

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023

MEMOIRE DE FIN D'ÉTUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

M. TIABI Akram Hocem

Thème

Étude De La Microflore De *Moringa Oleifera*

Soutenu le : 04 / 07 / 2023

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Pr KADRI Nabil

Professeur

Univ. de Bouira

Président

Dr BACHIRI Taous

MCB

Univ. de Bouira

Promotrice

Dr BOUKANDOUL Silia

MCB

Univ. de Tizi-Ouzou

Co-Promotrice

Dr GUELLAL Drifa

MCA

Univ. de Bouira

Examinatrice

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers les personnes qui ont contribué de manière significative à la réalisation de ce mémoire.

Tout d'abord, je tiens à remercier chaleureusement le **Dr. BACHIRI Taous** pour son soutien, son encadrement précieux et ses conseils tout au long de cette étude. Sa disponibilité et son expertise ont été d'une grande importance pour l'avancement de mes travaux.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance envers le **Pr. KADRI Nabil**, qui a accepté de présider le jury de ma soutenance.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers le **Dr. GUELLAL Drifa**, qui a accepté de faire partie du jury et de partager son expertise lors de l'évaluation de mon travail.

Un remerciement spécial est adressé au **Dr. BOUKANDOUL Silia**, ma Co-Promotrice, pour ses conseils précieux sa contribution a été d'une grande importance pour la réussite de ce travail.

Je tiens également à remercier sincèrement les enseignants(e) qui ont intervenus(e) dans mon parcours académique. Leurs enseignements ont enrichi mes connaissances et m'ont permis de développer mes compétences dans le domaine de la recherche.

Enfin, mes remerciements vont également aux ingénieurs des laboratoires de la faculté. Leur soutien technique et leur expertise ont été essentiels pour la réalisation des expériences et des analyses nécessaires à ce travail.

Merci sincèrement à tous ceux qui ont participé à cette aventure académique avec moi.

Akram

Dédicace

À mes chers parents,

Vous êtes mes piliers, mes plus grands soutiens. Votre amour, votre confiance et votre encouragement sans faille ont été ma force tout au long de ce parcours. Je vous dédie ce mémoire en reconnaissance de votre dévouement et de votre soutien indéfectible.

À mes chères sœurs et mon cher petit frère,

Votre présence, votre soutien inconditionnel et vos encouragements ont été précieux pour moi. Je vous dédie ce mémoire en témoignage de ma gratitude et de l'amour que je vous porte.

À mes tantes et oncles, notamment Rayhanna et Amel,

À ma chère Mina,

Tes encouragements, tes conseils et ta présence ont été précieux pour moi.

À toute l'équipe du club scientifique, notamment Dahmane, Massyl, Ouarda, Serine, Nada, Manel, Souhaib, Dahim,

À mes amis avec qui j'ai partagé de bons moments autour des verres de thé, notamment Yanis, Racim, Redha, Khalil, Samy et Anis,

Vous avez été présents pour moi dans les moments de détente, de rire et de soutien. Je vous dédie ce mémoire en souvenir des bons moments passés ensemble.

À tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin,

Merci du fond du cœur à tous ceux qui ont été présents à mes côtés. Votre soutien a été précieux et je suis honoré(e) de vous avoir dans ma vie.

Akram

Table DES Matières

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION 1

PARTIE THEORIQUE

<i>I. Revue de littérature</i>	3
<i>I.1. Généralités sur Moringa oleifera</i>	3
<i>I.2. Origine et distribution de Moringa oleifera</i>	3
<i>I.3 La Systématique de Moringa oleifera</i>	4
<i>I.4. Différentes parties de Moringa oleifera</i>	4
I.4.1. Les feuilles	4
I.4.2. Les graines et fruits	5
I.4.3. Les fleurs	5
I.4.4. Les racines	5
<i>I.5. Écologie et Culture</i>	6
<i>I.6. Composition chimique et valeur nutritionnelle des feuilles et graines</i>	6
I.6.1. Les feuilles	6
I.6.2. Les graines	8
<i>I.7. Utilisation des feuilles et graines Moringa oleifera</i>	9
<i>I.8. Le microbiote des plantes</i>	12
<i>I.9. Les enzymes bactériennes : des outils biologiques pour l'industrie</i>	15
I.9.1. Les protéases	15
I.9.2. Les kératinases	15
I.9.3. Les Amylases	16
I.9.4. Les Xylanases	16
I.9.5. Les Cellulases	17
I.9.6. Autres enzymes bactériennes	17

PARTIE PRATIQUE

<i>II. Matériel Et Méthodes</i>	19
<i>II.1. Objectif de l'étude</i>	19

II.2. Échantillonnage	19
II.3. Isolement et identification des souches	20
II.4. Mise en évidence des activités enzymatiques	22
II.4.1. La recherche de l'activité protéolytique (hydrolyse des protéines).....	22
II.4.2. La recherche de l'activité amylolytique (Hydrolyse de l'amidon).....	22
II.4.3. La recherche de l'activité cellulolytique (Hydrolyse de la D-Cellobiose)	23
II.4.4. La recherche de l'activité pectinolytique (Hydrolyse de la pectine)	23
III. Résultats	24
III.1. Souches bactériennes	24
III.2. Résultats de la mise en évidence des activités enzymatiques	30
IV. Discussion Générale	33
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	36
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	37
Annexes	I
Annexe I. Résultats des galeries biochimiques minimales.....	I
Annexe II. Milieux pour l'isolement et la purification	II
Annexe III. Milieux pour les tests enzymatiques	III
Annexe IV. Les indicateurs colorés	IV

CD8 : Cluster de **D**ifférenciation **8**

EMB : **E**osine **M**ethylene **B**lue

GN : **G**élose **N**utritive

IUBMB : **I**nternational **U**ion of **B**iochemistry **and** **M**olecular **B**iology

pH : **P**otentiel **H**ydrogène

SSRI : **S**elective **S**erotonin **R**euptake **I**nhibitor

TSI : **T**riple **S**ugar **I**ron

Figure 1. Répartition géographique de <i>Moringa oleifera</i>	4
Figure 2. Les principales parties du <i>Moringa oleifera</i>	6
Figure 3. Abondance relative des Bactéries et Archées des sols de France métropolitaine....	13
Figure 4. Le microbiote racinaire des plantes	14
Figure 5. Récapitulatif des étapes d'isolement à partir des graines	21
Figure 6. Récapitulatif des étapes d'isolement à partir de poudre de graines délipidée	22
Figure 7. Pourcentages des souches à Gram + et Gram - isolées	25
Figure 8. Les pourcentages de chaque souche isolée ainsi que leur dispersion en fonction des différents échantillons.	29
Figure 9. Récapitulatif de productions d'enzymes par les souches isolées.	32

Tableau I. Classification systématique de <i>Moringa oleifera</i>	4
Tableau II. Valeur nutritionnelle des feuilles fraîches et séchées de <i>M. oleifera</i> par rapport à d'autres aliments.	7
Tableau III. Teneur en acides aminés des feuilles séchées de <i>M. oleifera</i> , des graines de soja et de la viande de bœuf.....	8
Tableau IV. Teneur en éléments minéraux dans les graines de <i>Moringa oleifera</i>	9
Tableau V. Récapitulatif des actions pharmacologiques des graines et feuilles de <i>M. oleifera</i>	11
Tableau VI. Aperçu de certaines enzymes microbiennes présentant des caractéristiques particulières d'importance industrielle	18
Tableau VII. Nombre de souches bactériennes isolées depuis les échantillons	19

INTRODUCTION

Depuis des temps immémoriaux, les plantes ont toujours joué un rôle essentiel dans le quotidien de l'homme car le règne végétal représente un véritable trésor de composés organiques. *Moringa oleifera* est un arbre de petite à moyenne taille, pouvant atteindre environ 10 mètres de hauteur. Il est connu pour sa riche composition chimique, comprenant notamment des composés bioactifs tels que des flavonoïdes, des glycosides, des acides phénoliques, des saponines et des composés volatils. Ces constituants chimiques ont montré des effets pharmacologiques prometteurs, tels que des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antidiabétiques et anticancéreuses, parmi d'autres [1].

Les feuilles de *Moringa oleifera* sont connues pour leur valeur nutritionnelle élevée, étant riches en protéines, vitamines (A, C, E, etc.) et en minéraux (fer, calcium, potassium, etc.) [2]. Les graines de *Moringa oleifera* sont également largement utilisées pour purifier l'eau en raison de leurs propriétés antimicrobiennes [3].

Les études précédentes ont montré que les micro-organismes présents dans les plantes peuvent jouer un rôle clé dans la nutrition des plantes, la défense contre les pathogènes, la fixation de l'azote et la production de métabolites secondaires bénéfiques [4,5]. Cependant, malgré l'importance économique et culturelle de *Moringa oleifera*, la caractérisation microbiologique de cette plante reste relativement peu étudiée. Une étude réalisée au Bénin a examiné la composition microbienne des feuilles de *Moringa oleifera* [6], et une autre au Nigeria qui a analysé la microflore de la poudre de graines de *Moringa oleifera* [7].

La compréhension de la diversité microbienne associée à cette plante revêt une importance significative, non seulement pour mieux comprendre les interactions entre celle-ci et les micro-organismes, mais aussi pour exploiter le potentiel biotechnologique, médical et environnementale de ces derniers.

Dans ce contexte nous avons orienté notre étude sur la caractérisation microbiologique de *Moringa oleifera* en suivant la démarche expérimentale suivante :

- Protocoles d'isolement bactérien : Nous avons utilisé des protocoles rigoureux pour isoler les bactéries à partir des échantillons de *Moringa oleifera* mentionnés précédemment. Cette approche méthodologique solide garantit la fiabilité et la précision des données obtenues ;
- Tests sur les activités enzymatiques : En plus de l'isolement bactérien, nous avons réalisé des tests spécifiques pour évaluer certaines activités enzymatiques des souches bactériennes isolées. Ces tests ont permis de mieux comprendre les fonctions et les capacités métaboliques des micro-organismes présents dans le *Moringa*.

- Contribution à la caractérisation microbiologique de *Moringa oleifera* : Les résultats de cette étude contribueront à combler le manque de connaissances actuel en ce qui concerne la caractérisation microbiologique de *Moringa oleifera*. En identifiant les micro-organismes présents et en évaluant leurs activités enzymatiques, nous enrichissons la base de connaissances sur la microbiologie de cette plante spécifique.
- Ouverture de nouvelles perspectives : Les données obtenues dans cette étude peuvent ouvrir de nouvelles perspectives dans les domaines de la biotechnologie, de la santé et de l'environnement. En comprenant mieux la microflore associée à *Moringa oleifera*, nous pouvons envisager des applications biotechnologiques telles que l'utilisation de souches bactériennes spécifiques dans des procédés de fermentation ou la production de composés d'intérêt. De plus, la compréhension des interactions entre les micro-organismes et *Moringa oleifera* peut avoir des implications pour la santé humaine, notamment en termes de probiotiques et de prébiotiques, ainsi que pour la promotion de pratiques agricoles durables.

Ces points soulignent l'importance de notre étude dans la caractérisation microbiologique de *Moringa oleifera* et mettent en évidence les suites potentielles dans divers domaines de recherche et d'application.

REVUE DE LA LITTÉRATURE

I. Revue de littérature

I.1. Généralités sur *Moringa oleifera*

L'utilisation du *Moringa* a été documentée depuis plusieurs milliers d'années. Des preuves historiques indiquent que les dirigeants de l'époque consommaient les feuilles et les fruits de cette plante pour améliorer leur acuité mentale et préserver le bien-être de leur peau [8].

La famille des *Moringaceae*s est une famille à un seul genre « *Moringa* », qui comprend 13 espèces (*M. oleifera*, *M. arborea*, *M. riva*e, *M. ruspoliana*, *M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. concanensis*, *M. borziana*, *M. longituba*, *M. pygmaea*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina*, *M. stenopetala*), dont l'espèce *M. oleifera* est la plus connue, cultivée et utilisée en raison de son potentiel nutritionnel, production de gaz, engrais [9,10] mais aussi en purification d'eau et fabrication de savon [3,11].

I.2. Origine et distribution de *Moringa oleifera*

M. oleifera est largement distribué dans le monde entier, cependant elle est originaire d'Inde, le Moyen-Orient et les Indes Orientales. Elle est présente en Asie, en Afrique, dans les Caraïbes, en Amérique latine, les îles du Pacifique, la Floride, Madagascar, l'Amérique centrale, Cuba, les Philippines, l'Éthiopie et au Nigeria. L'histoire de la plante explique que *M. oleifera* a été introduite de l'Inde vers l'Afrique, en Afrique du Sud-Est et aux Philippines dans les temps anciens [12] (figure 1). Le *Moringa oleifera* est un arbre relativement méconnu en Algérie, néanmoins les agriculteurs ont réussi à l'introduire avec succès dans plusieurs régions telles que Adrar, Tamanrasset, Oued Souf, Béchar et Oran [13,14,15].

