. (2013). Actinomycetes: A repertory of green catalysts with a potential revenue resource. Biomed research international, 8 p.

Pagga, U., & Brown, D. (1986). "The degradation of dyestuffs - Part I: The problem of dyestuff residues." *Environmental Pollution*.

Pragati Agarwal, Mukta Singh, Jyoti Singh, R.P. Singh, Chapter 1 - Microbial Tyrosinases: A Novel Enzyme, Structural Features, and Applications, Editor(s): Pratyoo Shukla, Applied Microbiology and Bioengineering, Academic Press, 2019, Pages 3-19, ISBN 9780128154076, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815407-6.00001-0>.

Phugare, S. S., Kalyani, D. C., Surwase, S. N., et Jadhav, J. P. (2011). Ecofriendly degradation, decolorization and detoxification of textile effluent by a developed bacterial consortium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(5), 1288-1296.

Priyanka S.B.2019. Isolation, Purification and Characterization of Pectinase Enzyme from Streptomyces Thermocarboxydus .JBB MS 1(5).1-6.

Pagga, U., & Brown, D. (1986). "The degradation of dyestuffs - Part I: The problem of dyestuff residues." *Environmental Pollution*.

R

Raval K.M., Vasawani P.S., Mujumder D.R. 2012. Biotransformation of a single amino-acid L-tyrosine into a bioactive molecule L-Dopa. *International Journal of scientific and research Publication* 2: 2250-3153.

Roy S., Das I., Munjal M., Karthik I., Kumar G., Kumar S., Rao R.V.B. 2014. Isolation and characterization of tyrosinase produced by marine anaerobacteria and its application in the removal of phenol from aqueous environment *Front. Biol.* 9(4): 306-316.

Ravi Varma A, Sushma K, Naga Sai Babu V, Bodaiah B and Sudhakar P (2016) . Partial purification, characterization and optimization of anti-leukemic enzyme Lasparaginase from mangrove soil actinobacteria. *J. Pharm. Res.* 10 (7), 502–511.

Reda, FM (2015). Kinetic properties of *Streptomyces canarius* L-glutaminase and its anticancer efficiency. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(4): 957-968.

Raval K.M., Vasawani P.S., Mujumder D.R. 2012. Biotransformation of a single amino-acid L-tyrosine into a bioactive molecule L-Dopa. *International Journal of scientific and research*.

Roberts, W.K., et Selitrennikoff, C.P., 1988. Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity. *J Gen Microbiol.* 134: 169–176.

S

Saratal G.D., Saratal R.G., Lo Y.C., Chang J.S. 2010. Multi-component cellulase production by *Cellulomonas biazotea* NCIM-2550 and their applications for cellulose biohydrogen production. *Biotechnol prog* 26:406-416.

Synthetic dyes are extensively used in many fields of up-to-date technology, e.g., in various branches of the textile industry (Gupta et al., 1992; Shukla and Gupta, 1992; Sokolowska-Gajda et al., 1996)

Singh, Aarti & Mittal, Anupama & Jangid, Nirmala. (2020). Toxicology of Dyes. 10.4018/978-1-7998-0311-9.ch003.

Sridharan, Rajalakshmi & Krishnaswamy, Veena Gayathri & Murali, Archana & Rajagopal, Revathy & Kumar D, Dr & C, George Priya Doss. (2021). Integrated approach on azo dyes degradation using laccase enzyme and Cu nanoparticle. *SN Applied Sciences*. 3. 10.1007/s42452-021-04164-9.

Saini P., Gangwar M., Kalia A., Singh N and Narang D. 2016. Isolation of endophytic actinomycetes from *Syzygium cumini* and their antimicrobial activity against human pathogens. *Journal of Applied and Natural Science* 8 (1): 416 – 422.

Saoudi B., Habbeche A., Kerouaz B., Haberra S., Romdhane Z.B., Tichati L., Ladjama A. 2015. Purification and characterization of a new thermoalkaliphilic pectate lyase from *Actinomadura keratinilytica* Cpt20. *Process Biochemistry* 50(12): 2259-2266.

T

Ting, A. S. Y. (2020). Actinobacteria for the effective removal of toxic dyes. In P. Chowdhary, A. Raj, D. Verma, et Y. Akhter, *Microorganisms for Sustainable Environment and Health* (p. 37- 52). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819001-2.00003-6>.

Theileux J. (1993). Les actinomycètes en Microbiologie industrielle : Les micro-organismes d'intérêt industriel, Leveau JY et Moix M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V, 612-425.

Tatsinkou Fossi B., Tavea F., Ndjouenkeu R. 2005. Production and Partial Characterization of Thermostable Alpha Amylase from Ascomycete Yeast Strain Isolated from Starchy Soil. *Afr Journal Biotechnol.* 14–18

V

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

Veluchamy, A., Jeyabalan, J., Singh, A., Narayanasamy, S., & Verma, A. (2024). A review on recent insights of azoreductases mediated dye degradation: A sustainable approach for bioremediation of industrial wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 68, 106403.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.106403>

Varjani, S., Rakholiya, P., Ng, H. Y., You, S., et Teixeira, J. A. (2020). Microbial degradation of dyes : An overview. *Bioresource Technology*, 314, 123728.