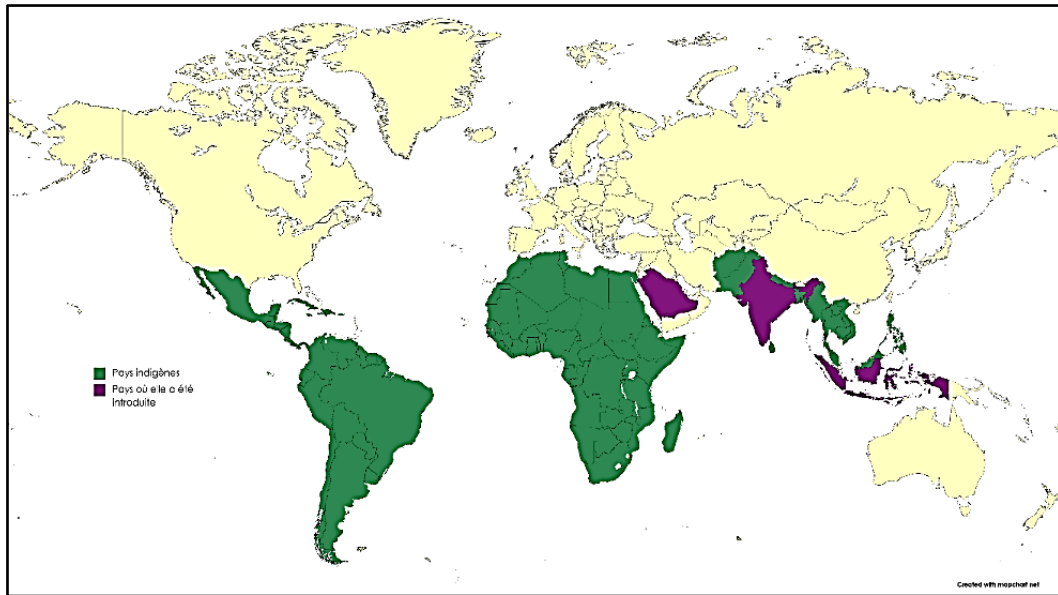


Figure 1. Répartition géographique de *Moringa oleifera* [12].

I.3 La Systématique de *Moringa oleifera*

La systématique de *Moringa oleifera* est représentée dans le tableau I :

Tableau I. Classification systématique de *Moringa oleifera* [16].

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermatophyta</i>
Sous-Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-Classe	<i>Dilleniidae</i>
Ordre	<i>Capparales</i>
Famille	<i>Moringaceae</i>
Genre	<i>Moringa</i>
Espèce	<i>Moringa oleifera</i>

I.4. Différentes parties de *Moringa oleifera*

I.4.1. Les feuilles

Les feuilles (Figure 2 -a-) présentent une grande similitude morphologique avec les fougères [17], elles ont généralement une longueur comprise entre 25 et 60 cm.

I.4.2. Les graines et fruits

Les fruits (figure 2 -d-) se présentent sous la forme d'une longue capsule, trivalve et parfois oléagineuse. Ils sont déhiscent, mesurent de 20 à 40 cm de long et contiennent de 12 à 35 graines par fruit. Pendant la croissance végétative, ils sont blancs et changent de couleur pour devenir bruns à maturité (figure 2 -d-). Charnues et ailées, elles mesurent de 2,5 à 3 mm de long [18,19]. Cette coque semi-perméable de couleur marron recouvre les graines de *Moringa oleifera*, les graines ont une forme ronde et de couleur blanchâtre. Cette coque est dotée de trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet, espacées de 120 degrés. Chaque arbre peut produire entre 15 000 et 25 000 graines par an. En moyenne, une graine pèse 0,3 g et la coque représente 25 % du poids total de la graine [20].

I.4.3. Les fleurs

Moringa oleifera possède des fleurs (figure 2 -b-) bisexuées disposées en panicules axillaires de 10 à 25 cm de long. Les fleurs sont crème ou blanches, avec 5 pétales fins et spatulés, 5 sépales linéaires et lancéolés et 5 étamines jaunes. Les étamines sont insérées au bord du disque, avec des filaments libres et des anthères uniloculaires, recourbées vers le bas, et oblongues. L'ovaire est stipé et lancéolé [19].

I.4.4. Les racines

Les plantules développent une racine pivotante gonflée, tubéreuse et blanche (figure 2 -c-) qui a une odeur piquante caractéristique, et des racines latérales racines latérales très peu nombreuses. Les arbres issus de graines développent une racine pivotante, profonde et robuste avec un système étendu de racines latérales épaisses et tubéreuses. Les racines pivotantes ne se développent pas sur les arbres multipliés à partir de boutures [18].

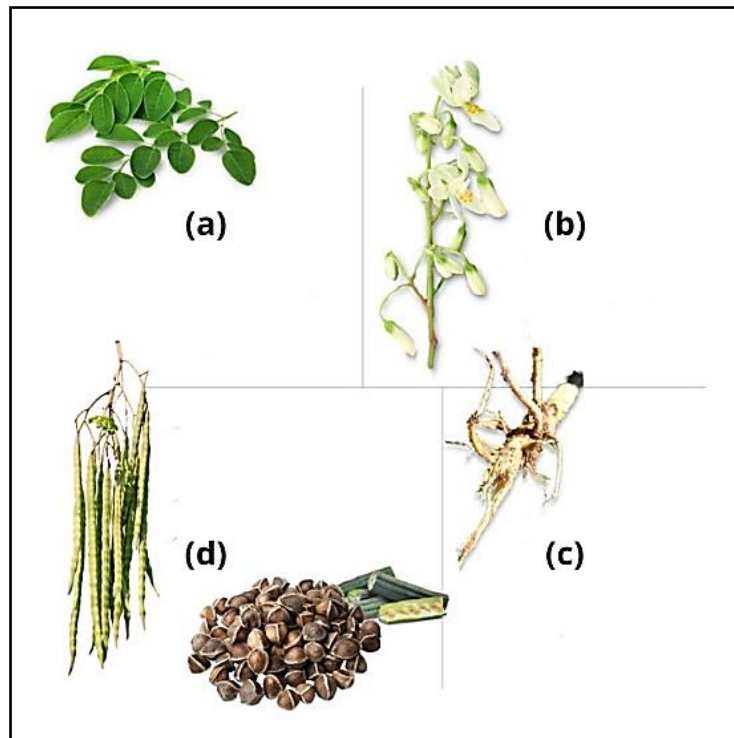


Figure 2. Les principales parties du *Moringa oleifera* [19].

I.5. Écologie et Culture

Moringa oleifera tolère un large éventail de conditions environnementales. Elle tolère des températures extrêmement élevées à l'ombre et peut survivre à une légère gelée. Cet arbre tolérant à la sécheresse pousse bien dans les régions où les précipitations annuelles se situent entre 250 et 1 500 mm. Elle préfère un sol sablonneux ou limoneux bien drainé, mais tolère l'argile. La *Moringa* est plantée soit par semis direct, soit par transplantation, soit en utilisant des boutures de tiges dures [21].

I.6. Composition chimique et valeur nutritionnelle des feuilles et graines

I.6.1. Les feuilles

Par rapport aux autres parties de *M. oleifera*, les feuilles contiennent le plus de nutriments, en particulier en termes de teneur en protéines (19-29%). De plus, elles sont une bonne source de vitamine E, de vitamine A (dont la quantité est quatre fois supérieure à celle d'une carotte), de vitamine C (dont la quantité est sept fois supérieure à celle d'une orange) et de vitamine B. De plus, elles sont l'une des meilleures sources de minéraux pour les végétaux [22,23] en raison de leur teneur très élevée en calcium (plus de quatre fois plus que celle du lait) et de leur teneur en fer intéressante. Par conséquent, elles sont recommandées contre l'anémie. Comme le montre le tableau II, elle contient également de grandes quantités de potassium (trois fois la quantité

d'une banane). La valeur nutritionnelle de la poudre de feuilles sèches de *M. oleifera* est supérieure à celle des feuilles fraîches, à l'exception de la vitamine C. Cela pourrait être intéressant car les feuilles sèches peuvent être conservées plus longtemps [24]. Dans de nombreuses cultures des pays pauvres, ils sont souvent la seule source de protéines supplémentaires, minéraux et de vitamines [25].

Tableau II. Valeur nutritionnelle des feuilles fraîches et séchées de *M. oleifera* par rapport à d'autres aliments [24,26].

Teneur en (mg/100 g)	Feuilles fraîches de <i>M. oleifera</i>	Feuilles sèches de <i>M. oleifera</i>	Autres aliments
Vitamine A	7	18.9	Carotte : 1.89
Vitamine C	220	17.3	Orange : 30
Calcium	440	2003	Lait de vache : 120
Fer	085	28.2	Epinards : 1.14
Potassium	259	1324	Banane : 88
Protéines	6700	27.100	Yaourt : 3100

Les feuilles de *M. oleifera* constituent une source très riche en acides aminés essentiels, qui sont souvent insuffisamment présents dans de nombreux végétaux [26]. Le tableau III présente les principaux acides aminés trouvés dans les feuilles séchées de *M. oleifera* comparés au profil d'acides aminés du soja et la viande de bœuf. Il n'est pas courant qu'un légume contienne tous ces acides aminés, cependant *M. oleifera* contient un profil en acide aminé très diversifié et en bonne proportion, ceux-ci étant très utiles à notre organisme.

Ainsi, les feuilles de *M. oleifera* offrent une précieuse solution pour les personnes qui adoptent un régime sans produits laitiers, comme les végétariens et les végétaliens, en fournissant une source abondante d'acides aminés essentiels. Elles renferment même de l'arginine et de l'histidine, deux acides aminés particulièrement importants pour les nourrissons [22].

Selon le Dr. Lowell Uglie, qui a utilisé l'arbre *Moringa* comme base d'un programme nutritionnel, "pour un enfant de 1 à 3 ans, une portion de 100 g de feuilles fraîches cuites fournirait tous ses besoins quotidiens en calcium, environ 75% de ses besoins en fer et la moitié de ses besoins en protéines, ainsi que des quantités importantes de potassium, de vitamines B,

de cuivre et de tous les acides aminés essentiels. Même une petite quantité de 20 g de feuilles fournirait à un enfant toutes les vitamines A et C dont il a besoin" [27].

Tableau III. Teneur en acides aminés des feuilles séchées de *M. oleifera*, des graines de soja et de la viande de bœuf [22].

Teneur en acides aminés (mg/100 g)	Feuilles sèches de <i>M. oleifera</i>	Soja	Bœuf
Arginine	1325	380	1118
Histidine* ¹	613	221	603
Lysine*	1325	233	1573
Tryptophan*	425	103	/
Phénylalanine*	1388	708	778
Méthionine*	350	296	478
Threonine*	1188	328	812
Leucine*	1950	1764	1435
Isoleucine*	825	803	852
Valine*	1063	728	886

* Acides aminés essentiels/*1 acide aminé essentiel seulement pendant l'enfance.

I.6.2. Les graines

De nombreuses études ont révélé la forte teneur nutritionnelle des gousses et des graines de *M. oleifera*. Il y a environ 9,98-51,80 g de protéines brutes, 17,26-20,00 g de fibres brutes, 3,36-18,00 g de glucides, 38,67-43,60 g de lipides et 3,60-5,00 g de cendres pour 100 g de graines de *M. oleifera*. Les gousses contiennent une abondance de fibres alimentaires, une faible teneur en lipides et une quantité raisonnable d'acides gras insaturés et essentiels, en particulier l'acide oléique [28].

Comme indiqué dans le tableau IV, Les graines de *M. oleifera* contiennent du potassium, du sodium, du magnésium, du calcium, le fer, le cuivre et le zinc [29] avec des proportions moins élevées que ceux contenus dans les feuilles [30].

Tableau IV. Teneur en éléments minéraux dans les graines de *Moringa oleifera* [29].

Éléments minéraux	Teneur en (mg/kg)	Éléments minéraux	Teneur en (mg/kg)
K	2,3557.71 ± 1.87	Cu	3.29 ± 0.21
Na	1,074.09 ± 1.56	As	0.01 ± 0.001
Mg	972.06 ± 1.23	Cd	0.018 ± 0.002
Ca	121.14 ± 0.87	Pb	0.015 ± 0.001
Fe	36.20 ± 0.79	Sn	0.007 ± 0.001
Zn	8.37 ± 0.12		

Les graines de *M. oleifera* contiennent sept acides aminés essentiels, à savoir la thréonine, la valine, la méthionine, l'isoleucine, leucine et la phénylalanine, avec la teneur totale de 0,824 g/100 g, représentant 25,65% de la teneur totale en acides aminés. Elles contiennent aussi sept types d'acides aminés hydrophobes : alanine, valine, méthionine, isoleucine, leucine, tyrosine et phénylalanine, et la teneur totale est de 0,834 g/100 g [29].

I.7. Utilisation des feuilles et graines *Moringa oleifera*

Les plantes médicinales sont généralement considérées comme une source inépuisable et économique de médicaments précieux pour traiter de nombreuses maladies mortelles. Dans le domaine de la santé et de la médecine, les substances phytochimiques sont préférées aux molécules synthétiques pour le traitement des maladies, car elles ont un rôle physiologique chez l'homme et sont considérées comme plus compatibles et plus sûres pour la consommation humaine [31]. *Moringa oleifera* est souvent qualifié de remède universel, capable de traiter plus de 300 maladies. Les composés phytochimiques présents dans le *Moringa* en font un agent médicinal prometteur [32]. De nombreux rapports historiques témoignent également de l'utilisation séculaire du *Moringa* pour traiter des affections telles que l'anémie, le diabète, l'arthrite, l'asthme, la fièvre typhoïde, le paludisme et diverses maladies de la peau. Cette plante est riche en divers phytoconstituants tels que les glucides, les glycosides, les glucosinolates, les flavonoïdes, les caroténoïdes, les isothiocyanates, les polyphénols, les saponines et les

alcaloïdes [33]. Toutes les parties du *Moringa oleifera*, y compris les graines, les feuilles, les racines, les fleurs et les gousses, sont comestibles (voir Tableau V) et possèdent une valeur médicinale traditionnelle bien établie [31].

Les graines de *Moringa oleifera* se révèlent extrêmement efficaces dans le traitement des eaux troubles, permettant de réduire la turbidité de 92 à 99 % [25].

Tableau V. Récapitulatif des actions pharmacologiques des graines et feuilles de *M. oleifera* [33].

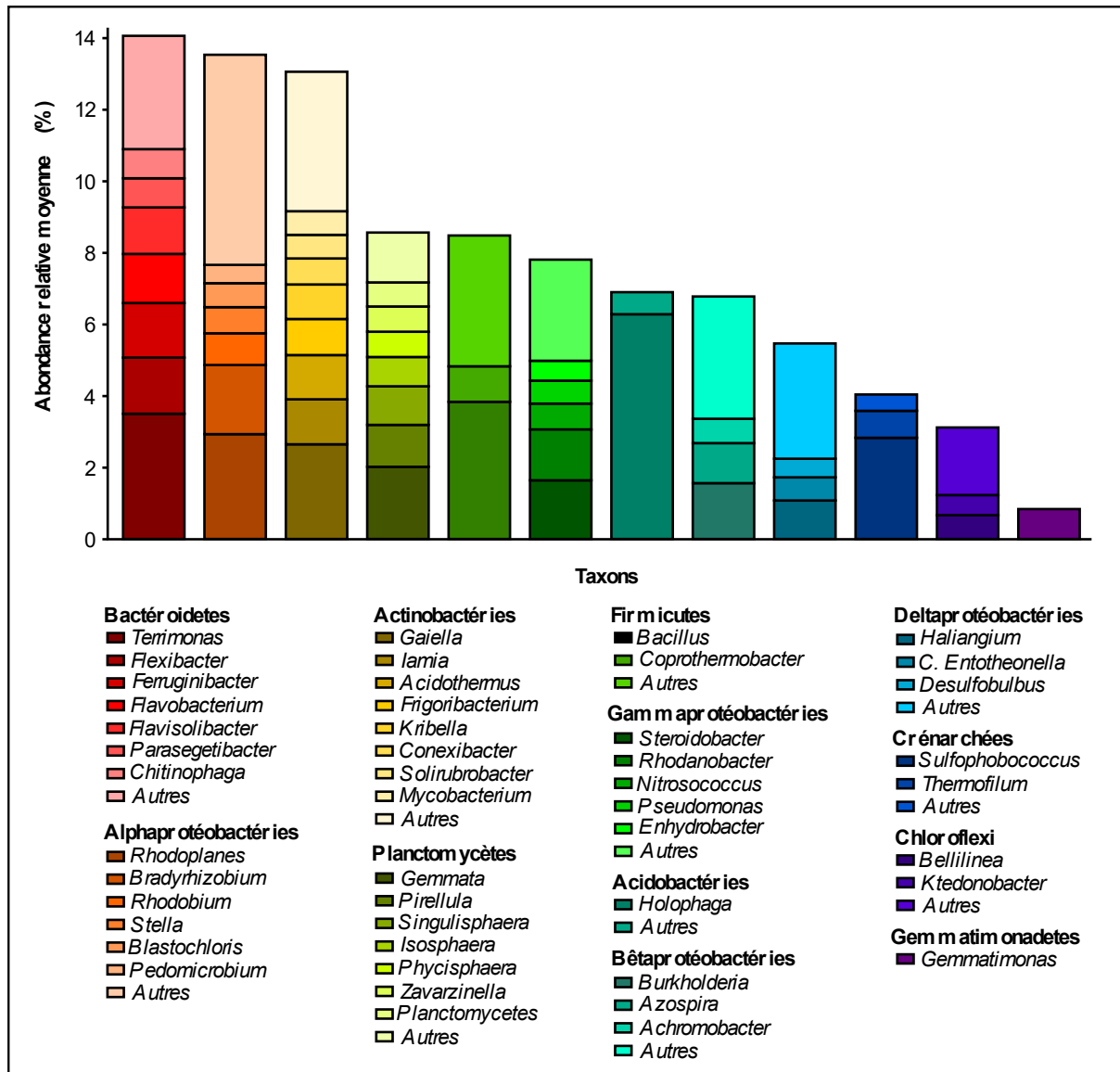
<i>Partie</i>	<i>Propriétés pharmacologiques de M. oleifera</i>				
Feuilles	Augmenter la lactation et la production de précurseurs d'œstrogènes $p < 0.05$	Traitement de la typhoïde et du paludisme $p < 0.05$	Neuroprotecteur cérébro-vasculaire ; troubles nerveux tels que l'hystérie $p < 0.05$	Améliorateur cognitif. Antidépresseur en combinaison avec le SSRI $p < 0.05$	Antitumoral dans le cancer ; anti-rhumatisme ; anti-infection bactérienne et virale
	Augmentation des neutrophiles circulants en cas de stress aigu $p < 0.05$	Réduction de la glycémie post prandiale $p < 0.05$	Augmentation de l'insuline $p < 0.05$	Impact positif sur le profil lipidique $p < 0.05$	Activité antioxydante $p < 0.05$
	Activité anticancéreuse contre les carcinomes mammaires et colorectaux $p < 0.05$	Cicatrisation des plaies par les extraits aqueux $p < 0.05$	Anti-vieillessement de la peau $p < 0.05$	Réduction de la production de sébum de la peau $p < 0.05$	
Graines	Nourrit, hydrate, nettoie et protège la peau.	Propriétés anti-diabétiques, antioxydantes et antiarthritiques $p < 0.05$	Activité antimicrobienne $p < 0.05$	Inhibe l'hépatotoxicité induite ; réduction de l'activité hépatique de la myéloperoxydase $p < 0.05$	Augmentation et amélioration de tous les paramètres des fonctions rénales $p < 0.05$

I.8. Le microbiote des plantes

La plupart des organismes pluricellulaires hébergent de nombreux micro-organismes, et les plantes sont particulièrement concernées car leurs racines abritent une grande variété de micro-organismes. Ce groupe, connu sous le nom de microbiote, est composé de plusieurs espèces de bactéries [34], archées [35], champignons [36] et protistes [37] qui interagissent avec la plante, étendent son répertoire génétique et contribuent à sa survie. Des recherches récentes mettent en évidence l'importance du microbiote pour la santé des plantes et pour la promotion d'une agriculture durable.

La composition du microbiote des plantes est hautement variable en fonction de plusieurs facteurs tels que son génotype, les caractéristiques de son lieu de croissance (telles que le type de sol, le climat et d'autres facteurs environnementaux), ainsi que la capacité génétique des micro-organismes environnants à interagir avec celle-ci [38].

À titre d'exemple, Le microbiote associé à un plant de riz cultivé en Asie diffère de celui associé à un plant de blé cultivé en Afrique en termes d'abondance et de diversité de micro-organismes. Par exemple, chez le blé, les bactéries du phylum *Bacteroidetes* sont plus abondantes que les *Proteobacteria* [39], alors que la situation est inversée pour le riz [40]. Les deux espèces de plantes, le riz et le blé, sont cultivées dans des environnements différents et subissent des pratiques agricoles contrastées, telles que l'irrigation pour le riz et l'arrosage par la pluie pour le blé. Ces différences entraînent une composition particulière du microbiote du sol (figure 3) [40].



La catégorie « Autres » correspond à la somme de tous les genres de chaque phylum représentant moins de 0,5% des séquences d'ADN servant à l'identification des micro-organismes.

Figure 3. Abondance relative des Bactéries et Archées des sols de France métropolitaine [41].

Le microbiote des plantes se trouve dans tous les organes de la plante, y compris la rhizosphère, les racines (en surface et à l'intérieur), les tiges, les feuilles, les fleurs et les graines. Cependant, la composition du microbiote varie selon les organes de la plante en raison des propriétés spécifiques de chaque habitat (telles que le pH, la disponibilité en oxygène, en nutriments et en eau) [38].

Au niveau des racines, on observe un gradient décroissant de biomasse et de diversité du microbiote de l'extérieur vers l'intérieur de ces organes [42]. Cette diminution de la diversité et de la biomasse est due aux défenses immunitaires de la plante qui contrôlent l'entrée et la

croissance des micro-organismes dans les tissus végétaux grâce à des mécanismes moléculaires spécifiques résultant de la coévolution entre les plantes et leurs microbiotes (figure 4). À mesure que l'on s'éloigne de la racine, l'effet des défenses de la plante sur le microbiote diminue et ce dernier est principalement influencé par la composition des exsudats racinaires et les propriétés du sol. Si les conditions sont favorables à la croissance du microbiote et que celui-ci possède les gènes nécessaires pour interagir durablement avec la plante, alors l'association entre la plante et le microbiote peut persister d'une génération à l'autre [43].

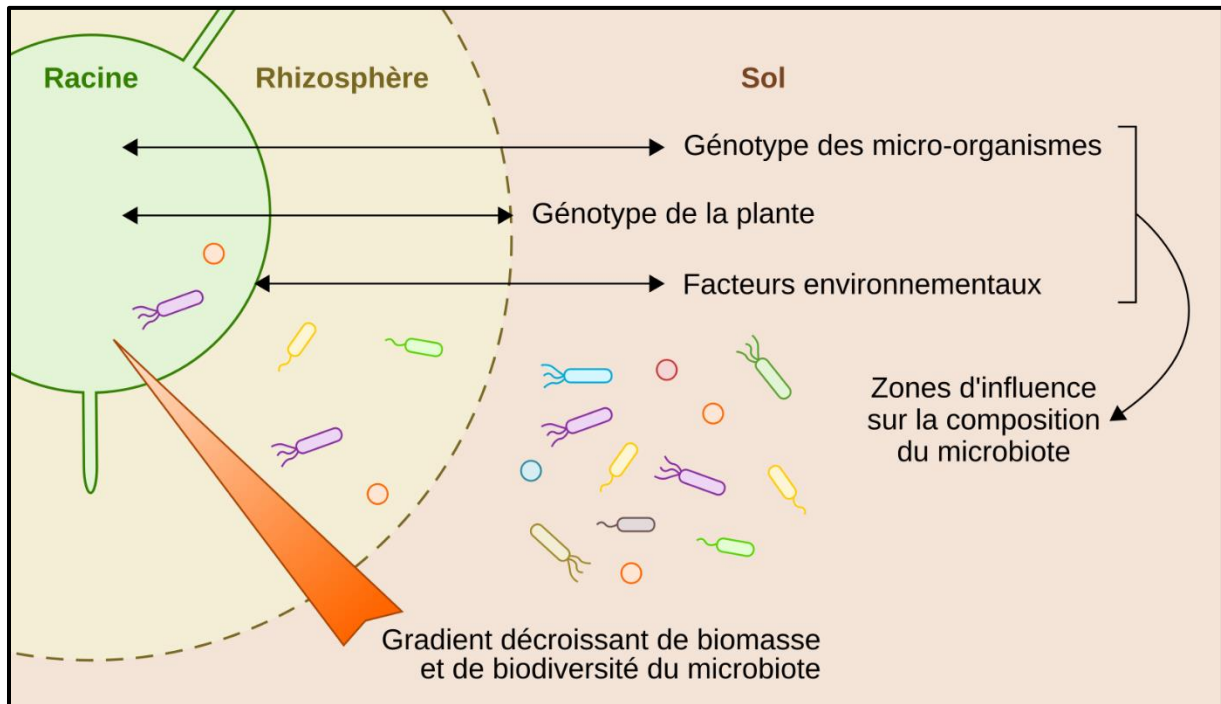


Figure 4. Le microbiote racinaire des plantes [38].

Les plantes ont une relation évolutive avec leur microbiote, comprenant à la fois des micro-organismes hérités verticalement de génération en génération [44] et des micro-organismes acquis de l'environnement [45,46]. Collectivement, ces organismes du microbiote fournissent des fonctions cruciales pour la survie de la plante. Par conséquent, les plantes ne peuvent plus être considérées comme des êtres autonomes et individuels, mais plutôt comme des assemblages d'espèces et de répertoires de gènes, appelés haplobiontes, comprenant une plante hôte et son microbiote associé [38].

I.9. Les enzymes bactériennes : des outils biologiques pour l'industrie

En raison de leur production économique, de leur consistance, de leur facilité de modification et de leur optimisation, les enzymes microbiennes sont préférées par rapport aux sources végétales et animales. De plus, la majorité des enzymes utilisées actuellement dans l'industrie sont d'origine microbienne, et ils offrent une plus grande variété d'activités catalytiques [47]. Environ 200 enzymes sont disponibles pour l'achat. Il y a 130 enzymes utilisées dans des processus industriels, dont moins de 30 représentent plus de 90 % de l'ensemble. Les enzymes particulières ont un impact significatif sur divers processus physiologiques tels que la digestion, la conduction nerveuse, la synthèse d'hormones, etc., ainsi que sur diverses activités industrielles telles que l'agroalimentaire (jus, lait, paille, plats cuisinés...), l'industrie pharmaceutique (antibiotiques, vitamines...) et les industries de nettoyage (traitement de l'eau, détergents, lessives) [48].