Viswanathan K., Jeyanthi Rebecca L., Arumugam P., Anbarasu K. 2015. Isolation and screening of protease producing marine Actinomycetes from Chennai coastal region. *Int J Adv Res BiolSci*2(8): 153–157

W

Welham, N. J. (2000). "L'histoire des colorants et leur impact sur l'industrie textile." Dans *Journal of Dyes and Pigments*. [Référence à une publication ou un article, vérifier les détails pour une citation complète]

Williams ST., Lanning S., Wellington EMH. (1984). Ecology of Actinomycetes. In: *The Biology of the Actinomycetes*. Eds: M. Goodfellow, M. mordarski and S.T Williams. Academic press, London, New York, Sydney, Tpkyo, Sao Palo. 481-528.

Williams S. T and Wellington E. 1982. Actinomycetes in methods of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy monograph 9 (Second Edition).Ed., A. L, ASA-SSSA.Madison, pp. 969-987.

Y

Y. Mathieu, F. Piumi, R. Valli, J.C. Aramburu, P. Ferreira, C.B. Faulds, E. Record, Activities of secreted aryl alcohol quinone oxidoreductases from *Pycnoporus cinnabarinus* provide insights into fungal degradation of plant biomass, *Appl. Environ. Microbiol.* 82 (2016) 2411–2423, <https://doi.org/10.1128/AEM.03761-15>.

Z

Zdarta, J., Meyer, A. S., Jesionowski, T., et Pinelo, M. (2019). Multi-faceted strategy based on enzyme immobilization with reactant adsorption and membrane technology for biocatalytic removal of pollutants : A critical review. *Biotechnology Advances*, 37(7), 107401

Zerizer H., Oulmi L., Boughachiche F., Rrghioua S., Boudemagh A., Kitouni Mand Boulahrouf A. 2006. Identification d'une Actinomycetale, production d'antibactériens, isolée de sols arides de region de Biskra. *Sciences et technologie C-24* :17-22

Annexes

I. Milieux de culture

Milieu ISP1 (Meklat,2012)

Tryptone	5g
Extrait de levure	3g
Agar	20g
Eau distillés	1000ml
pH=7,2	

Milieu ISP2

Extrait de malt	10g
Extrait de levure	4g
Glucose	4g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml
pH =7,2	

Milieu ISP9 (milieu de base)

(NH ₄) ₂ SO ₄	2,64g
KH ₂ PO ₄	2,38g
K ₂ HPO ₄	5,65g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	1g
Solution saline	1 ml
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,2	

Milieu Bennet

Extrait de levure	1g
Extrait de viande	1g
Peptone	2g
Glucose	10g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

Ph=7.2

Milieu de Sierra additionné de tween 80 et tween 20

Peptone	10 g
NaCl	05 g
CaCl ₂ -1H ₂ O	0.1 g
Eau distillée	1000 ml
Agar	18 g
Tween 80	10 ml

pH=7,2

Milieu MA

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium	5g
Amidon	10g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

PH=7

Gélose à la gélatine

Peptone	05 g
Extrait de viande	03 g
Gélatine	04 g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml
pH=7	

Gélose au lait écrémé

Peptone	10 g
NaCl	05 g
Extrait de levure	03 g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml
Lait écrémé	100 g

Gélose à la tyrosine

Peptone	05 g
Extrait de viande	03 g
L-tyrosine	05 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH=7	

Milieu ISP9 (1% pectine)

(NH ₄) ₂ SO ₄	2,64g
KH ₂ PO ₄	2,38g
K ₂ HPO ₄	5,65g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	1g
Solution saline	1 ml
Agar	20g

Pectine	10g
Eau distillée	1000 ml
pH=7,2	

Milieu de l'urée

Peptone	1g
Glucose	1g
NaCl	5g
Na ₂ HPO ₄	1,2g
KH ₂ PO ₄	0,8g
Rouge phénol	0,012g
Agar	15g
Eau distillée	950ml
Solution de l'urée	50ml
PH= 6,8	

Solution de l'urée

Urée	40g
Eau distillée	100ml

Bouillon nitraté

Peptone	1g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
KNO ₃	1g
Eau distillée	1000ml
PH= 7,2	

Milieu M9

Na ₂ HPO ₄	6g
KH ₂ PO ₄	3g
MgSO ₄	2g
KCl	0,1g

Glucose	3g
L-asparginase	10g
Rouge phénol	0,009%
Agar	20g
Eau distillée	1000ml
PH= 6,5	

Milieu minéral (MM)

Na ₂ HPO ₄	2.7 g
KH ₂ PO ₄	1.40 g
MgSO ₄	0.4 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 g
Solution d'oligoéléments	10 ml
Agar	15g
Eau distillé	1000ml
PH=7	

II. Colorants

La solution de Lugol

Iodure de potassium	2g
Iode	1g
Eau distillée	100ml

La solution de fuchsine

Fuchsine basique	10g
Phénol	50g
Ethanol	100 ml
Eau distillé	1000ml

Violet de Gentiane

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

III. Les indicateurs colorés

Rouge Congo à 0.1%

Rouge Congo	0.1g
Eau distillé	100ml

Acétate de cuivre à 7.5%

Acétate de cuivre	7.5g
Eau distillée	100ml