Des caractéristiques particulières des enzymes sont exploitées pour leur intérêt et leurs applications industrielles et commerciales, telles que leur nature thermophile, leur stabilité de l'activité enzymatique à une variété de température et de pH, et d'autres conditions de réaction difficiles [49].

I.9.1. Les protéases

En fonction de leur pH optimal pour l'activité et de leurs sites actifs, les protéases microbiennes peuvent être acides, neutres ou alcalines. Les protéases alcalines sont stables dans un pH alcalin et ont un résidu de sérine sur le site actif. Les sérine-protéases alcalines sont les protéases les plus courantes et les plus utilisées dans l'industrie [50]. Les protéases peuvent provenir de bactéries, de moisissures et de levures, mais la subtilase, produite par *Bacillus Subtilis* et quelques genres apparentés, est la principale source de protéases bactériennes. C'est extrêmement stable et résistant aux détergents. De plus, elle est excrétée naturellement dans l'environnement, ce qui facilite sa purification. [51,52].

I.9.2. Les kératinases

Du point de vue biotechnologique, ces enzymes sont très prometteuses car elles peuvent être utilisées pour traiter les déchets contenant de la kératine des industries de la plume et de la volaille et pour améliorer la valeur nutritive des farines de plumes [53]. Les souches bactériennes isolées connues pour dégrader la kératine ou produire la kératinase comprennent principalement des *Bacillus*, tels que *B. subtilis* et *B. licheniformis*, mais également d'autres bactéries, telles que *Lysobacter* à Gram positif, *Kocuria* et *Microbacterium*. De plus, la kératine

peut être dégradée par plusieurs bactéries à Gram négatives telles que *Vibrio*, *Xanthomonas*, *Stenotrophomonas*, *Chryseobacterium*, *Fervidobacterium*, *Thermoanaerobacter* et *Nesterenkonia* [54]. De plus, certaines espèces extremophiles et thermophiles des genres *Fervidobacterium*, *Thermoanaerobacter*, *Bacillus* et *Nesternokia* ont été identifiées comme produisant la kératinase. De plus, les actinomycètes du genre *Streptomyces*, tels que *S. fradiae*, *S. pactum*, *S. albidoflavus*, *Sthermoviolaceus* SD8 et *S. graminofaciens*, et les actinomycètes du genre thermoactinomyces, tels que *T. candidus*, sont connus pour dégrader la kératine et peuvent agir sur une variété de substrats, tels que la kératine des cheveux, de la laine et des plumes [55].

I.9.3. Les Amylases

L'alpha-amylase (EC3.2.1.1) est une enzyme hydrolase qui catalyse l'hydrolyse des liaisons alpha-1, 4-glycosidiques internes dans l'amidon pour produire des produits comme le glucose et le maltose. C'est une enzyme métallo-calcium [56].

L' α -amylase provient principalement du genre *Bacillus*, bien que différentes espèces de microorganismes puissent la produire. Les α -amylases créées par *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus* et *Bacillus amyloliquefaciens* peuvent être utilisées dans une variété de processus industriels, notamment dans les industries de l'alimentation, de la fermentation, du textile et du papier. En raison de leur thermo-stabilité remarquable et parce que des systèmes d'expression efficaces pour ces enzymes sont disponibles, les enzymes amylase des espèces *Bacillus* présentent un intérêt particulier pour les procédés biotechnologiques à grande échelle [57].

I.9.4. Les Xylanases

Ces enzymes sont principalement utilisées pour hydrolyser l'hémicellulose, un type de fibre présent dans les parois des cellules végétales. Un des composants des hémicelluloses, la β -1,4-xylène, s'hydrolyse en xylose, un ose simple, au cours de ces réactions d'hydrolyse [58].

Plusieurs souches bactériennes telles que *Bacillus* spp., *Bacillus circulans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Rhodothermus marinus*, *Micrococcus* spp. et *Streptomyces roseiscleroticus* sont isolées lors de la recherche de micro-organismes produisant des niveaux élevés d'activité xylanase à un pH alcalin et à une température élevée. *Caldocellum saccharolyticum*, une bactérie anaérobie stricte thermophile, possède des xylanases qui fonctionnent avec un optimum d'activité à des pH de 5,5 et 6,0 et à 70 ° C [59].

La xylanase a de nombreuses applications biotechnologiques dans diverses industries, mais la majorité de ces enzymes sont utilisées dans les pâtes et papiers, les combustibles, l'alimentation et les industries boulangères, et à un moindre degré dans les produits chimiques, la brasserie et le vin, les aliments pour animaux et les textiles [60].

I.9.5. Les Cellulases

La nomenclature enzymatique IUBMB classe les cellulases bactériennes dans le groupe EC 3.2.1.4. La cellulase (4- β -D-glucane 4-glucanohydrolase) catalyse l'endohydrolyse des liaisons β -1,4-D glucosidiques dans la cellulose, la lichénine et les β -d-glucanes des céréales [61].

Étant donné qu'elles sont utilisées beaucoup plus dans l'industrie textile pour le biopolishing des tissus, ainsi que dans les détergents de blanchisserie de ménage pour améliorer la douceur et la luminosité du tissu, elles représentent 8 % des demandes mondiales d'enzymes industrielles. De plus, dans la transformation du jus de fruit, la cuisson et le désencrage du papier, l'amélioration de la qualité nutritionnelle et de la digestibilité des animaux [62].

Un certain nombre de types de bactéries produisent la cellulase, y compris *Bacillus*, *Acidothermus*, *Pseudomonas*, *Ruminococcus*, *Clostridium* ; y compris les deux espèces *C.thermocellum* et *C. acetobutylium*, *Rhodothermus* et *R. marinus*, ainsi que certains types de bactéries aérobies comme *Cytophaga*, *Cellumonas* et *Cellovibrio* qui ont la capacité de décomposer la cellulose en culture pure [63].

I.9.6. Autres enzymes bactériennes

Les enzymes bactériennes autres que celles décrites ci-dessus sont extrêmement importantes au niveau industriel, comme les lipases, qui ont émergé en tant qu'enzymes clés dans les biotechnologies en raison de leurs propriétés, qui trouvent leur utilisation dans un large éventail d'applications industrielles, telles que la technologie alimentaire, le détergent, l'industrie chimique et les sciences biomédicales [64].

Les pectinases ont également de puissantes applications biotechnologiques dans l'industrie du jus de fruits [65].

Tableau VI. Aperçu de certaines enzymes microbiennes présentant des caractéristiques particulières d'importance industrielle [58]

Enzyme	Germe producteur	Application
LES PROTÉASES	<i>Bacillus</i> ; <i>Pseudomonas</i> ; <i>Clostridium</i> ; <i>Rhizopus</i> ; <i>Penicillium</i> ; <i>Aspergillus</i> ;	- Poudres de lavage - Détergents - Tannerie - Industrie alimentaire - Traitement du cuir - Médicaments - Biologie moléculaire - Synthèse peptidique
LES AMYLASES	<i>Bacillus</i> spp. <i>Geobacillus</i>	- Industrie de l'amidon (pour la liquéfaction) - Papier, industrie alimentaire - Industrie pharmaceutique (Aide digestive) - Industrie textile ; Industrie de la boulangerie
LES XYLANASES	<i>Thermoactinomyces</i> , <i>Thalophilus</i> ; <i>Bacillus</i> spp.	- additif dans l'alimentation de la volaille et amélioration de la digestibilité, extraction de l'amidon, des huiles de café et de légumes - Traitement des eaux usées - L'obtention de protéines cellulaires, des carburants et des produits chimiques
LES LIGNINASES	Les α -protéobactéries et les γ -protéobactéries	- Délignification de la biomasse de la pâte à papier ; - - La détoxification des effluents industriels
LES CELLULASES	<i>Acetivibrio cellulolyticus</i> <i>Bacillus</i> spp., <i>Cellulomonas</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Erwinia chrysanthemi</i> , <i>Thermobispora bispara</i> , <i>Ruminococcus albus</i> , <i>Streptomyces</i> spp., <i>Thermonospora</i> spp. <i>Thermobifida fusca</i>	- Décoloration et Dégradation des teintures textiles - Industrie agroalimentaire - Application médicales - Applications agricoles
LES LIPASES	<i>Pseudomonas</i> <i>Bacillus</i> <i>Staphylococcus</i>	- Agro-alimentaire - Détergents - Tannerie - Bioremediation

MATÉRIEL ET MÉTHODES

II. Matériel Et Méthodes

II.1. Objectif de l'étude

L'objectif principal de notre étude est la caractérisation de la microflore de feuilles et graines de *Moringa oleifera* et ceci en isolant et identifiant ces bactéries, ainsi que le screening de leurs activités enzymatiques spécifiques.

II.2. Échantillonnage

Dans le cadre de notre étude, un échantillonnage de différentes parties de *Moringa oleifera* a été réalisé. Des échantillons de feuilles sèches, de poudre de feuilles, de graines mures, de poudre de graines et de poudre de graines délipidées ont été collectés et analysés. Chacun de ces échantillons présente des caractéristiques spécifiques qui peuvent influencer sa microflore (voir Tableau VII).

Les feuilles sèches ont été obtenues chez un herboriste et elles proviennent de l'Afrique centrale, une partie de cet échantillon a été finement broyée créant ainsi une forme plus homogène et facilement analysable.

Les graines mures ont été achetées et elles proviennent de l'Égypte. Les échantillons de poudre de graines ont été obtenus en broyant finement les graines mures, tandis que la poudre de graines délipidées avait subi une étape supplémentaire pour éliminer les lipides présents.

Tableau VII. Les échantillons étudiés et leurs origines.

Échantillon	Origine
Feuilles	Afrique centrale
Graines	Égypte

Chaque type d'échantillon a été analysé individuellement. Les échantillons cités précédemment ont été soumis à des techniques d'isolement, de purification et d'identification des microorganismes.

Toutes les étapes de notre étude ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté SNV-ST de l'université de Bouira.

II.3. Isolement et identification des souches

Avant de procéder à l'isolement des souches, tous les échantillons ont été soumis à un procédé de désinfection de surface afin d'éliminer la flore exogène. Les échantillons ont été placés dans un bain d'eau de Javel à une concentration de 10% pendant 2 minutes. Ensuite, pour éliminer toute trace d'eau de Javel résiduelle, deux rinçages successifs ont ensuite été effectués avec de l'eau distillée stérile. Les échantillons ont ensuite été soigneusement séchés avec du papier Whatman [66].

Les graines ont été divisées en deux échantillons de 1g chacun. Le premier échantillon a été ajouté à 9ml de bouillon nutritif stérile, le deuxième à 9ml d'eau peptonée stérile [6], et un troisième échantillon à 2g dans 5ml d'eau distillée stérile [67] (figure 5). Pour permettre une dispersion homogène des graines, chaque tube a été agité à l'aide d'un vortex pendant 5 minutes.

Les tubes contenant le bouillon nutritif et l'eau peptonée ont été incubés à une température de 37°C pendant une nuit (environ 18 à 24 heures). Le tube contenant l'eau distillée stérile avec les graines a été placé au réfrigérateur pour une macération avec agitation intermittente.

Après l'incubation des échantillons, nous avons procédé à l'isolement des microorganismes. Pour cela, environ 10 μ L de chaque échantillon ont été ensemencés sur des boîtes de gélose nutritive (Annexe II). Après incubation à 37°C pendant 24h, toutes les colonies morphologiquement différentes ont été repiquées sur des géloses sélectives tels que le milieu EMB (Annexe II) pour les bactéries à Gram négatif et le milieu Chapman (Annexe II) pour les bactéries à Gram positif afin de purifier les cultures.

Après avoir obtenu des colonies pures sur les milieux sélectifs, nous avons procédé à l'identification des souches qui était basée sur une observation macroscopique et microscopique suivi de l'emploi d'une galerie biochimique classique composé des milieux Citrate de Simmons, TSI et le milieu Mannitol-Mobilité.

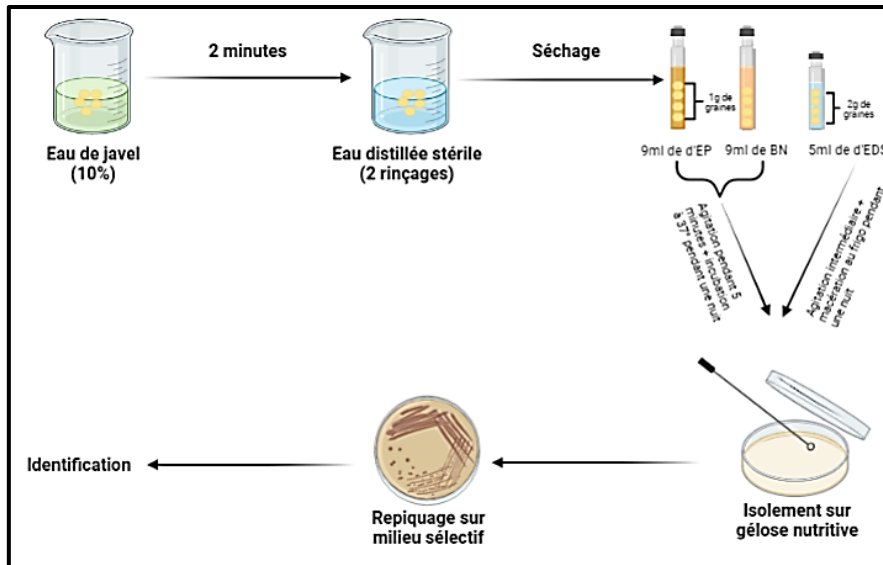


Figure 5. Récapitulatif des étapes d'isolement à partir des graines.

Pour les échantillons de feuilles, poudre de feuilles, poudre de graines et poudre de graines délipidées, 2g de chaque échantillon ont été d'abord prélevés aseptiquement. Ensuite, 1g de chaque échantillon a été déposé dans un tube contenant 9ml d'eau peptonée stérile et 1g dans un autre tube contenant 9ml de bouillon nutritif [6] (figure 6). Pour permettre une dispersion homogène des échantillons, chaque tube a été agité à l'aide d'un vortex pendant 5 minutes. Ensuite, les échantillons ont été incubés à une température de 37°C pendant une nuit (environ 18 à 24 heures).

Après l'incubation, nous avons procédé à l'isolement et identification des souches en utilisant la même méthode utilisée avec les graines.

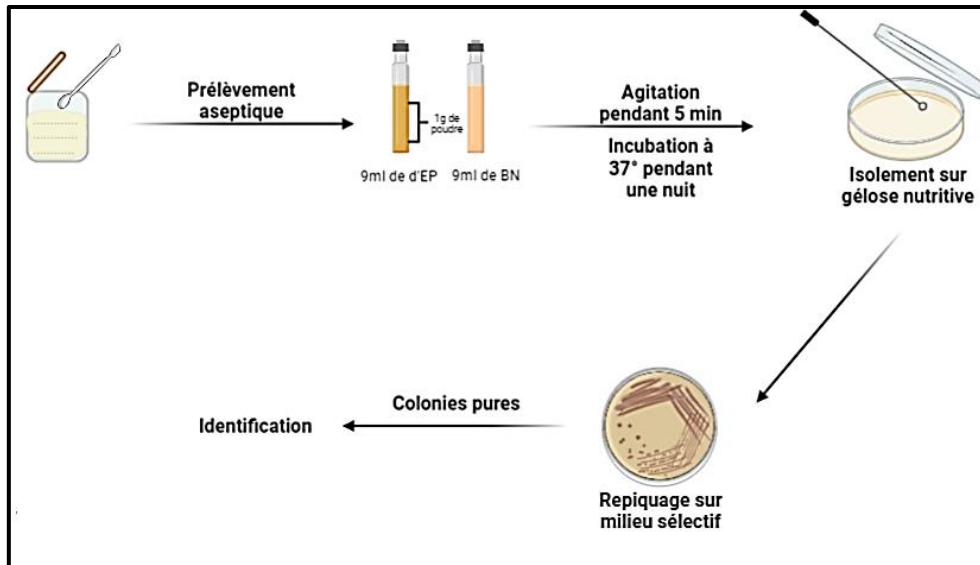


Figure 6. Récapitulatif des étapes d'isolement à partir de poudre de graines délipidées.

II.4. Mise en évidence des activités enzymatiques

Avant d'entamer les essais de mise en évidence des activités enzymatiques des souches préalablement isolées nous avons préparé une suspension dans de l'eau physiologique stérile pour chaque isolat.

II.4.1. La recherche de l'activité protéolytique (hydrolyse des protéines)

Un milieu gélosé contenant 5% de lait écrémé (Annexe III) a été utilisé, ce milieu permet de mettre en évidence la présence d'une activité protéolytique. Il fournit les substrats nécessaires pour l'hydrolyse des protéines par les enzymes produites par les bactéries. Les souches bactériennes ont été ensemencées par touche à l'aide d'un écouvillon stérile, les boîtes ont ensuite été incubées à une température de 37°C pendant 48 heures.

L'hydrolyse des protéines du lait est indiquée par la présence d'une zone claire autour de la touche d'ensemencement. Cette zone claire résulte de la dégradation des protéines par les enzymes protéolytiques produites par les bactéries. En revanche, un résultat négatif est observé lorsque aucune zone d'hydrolyse n'est présente autour de la culture, indiquant l'absence d'activité protéolytique pour cette souche bactérienne [68,69].

II.4.2. La recherche de l'activité amylolytique (Hydrolyse de l'amidon)

Une gélose nutritive contenant 1% d'amidon (Annexe III) a été utilisée [69]. L'ensemencement des souches bactériennes a été réalisé par touche à l'aide d'un écouvillon stérile. Une petite quantité de chaque souche bactérienne a été déposée sur la surface de la

gélose nutritive. Les boîtes ont ensuite été incubées à une température de 37°C pendant 48 heures.

Après l'incubation, le milieu gélosé a été recouvert d'une solution de Lugol (Annexe IV) pendant 30 secondes, suivie d'un rinçage à l'eau distillée. L'eau iodée contenue dans la solution de Lugol se complexe avec l'amidon présent dans le milieu, formant un précipité bleu sombre.

L'hydrolyse de l'amidon est indiquée par l'apparition d'une zone claire autour des colonies bactériennes productrices d'amylase. Cette zone claire correspond à la dégradation de l'amidon par les enzymes amylolytiques sécrétées par les bactéries. A l'inverse, un résultat négatif se traduit par une couleur brune autour de la culture (Les zones contenant de l'amidon se colorent en brun) [68,69].

II.4.3. La recherche de l'activité cellulolytique (Hydrolyse de la D-Cellobiose)

Pour sélectionner les souches bactériennes ayant une activité cellulolytique, une gélose nutritive contenant 0,5% de D-Cellobiose (Annexe III) a été utilisée. L'ensemencement des souches bactériennes a été réalisé par touche à l'aide d'un écouvillon stérile et les boîtes ont été incubées à une température de 37°C pendant 48 heures.

Après l'incubation, les boîtes de Pétri ont été remplies d'une solution de rouge Congo à 0,1% (Annexe IV) et placées pendant 15 à 30 minutes à 45°C. Le rouge Congo se lie aux produits de dégradation de la cellobiose et permet de visualiser l'activité cellulolytique.

Les boîtes ont ensuite été lavées avec une solution de NaCl à 1M pendant 5 à 10 minutes à température ambiante pour éliminer l'excès de colorant.

L'activité cellulolytique est appréciée par l'apparition de zones claires autour des colonies bactériennes. Ces zones claires indiquent la dégradation du substrat par les enzymes cellulolytiques produites par les souches bactériennes [70].

II.4.4. La recherche de l'activité pectinolytique (Hydrolyse de la pectine)

Un milieu spécifique appelé "pectine agar" (Annexe III) a été utilisé, il contient de la pectine comme substrat pour l'enzyme pectinase. Les souches bactériennes ont étéensemencées par touche sur les boîtes contenant ce milieu à l'aide d'un écouvillon stérile. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 48 heures afin de favoriser la croissance des bactéries et l'expression de l'activité de la pectinase. Après l'incubation, les boîtes ont été inondées avec une solution d'acétate de cuivre à 7,5% (Annexe IV) pendant 10 minutes. Un résultat positif, indiquant la présence d'une activité pectinase, était caractérisé par la formation d'un halo clair

autour des stries bactériennes, témoignant de la dégradation de la pectine. En revanche, un résultat négatif se manifestait par l'absence de halo clair [71].

RÉSULTATS

III. Résultats

III.1. Souches bactériennes

Les échantillons ont été préparés en utilisant l'eau peptonée, l'eau distillée stérile et le bouillon nutritif. Les résultats ont révélé la présence de 17 souches bactériennes distinctes dans l'ensemble des échantillons (voir Tableau VIII) dont neuf (09) bactéries à Gram négatif et huit (08) bactéries à Gram positif (figure 7).

Plus précisément, deux (02) souches a été isolée à partir de la poudre de feuilles, en utilisant le bouillon nutritif. Trois (03) souches ont été isolées à partir des échantillons de feuilles, également en utilisant le bouillon nutritif. Les échantillons de poudre de graines délipidée ont donné lieu à l'isolement de cinq (05) souches bactériennes, toutes obtenues à partir de l'eau peptonée. Les échantillons de graines ont également été riches en bactéries, avec cinq (05) souches isolées, dont trois (03) à partir de l'eau peptonée, deux (01) à partir du bouillon nutritif et une (01) seule à partir de l'eau distillée.

Tableau VIII. Nombre de souches bactériennes isolées depuis les échantillons.

Échantillon Nombre de souches	Eau Peptonée	Bouillon Nutritif	Eau distillée Stérile
Poudre de feuilles	00	02	/*
Feuilles	00	03	/*
Poudre de graines	00	02	/*
Poudre de graines délipidée	05	00	/*
Graines	03	01	01

*aucun échantillon n'a été préparé

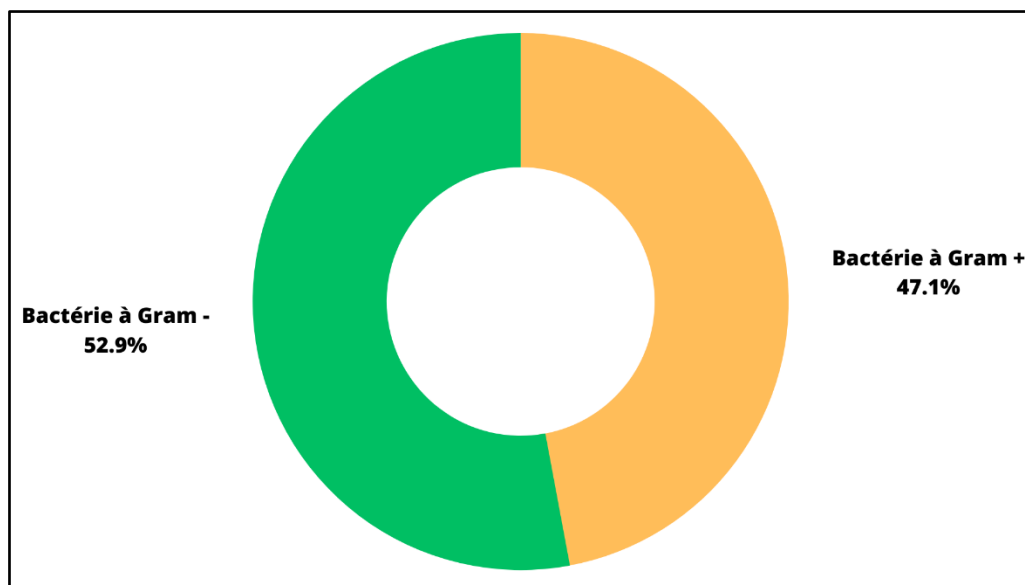


Figure 7. Pourcentages des souches à Gram + et Gram – isolées.

D’abord en ce qui concerne les deux souches isolées à partir de l’échantillon de poudre de feuilles, nous avons observé des caractéristiques distinctives pour chacune :

La première souche a montré une croissance sur le milieu de culture GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur blanche avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu’il s’agissait d’une bactérie à Gram positif, prenant la forme de bacilles. Cette souche a également montré une croissance sur le milieu Chapman, avec des colonies de couleur jaune et sur la base des résultats de la galerie biochimique minimale (Annexe I) nous avons suspecté qu’il s’agissait d’une souche appartenant au genre *Bacillus*.

La deuxième souche, quant à elle, a montré une croissance sur le milieu GN avec de petites colonies de couleur beige et un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu’il s’agissait d’une bactérie à Gram négatif, prenant la forme de petits bâtonnets. De plus, cette souche a montré une croissance sur le milieu EMB, et en se basant sur les résultats de la galerie biochimique minimale (Annexe II) nous avons émis l’hypothèse qu’il s’agissait d’une souche appartenant au genre *Enterobacter*.

Pour les trois (03) souches isolées à partir de l’échantillon des feuilles, elles ont montré des caractéristiques distinctives pour chacune :

La première souche a montré une croissance sur le milieu de culture GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur crémeuse avec un

contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram négatif, prenant la forme de petits bâtonnets. Cette souche a également montré une croissance sur le milieu EMB, avec des colonies présentant un éclat métallique.

La deuxième souche, quant à elle, a également montré une croissance sur le milieu GN avec de petites colonies de couleur beige et un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram négatif, prenant la forme de bacilles. De plus, cette souche a montré une croissance sur le milieu EMB.

En considérant leurs résultats de la galerie biochimique (Annexe I), nous avons émis l'hypothèse que la première souche s'agissait d'une d'*Escherichia coli* et la deuxième une souche appartenant au genre *Enterobacter*.

La dernière souche a montré une croissance sur le milieu de culture GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur crémeuse avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram positif, prenant la forme de bacilles. Cette souche a également montré une croissance sur le milieu Chapman, avec des colonies de couleur jaune. Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de sa galerie biochimique (Annexe I) nous avons suspecté que c'est une souche appartenant au genre *Bacillus*.

Par rapport aux deux souches isolées à partir de l'échantillon de poudre de graines :

La première souche a montré une croissance sur le milieu de culture GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur crémeuse avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram positif, prenant la forme de bacilles. Cette souche a également montré une croissance sur le milieu Chapman, avec des colonies de couleur jaune.

La deuxième souche, quant à elle, a montré une croissance sur le milieu GN avec de petites colonies de couleur beige et un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram négatif, prenant la forme de petits bâtonnets. De plus, cette souche a montré une croissance sur le milieu EMB.

Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de leurs galeries biochimiques (Annexe I) nous avons suspecté que la première souche s'agissait d'une souche appartenant au genre *Bacillus* et la deuxième une souche appartenant au genre *Enterobacter*.

Les souches isolées à partir de l'échantillon de poudre de graines délipidée ont présenté des caractéristiques distinctes :

La première souche a montré une croissance sur le milieu GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur beige avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram négatif, prenant la forme de petits bâtonnets. Cette souche a également montré une croissance sur le milieu EMB. Selon ces caractéristiques et les résultats de sa galerie biochimique (Annexe I) nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait d'une souche appartenant au genre *Enterobacter*.

Deux autres souches ont montré une croissance sur le milieu GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur crémeuse avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait de bactéries à Gram positif, prenant la forme de coques. De plus, ces souches ont montré une croissance sur le milieu Chapman, avec un changement de couleur du milieu vers le rouge. Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de sa galerie biochimique (Annexe I), nous avons suspecté qu'il s'agissait de souches appartenant au genre *Staphylococcus*.

Une quatrième souche a montré une croissance sur le milieu de culture GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur crémeuse avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram positif, prenant la forme de bacilles. Cette souche a également montré une croissance sur le milieu Chapman, avec des colonies de couleur jaune. Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de ses caractères biochimiques (Annexe I), nous avons suspecté qu'il s'agissait d'une souche appartenant au genre *Bacillus*.

Enfin, la dernière souche a montré une croissance sur le milieu GN après une incubation à 37°C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur crémeuse avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram positif, prenant la forme de Cocci en chaîne. Cette souche a également montré une croissance sur le milieu Chapman, avec des colonies de couleur jaune. Selon ces caractéristiques et les résultats de ses caractères biochimiques (Annexe I), nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait d'une souche appartenant au genre *Streptococcus*.

Les souches isolées à partir de l'échantillon des graines ont présentées les caractères suivants :

Deux souches ont montré une croissance sur le milieu GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur beige avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait de bactéries à Gram négatif, prenant la forme de petits bâtonnets. Ces souches ont également montré une croissance sur le milieu EMB. Selon ces caractéristiques et les résultats de leurs galeries biochimique (Annexe I) nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait de souches appartenant au genre *Enterobacter*.

Deux autres souches ont montré une croissance sur le milieu de culture GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur crémeuse avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait de bactéries à Gram négatif, prenant la forme de petits bâtonnets. Ces souches ont également montré une croissance sur le milieu EMB, avec des colonies présentant un éclat métallique. Selon ces caractéristiques et les résultats de leurs galeries biochimique (Annexe I) nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait de souches d'*Escherichia coli*.

La dernière souche a montré une croissance sur le milieu de culture GN après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur blanche avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram positif, prenant la forme de bacilles. Cette souche a également montré une croissance sur le milieu Chapman, avec des colonies de couleur jaune et sur la base des résultats de la galerie biochimique minimale (Annexe I) nous avons suspecté qu'il s'agissait d'une souche appartenant au genre *Bacillus*.

La figure 8 résume les pourcentages de chaque souche isolée ainsi que leur dispersion en fonction des différents échantillons.

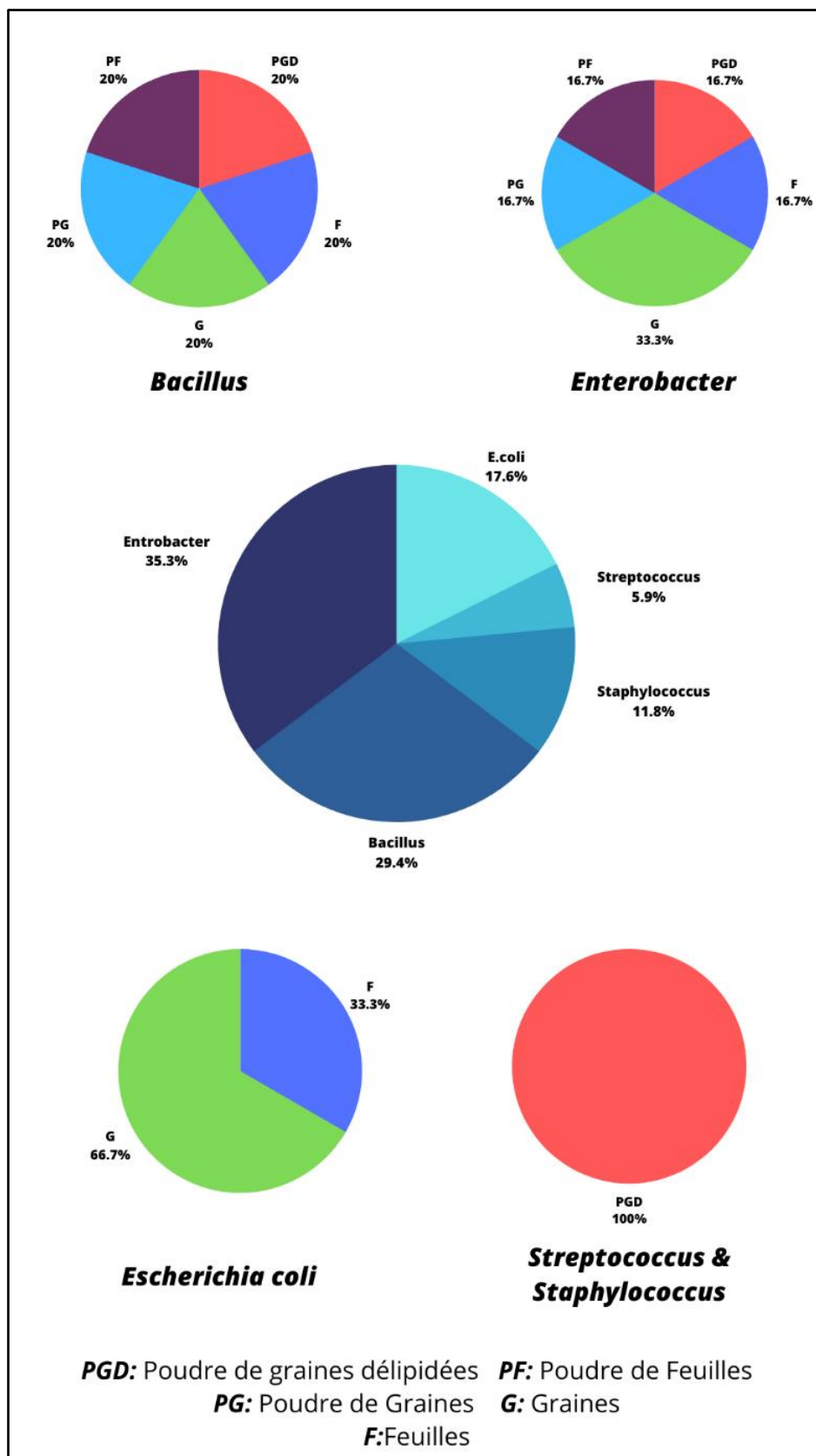


Figure 8. Les pourcentages de chaque souche isolée ainsi que leur dispersion en fonction des différents échantillons.

III.2. Résultats de la mise en évidence des activités enzymatiques

Un screening des activités protéolytiques, amylolytiques, cellulolytiques et pectinolytique a été effectué. La présence de ces activités est détectée en utilisant les substrats, lait écrémé, amidon, D-Cellobiose et pectine respectivement. Toutes les souches étudiées possèdent au moins une activité hydrolytique.

Toutes les souches d'*Escherichia coli* obtenues à partir des échantillons de graines et de feuilles ont démontré la capacité de produire des amylases et des pectinases. Cependant, aucune de ces souches n'a présenté d'activité protéolytique. De plus, les souches d'*E. coli* provenant de l'échantillon de graines ont également montré une production de cellulase, tandis que celle isolée à partir de l'échantillon de feuilles n'a pas manifesté d'activité cellulolytique.

La seule souche appartenant probablement au genre *Streptococcus* isolée à partir de l'échantillon de poudre de graines délipidée n'a manifesté aucune activité enzymatique à l'exception de l'activité amylolytique.

Les deux souches qu'on a suspecté appartenir au genre *Staphylococcus* et qui ont été isolée à partir de l'échantillon de poudre de graines délipidée ont montré une activité enzymatique pour toutes enzymes recherchées sauf un seul isolat qui n'a pas manifesté une activité pectinolytique et une autre souche n'a pas poussée sur le milieu à base de pectine.

Les résultats obtenus lors de la mise en évidence des activités enzymatiques des souches de *Bacillus* sont les suivants :

La souche isolée à partir de l'échantillon de graines a révélé une activité enzymatique positive pour toutes les enzymes recherchées. Toutefois, celle qu'on a isolée de l'échantillon de poudre de graines délipidée a montré une activité positive pour toutes les enzymes à l'exception de l'activité pectinolytique où la souche n'a même pas poussé sur le milieu à base de pectine.

En revanche, la souche isolée à partir de la poudre de graines a montré une absence d'activité protéolytique, mais une activité enzymatique positive pour les autres enzymes recherchées.

En ce qui concerne l'échantillon de feuilles, la souche a manifesté une absence d'activité cellulolytique, mais une activité enzymatique positive pour les autres enzymes recherchées.

Enfin, la poudre de feuilles n'a révélé aucune activité protéolytique, une activité amylolytique positive, mais une absence d'activité cellulolytique et une activité pectinolytique positive.

Ces résultats mettent en évidence des variations dans les activités enzymatiques des souches de *Bacillus* en fonction de la nature des échantillons, notamment en ce qui concerne les activités protéolytique, cellulolytique et amylolytique.

Les résultats obtenus lors de la mise en évidence des activités enzymatiques des souches d'*Enterobacter* sont les suivants :

Pour les échantillons de graines, nous avons isolé deux souches distinctes. La première souche a révélé une activité enzymatique positive pour toutes les enzymes recherchées. En revanche, la deuxième souche n'a pas montré d'activité protéolytique, mais elle a présenté des activités amylolytique, cellulolytique et pectinolytique positives.

En ce qui concerne la souche isolée de l'échantillon de poudre de graines délipidée, nous avons observé une absence d'activité protéolytique, mais des activités amylolytique, cellulolytique et pectinolytique positives.

Et pour la souche isolée à partir de l'échantillons de feuilles et celle isolée de la poudre de graines, nous avons constaté une activité enzymatique positive pour toutes les enzymes recherchées.

Enfin, pour la souche isolée de l'échantillon de poudre de feuilles, nous avons constaté une absence d'activité protéolytique, mais une activité amylolytique positive, ainsi que des activités cellulolytique et pectinolytique positives.

La figure 09 résume les activités enzymatique qui ont été mises en évidence à partir des souches isolées.

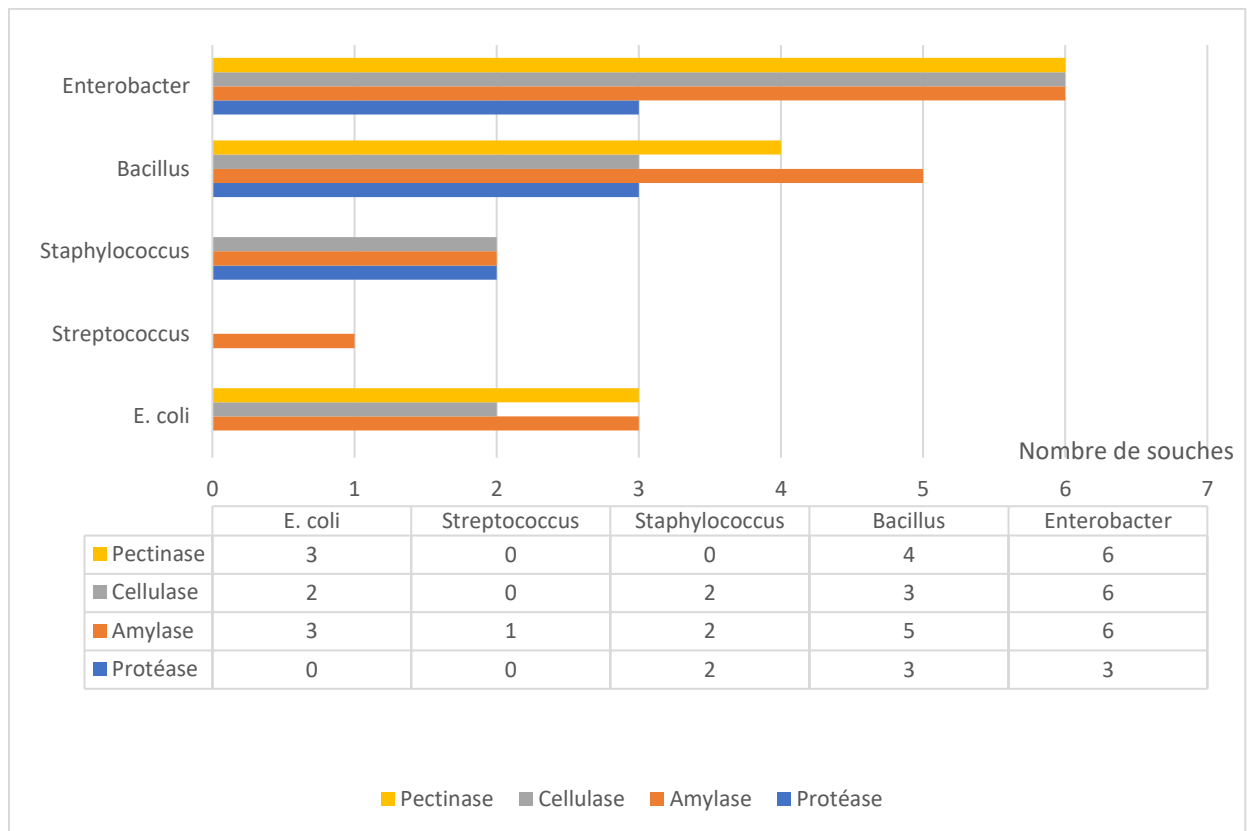


Figure 9. Récapitulatif de productions d'enzymes par les souches isolées.

DISCUSSION GÉNÉRALE

IV. Discussion Générale

Depuis la découverte du rôle des microbes dans le phytobiome, les communautés microbiennes (microbiote) ont été identifiées et caractérisées en fonction de l'espèce hôte, du développement, de la répartition et de l'état [72]. Cependant, les interactions plante-sol-microorganismes restent relativement inconnus malgré leur grande importance pour la survie des plantes [73].

Cette étude revêt une importance considérable car elle vise à combler une lacune de connaissances concernant la caractérisation microbiologique de *Moringa oleifera*. Les résultats obtenus fourniront une meilleure compréhension de la microflore de cette plante, contribuant ainsi à l'avancement de notre compréhension dans cet axe de recherche.

Nos résultats ont révélé une diversité microbienne significative au sein de chaque échantillon étudié. En ce qui concerne les échantillons de graines nous avons pu isoler probablement des bactéries des genres courants tels que *Enterobacter*, *Bacillus*, *Escherichia*, ces résultats correspondent à ceux trouvés dans la littérature pour des échantillons de graines pour d'autres espèces végétales [74,75,76,77] ainsi qu'une étude menée au Nigeria sur la poudre de graines de *Moringa oleifera* [7]. Aussi, nous avons suspecté la présence de bactéries appartenant au genre *Staphylococcus* dans l'échantillon de poudre de graines délipidée, c'est un résultat qui s'explique par l'effet antibactérien des acides oléique et linoléique sur le développement des staphylocoques et l'absence d'effet sur *Escherichia coli* [78].

Dans la présente étude, nous avons réussi à isoler différentes souches bactériennes à partir des échantillons de feuilles, qui semblent appartenir principalement aux genres *Bacillus*, *Enterobacter* et *Escherichia coli*. Ces résultats sont cohérents avec des travaux antérieurs menés sur d'autres plantes, tels que les feuilles de tabac [79] et de riz [80], où des isolats bactériens similaires ont été obtenus.

Le bagage enzymatique des microorganismes est influencé par la disponibilité des nutriments dans leur environnement et est lié à leur capacité à s'adapter à leur milieu naturel. En outre, certaines souches semblent être plus adaptables aux conditions de température, de pH et de salinité, ce qui est associé à leur capacité à produire des enzymes à l'extérieur de leurs cellules. Ces souches présentent des mécanismes métaboliques plus avancés par rapport à celles qui ne possèdent pas ces capacités d'adaptation [81].

Les résultats obtenus dans notre étude sont en accord avec les informations présentées par Deepika Mehta et Tulasi Satyanarayana [82]. En effet, il est mentionné que les α -amylases bactériennes sont très diverses et que leurs températures optimales d'activité peuvent varier considérablement, allant de $\sim 25^{\circ}\text{C}$ à environ 100°C . De plus, les pH optimaux des α -amylases bactériennes peuvent s'étendre de 1 à 11,5, ce qui démontre une large gamme d'adaptabilité des enzymes à différents environnements acides, neutres et alcalins. De plus, les α -amylases sont des enzymes clés impliquées dans la dégradation de l'amidon, qui est un polymère de glucose largement répandu dans les tissus végétaux. En tant que bactéries saprophytes ou commensales présentes dans les échantillons de feuilles et de graines, il est probable que ces souches bactériennes aient développé la capacité de produire des α -amylases pour dégrader l'amidon et obtenir des sources de carbone et d'énergie.

Les informations fournies par Rosaria Ciriminna et al [83] pourraient expliquer pourquoi nous avons observé une absence de croissance de nos souches probablement appartenant au genre *Staphylococcus* et *Bacillus* sur le milieu à base de pectine. Il est possible que ces souches aient une certaine sensibilité à l'action bactéricide de la pectine, ce qui a empêché leur croissance sur ce milieu spécifique. Il est également important de noter que la résistance aux agents bactéricides peut varier d'une souche à une autre, même au sein d'un même genre bactérien.

Dans notre étude nous avons obtenu 13 souches productrices de pectinase (soit 76% de la totalité des souches), ces résultats correspondent à ceux trouvés par Setegn Haile et Abate Ayele [84] qui ont indiqué que plusieurs microorganismes sont impliqués dans la production de pectinases en utilisant la pectine comme source de carbone, comme les *Enterobacter* et les *Bacillus* qui produisent de la pectin méthylesterase.

Dans notre étude nous avons obtenu des souches appartenant probablement aux genres *Enterobacter*, *Bacillus* et *Staphylococcus* productrices de protéase, ces résultats correspondent à ceux trouvés dans la littérature [85,86]. En effet, Les microorganismes, en tant que source de protéases, offrent plusieurs avantages intrinsèques tels que des taux de production rapides, un investissement moindre en termes de terre et de temps, et ne sont pas soumis aux influences climatiques. De plus, en raison de la diversité des environnements dans lesquels se trouvent les microorganismes, il est beaucoup plus facile de sélectionner les bactéries produisant des enzymes aux caractéristiques souhaitables. Par exemple, si l'on s'intéresse aux protéases

thermostables, il est très probable d'obtenir de telles enzymes à partir de bactéries thermophiles [86].

Dans notre étude nous avons obtenu environ 76% de souches productrices de cellulase appartenant aux genres *Bacillus*, *Enterobacter* et *Staphylococcus*. Ces résultats correspondent à ceux trouvés dans la littérature [87,88,89]. En effet, Depuis de nombreuses décennies, les cellulases ont joué un rôle crucial en tant que biocatalyseurs. Elles ont démontré leur potentiel d'application dans un grand nombre d'industries. Les industries du textile, du papier et de la pâte à papier, de la lessive et des détergents, de l'agriculture, de la médecine, ainsi que de l'alimentation et de l'alimentation animale font partie des principales industries qui utilisent des cellulases microbiennes. Selon Coherent Market Insights, l'industrie textile est le marché dominant pour les cellulases en 2017. Selon la plupart des rapports de recherche sur le marché des enzymes publiés en 2018, l'alimentation et les boissons, l'industrie textile, l'alimentation animale et les biocarburants ont été identifiés comme les principaux domaines d'application [90].

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

V. Conclusion et Perspectives

En conclusion, cette étude de la microflore bactérienne présente dans différentes parties de *Moringa oleifera* a permis d'obtenir des résultats significatifs et prometteurs. L'exploration de la diversité microbienne à l'aide de méthodes d'isolement et d'identification microbiologique a révélé la présence d'une variété de souches bactériennes dans les échantillons étudiés. Cette diversité microbienne met en évidence le potentiel biologique riche de *Moringa oleifera* en tant que source de micro-organismes bénéfiques.

Parallèlement, l'évaluation des activités enzymatiques de la microflore bactérienne a permis de mettre en évidence la présence d'enzymes clés telles que les enzymes protéolytiques, amylolytiques, cellulolytiques et pectinolytiques. Ces activités enzymatiques sont essentielles dans de nombreux processus biologiques, tels que la dégradation des substrats complexes, la digestion des nutriments et la production de métabolites utiles. La présence de ces activités enzymatiques dans la microflore bactérienne de *Moringa oleifera* suggère son potentiel pour des applications biotechnologiques et industrielles, notamment dans les domaines de la production d'enzymes, de la dégradation des déchets organiques et de la valorisation de la biomasse végétale.

Les résultats de cette étude fournissent des informations précieuses sur la microflore bactérienne associée à *Moringa oleifera* et ouvrent de nouvelles perspectives de recherche. Il est essentiel de continuer à explorer et à caractériser davantage cette microflore pour mieux comprendre ses interactions avec la plante hôte et son environnement. De plus, une compréhension approfondie de la diversité et des activités enzymatiques de cette microflore pourrait conduire au développement de nouvelles stratégies biotechnologiques et d'applications pratiques dans divers domaines, tels que l'agriculture, la santé et l'industrie.

Cette étude présente certaines limites importantes à prendre en compte. Tout d'abord, les échantillons utilisés ont été prélevés dans une zone géographique faisant partie des zones où cette plante a été introduite à partir de sa région indigène, ce qui limite la généralisation des résultats. Une étude plus approfondie avec une plus grande diversité d'échantillons provenant de différentes localités serait nécessaire pour obtenir une vision plus complète de la diversité microbienne associée à *Moringa oleifera*. De plus, bien que les activités enzymatiques aient été évaluées, une caractérisation plus détaillée des enzymes aurait pu être réalisée. Des études futures devraient également se concentrer sur les interactions entre la microflore bactérienne et la plante hôte, ainsi que sur les mécanismes moléculaires sous-jacents. Malgré ces limites, cette

étude constitue une contribution importante à la connaissance de la microflore de *Moringa oleifera* et met en évidence son potentiel en tant que source de micro-organismes bénéfiques et d'activités enzymatiques. Ces résultats fournissent une base solide pour des études futures visant à exploiter pleinement le potentiel de cette plante dans diverses applications.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Goyal BR, Agrawal BB, Goyal RK, Mehta AA. Phyto-pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. An overview. 2007; 3: 194-200
2. Fahey J. Microbiological Monitoring of Laboratory Mice. In: 2005; 157–164.
3. Bancessi A, Teodósio R, Duarte E, Baldé A, Catarino L, Nazareth T. *Moringa* as a household water purification method – community perception and pilot study in Guinea-Bissau. BMC Public Health 2022; 22: 1–15.
4. Gupta R, Anand G, Gaur R, Yadav D. Plant-microbiome interactions for sustainable agriculture: a review. *Physiol Mol Biol Plants* 2021; 27: 165–179.
5. Afridi MS, Javed MA, Ali S *et al.* New opportunities in plant microbiome engineering for increasing agricultural sustainability under stressful conditions. *Front Plant Sci.* 2022; 13.
6. Houndji B, Ouetchehou R, Londji S, Sabiba Eamouzou S, Yehouenou B, Bonaventure C. Caractérisations microbiologiques et physico-chimiques de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* (Lam.), un légume feuille traditionnel au Bénin. 2013; 7
7. Ibiene AA, Ekwuribe NC, Osadebe AU, Okerentugba PO. Nutritional, Functional and Microbiological Analysis of Powdered Seed of *Moringa oleifera*. *International Journal of Biochemistry and Biophysics* 2021; 9: 1–7.
8. Khawaja T, Tahira M, Ikram U. *Moringa oleifera*: a natural gift-A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Reserarch* 2010; 2.
9. Gandji K, Chadare FJ, Idohou R, Salako VK, Assogbadjo AE, Kakaï RLG. Status and utilisation of *Moringa oleifera* Lam: A review. *African Crop Science Journal* 2018; 26: 137.
10. Chaudhary K, Chaurasia S, Abdul APJ. Neutraceutical Properties of *Moringa oleifera*: A Review Article in *European Journal Of Pharmaceutical And Medical Research* · Effect of natural products on Cancer cells View project Neutraceutical Properties Of *Moringa oleifera*: A Review. 2017; 4: 646-655
11. Ojewumi ME, Alagbe EE, Abinusawa AP, John AN, Taiwo SO, Bolade OP. *Moringa oleifera* as natural coagulant in water treatment and production of antifungal soap. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 2021; 655.
12. Pareek A, Pant M, Gupta MM, Kashania P, Ratan Y, Jain V, Pareek AS, Chuturgoon A. *Moringa oleifera*: An Updated Comprehensive Review of Its Pharmacological Activities, Ethnomedicinal, Phytopharmaceutical Formulation, Clinical, Phytochemical, and Toxicological Aspects. *Internation Journal of Molecular Sciences.* 2023 ; 24 : 2098.

13. Derdour R. Essai de production de *Moringa oleifera* pour une éventuelle contribution à l'étude des potentialités de la graine dans l'épuration des eaux usées de la région de Constantine. 2019.
14. Boulal A, Atabani AE, Mohammed MN, Khelafi M, Uguz G, Shobana S, Bokhari A, Kumar G. Integrated valorization of *Moringa oleifera* and waste Phoenix dactylifera L. dates as potential feedstocks for biofuels production from Algerian Sahara: An experimental perspective. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019; 20.
15. Boukandoul S, Casal S, Cruz R, Pinho C, Zaidi F. Algerian *Moringa oleifera* whole seeds and kernels oils: Characterization, oxidative stability, and antioxidant capacity. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2017; 119: 1600410.
16. Mallenakuppe R, Homabalegowda H, Gouri MD, Basavaraju PS, Chandrashekharaiyah UB. History, Taxonomy and Propagation of *Moringa oleifera*-A Review. *SSR Institute of International Journal of Life Sciences*. 2019; 5: 2322–2327.
17. Oyeyinka AT, Oyeyinka SA. *Moringa oleifera* as a food fortificant: Recent trends and prospects. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 2018; 17: 127–136.
18. Parrotta J. A. *Moringa oleifera* LAM. *Enzyklopädie der Holzgewächse* 2009; 3.
19. Moringa — the next superfood? | University of California. <https://www.universityofcalifornia.edu/news/moringa-next-superfood> (27 March 2023, date last accessed).
20. Foidl N, Makkar H.P.S, Becker K. The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: *Proceedings of the International Workshop "What development potential for Moringa products"*. Dares-Salaam, 2011: 47–67.
21. Ram Chand Dhakar, Sheo Datta Maurya, Brijendra K. Pooniya, Narendra Bairwa, Manisha Gupta, Sanwarmal. *Moringa*: The herbal gold to combat malnutrition. *Chronicles of Young Scientists*. 2011; 2: 119–120.
22. Dhakar R, Pooniya B, Gupta M, Maurya S, Bairwa N, Sanwarmal. *Moringa* : The herbal gold to combat malnutrition. *Chronicles of Young Scientists*. 2011; 2: 119.
23. Moyo B, Masika PJ, Hugo A, Muchenje V. Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Afr J Biotechnol*. 2011; 10: 12925–12933.
24. Trigo C, Castelló ML, Ortolá MD, García-Mares FJ, Desamparados Soriano M. *Moringa oleifera*: An Unknown Crop in Developed Countries with Great Potential for Industry and Adapted to Climate Change. *Foods*. 2020; 10: 31.
25. Prince M. The *Moringa* tree. ECHO Technical Note. 2007; 1–19.

26. Mahmood K, Mugal T, Haq I. *Moringa oleifera*: A natural gift-a review. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2010; 2: 775–781.
27. Fuglie LJ. The Miracle Tree: *Moringa oleifera*: Natural Nutrition for the Tropics. Church World Service. 1999; 68.
28. Falowo AB, Mukumbo FE, Idamokoro EM, Lorenzo JM, Afolayan AJ, Muchenje V. Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. Food Research International. 2018; 106: 317–334.
29. Liang L, Wang C, Li S, Chu X, Sun K. Nutritional compositions of Indian *Moringa oleifera* seed and antioxidant activity of its polypeptides. Food Science & Nutrition. 2019; 7: 1754–1760.
30. Al Juhaimi F, Ghafoor K, Babiker EE, Matthäus B, Özcan MM. The biochemical composition of the leaves and seeds meals of *Moringa* species as non-conventional sources of nutrients. Journal of Food Biochemistry. 2017; 41.
31. N. Manikanda Boopathi, M. Raveendran. The *Moringa* Genome. Cham: Springer International Publishing. 2021.
32. Iqra Aslam, Ali Asghar. Nutritional and Medical Benefits of *Moringa oleifera*, the Miracle Tree. In: Eric L, editor. Sustainable Agriculture Reviews. Aix-en-Provence, France: Springer. 2005: 437–451.
33. Meireles D, Gomes J, Lopes L, Hinzmann M, Machado J. A review of properties, nutritional and pharmaceutical applications of *Moringa oleifera*: integrative approach on conventional and traditional Asian medicine. Advances in Traditional Medicine 2020; 20: 495.
34. Delgado-Baquerizo M, Oliverio AM, Brewer TE *et al.* A global atlas of the dominant bacteria found in soil. Science (1979). 2018; 359: 320–325.
35. Karimi B, Terrat S, Dequiedt S *et al.* Biogeography of soil bacteria and archaea across France. Science Advances. 2018; 4: eaat1808.
36. Větrovský T, Morais D, Kohout P *et al.* GlobalFungi, a global database of fungal occurrences from high-throughput-sequencing metabarcoding studies. Sci Data 2020; 7: 228.
37. Geisen S, Lara E, Mitchell EAD, Völcker E, Krashevskaya V. Soil protist life matters! Soil Org 2020; 92: 189–196–189–196.
38. Anne-Sophie Masson. Le microbiote des plantes, de son rôle dans la survie végétale à son ingénierie pour une agriculture durable. 2022 <https://planet->

- vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/le-microbiote-des-plantes-de-son-role-dans-la-survie-vegetale-a-son (2 April 2023, date last accessed).
39. Simonin M, Dasilva C, Terzi V, Ngonkeu E, Diouf D, Kane A, Béna G. Influence of plant genotype and soil on the wheat rhizosphere microbiome: evidences for a core microbiome across eight African and European soils. *FEMS Microbiology Ecology*. 2020; 96.
 40. Masson A-S, Vermeire M-L, Leng V, Simonin M, Tivet F, Thi HN, Brunel C, Suong M, Kuok F, Moulin L, Bellafiore S. Enrichment in biodiversity and maturation of the soil food web under conservation agriculture is associated with suppression of rice-parasitic nematodes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2022; 331.
 41. Karimi B, Terrat S, Dequiedt S, Saby N, Horrigue W, Lelièvre M, Nowak V, Jolivet C, Arrouays D, L Ranjard. Biogeography of soil bacteria and archaea across France. *Sciences Advances*. 2018; 4.
 42. Hacquard S, Garrido-Oter R, González A, Spaepen S, Ackermann G, Lebeis S, McHardy A, Dangl J, Knight R, Ley R, Schulze-Lefert P. Microbiota and Host Nutrition across Plant and Animal Kingdoms. *Cell Host Microbe*. 2015; 17: 603–616.
 43. Block A, Guo M, Li G, Elowsky C, Clemente TE, Alfano JR. The *Pseudomonas syringae* type III effector HopG1 targets mitochondria, alters plant development and suppresses plant innate immunity. *Cell Microbiol*. 2010; 12: 318–330.
 44. Saikkonen K, Young CA, Helander M, Schardl CL. Endophytic *Epichloë* species and their grass hosts: from evolution to applications. *Plant Molecular Biology*. 2016; 90: 665–675.
 45. Pitzschke A. Developmental Peculiarities and Seed-Borne Endophytes in Quinoa: Omnipresent, Robust Bacilli Contribute to Plant Fitness. *Front Microbiol*. 2016; 7.
 46. McKendrick SL, Leake JR, Taylor DL, Read DJ. Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic orchid *Neottia nidus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. *New Phytologist*. 2002; 154: 233–247.
 47. Luis Barredo J. *Microbial Enzymes and Biotransformations*. 2005 ; 17.
 48. Gassara F. Production économique d'enzymes ligninolytiques par fermentation à l'état solide des déchets agroindustriels et leurs applications. 2012.
 49. Nigam P. *Microbial Enzymes with Special Characteristics for Biotechnological Applications*. *Biomolecules*. 2013; 3: 597–611.
 50. Kumar VS. Optimization and Cultural Characterization of *Bacillus* RV. B2.90 Producing Alkalophilic Thermophilic Protease. *Research Journal of Biotechnology* 2011; 6.

51. Devi MK. Purification, characterization of alkaline protease enzyme from native isolate *Aspergillus niger* and its compatibility with commercial detergents. *Indian Journal of Science and Technology* 2008; 1: 1–6.
52. Çalık P, Takaç S, Çalık G, Özdamar TH. Serine alkaline protease overproduction capacity of *Bacillus licheniformis*. *Enzyme Microbial Technology* 2000 ; 26 : 45–60.
53. Nnolim NE, Mpaka L, Okoh AI, Nwodo UU. Biochemical and Molecular Characterization of a Thermostable Alkaline Metallo-Keratinase from *Bacillus* sp. Nnolim-K1. *Microorganisms* 2020; 8: 1304.
54. Gopinath SCB, Anbu P, Lakshmi Priya, Tang TH, Chen Y, Hashim U, Ruslinda R, Arshad M. Biotechnological Aspects and Perspective of Microbial Keratinase Production. *BioMed Research International*. 2015; 2015.
55. Gupta R, Ramnani P. Microbial keratinases and their prospective applications: an overview. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2006; 70: 21–33.
56. Sundarram A, Pandurangappa T, Murthy K. α -Amylase Production and Applications: A Review. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*. 2014; 2: 166–175.
57. de Souza PM, de Oliveira Magalhães P. Application of microbial α -amylase in industry - A review. *Braz J Microbiol*. 2010; 41: 850–61.
58. Boudehane A, Mezioud R. Caractérisation physico-chimique d'enzymes bactériennes d'intérêt industriels et thérapeutiques. 2017.
59. Subramaniyan S, Prema P. Studies on Production of Bacterial Xylanases. 2000;
60. Beg QK, Kapoor M, Mahajan L, Hoondal GS. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2001; 56: 326–338.
61. Menendez E, Garcia-Fraile P, Rivas R. Biotechnological applications of bacterial cellulases. *AIMS Bioeng* 2015; 2: 163–182.
62. Sadhu S. Cellulase Production by Bacteria: A Review. *British Microbiology Research Journal*. 2013; 3: 235–258.
63. Imran M, Anwar Z, Irshad M, Asad MJ, Ashfaq H. Cellulase Production from Species of Fungi and Bacteria from Agricultural Wastes and Its Utilization in Industry: A Review. *Advances in Enzyme Research*. 2016; 04: 44–55.
64. Gupta R, Gupta N, Rathi P. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004; 64: 763–781.
65. View of Bacterial Pectinases and their Potent Biotechnological Application in Fruit Processing/Juice Production Industry: A Review.

- <https://updatepublishing.com/journal/index.php/jp/article/view/2282/2260> (5 June 2023, date last accessed).
66. Mokhtar Youcef Benkada. Étude de l'inoculum séminicole de *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. Et caractérisation de souches par l'utilisation de profils protéiques et isoenzymatiques. 1994.
 67. Alvarez E. New Assays for Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* in Soybean Seed. *Plant Disease Journal*. 1995; 79: 12.
 68. Gordon RE, Haynesw C, Pang c.H.N. The Genus *Bacillus*. Washington DC, 1973.
 69. De Vos P, Garrity G. M, Jones D *et al*. The Firmicute. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed. New York: Springer, 2009: 63–67.
 70. Bragger JM, Daniel RM, Coolbear T, Morgan HW. Very stable enzymes from extremely thermophilic archaeobacteria and eubacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 1989; 31: 556–561.
 71. Snaiki J, Nadif A, Ouhssine M. Détection Biochimique D'*Erwinia carotovora* Subsp. *Carotovora* De Tubercules De Betterave Sucrière Atteints De Pourriture Molle. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*. 2006; 145: 53–60.
 72. Kong HG, Song GC, Ryu CM. Inheritance of seed and rhizosphere microbial communities through plant–soil feedback and soil memory. *Environmental Microbiology Reports* 11 2019 479–486.
 73. Carvalhais LC, Dennis PG, Badri D V., Kidd BN, Vivanco JM, Schenk PM. Linking Jasmonic Acid Signaling, Root Exudates, and Rhizosphere Microbiomes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2015; 28: 1049–1058.
 74. Ruiza D, Agaras B, de Werrab P, Wall LG, Valverde C. Characterization and screening of plant probiotic traits of bacteria isolated from rice seeds cultivated in Argentina. *Journal of Microbiology* 2011; 49: 902–912.
 75. Kong HG, Song GC, Ryu CM. Inheritance of seed and rhizosphere microbial communities through plant–soil feedback and soil memory. *Environmental Microbiology Reports* 11 2019 479–486.
 76. Nelson EB, Simoneau P, Barret M, Mitter B, Compant S. Editorial special issue: the soil, the seed, the microbes and the plant. *Plant and Soil* 422 2018.
 77. Chimwamurombe PM, Grönemeyer JL, Reinhold-Hurek B. Isolation and characterization of culturable seed-associated bacterial endophytes from gnotobiotically grown Marama bean seedlings. *FEMS Microbiol Ecol* 2016; 92: 1–11.

78. Davidson C, Rogers C, Taylor A, Brown D, Naylor G. Qualitative And Quantitative Methods Of Studying The Effect Of Lipids On Bacteria Grown On The Surface Of Solid Culture Media. *Journal of Medical Microbiology*. 1980; 13.
79. Zhang Q, Geng Z, Li D, Ding Z. Characterization and discrimination of microbial community and co-occurrence patterns in fresh and strong flavor style flue-cured tobacco leaves. *Microbiology Open*. 2020; 9.
80. Roman-Reyna V, Pinili D, Borja FN, Quibod L, Groen C, Nickolai A, Ramil M, Ricardo O. Characterization of the Leaf Microbiome from Whole-Genome Sequencing Data of the 3000 Rice Genomes Project. *Rice*. 2020; 13: 72.
81. Cohen N. In vitro enzyme evolution: the screening challenge of isolating the one in a million. *Trends in Biotechnology*. 2001; 19: 507–510.
82. Mehta D, Satyanarayana T. Bacterial and archaeal α -amylases: Diversity and amelioration of the desirable characteristics for industrial applications. *Frontiers in Microbiology*. 2016 ; 7.
83. Ciriminna R, Fidalgo A, Meneguzzo F, Presentato A, Scurria A, Nuzzo D, Alduina R, Ilharco LM, Pagliaro M. Pectin: A Long-Neglected Broad-Spectrum Antibacterial. *Chem Med Chem*. 2020; 15: 2228–2235.
84. Haile S, Ayele A. Pectinase from Microorganisms and Its Industrial Applications. *Scientific World Journal*. 2022.
85. Rao MB, Tanksale AM, Ghatge MS, Deshpande V. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. 1998.
86. Solanki P, Putatunda C, Kumar A, Bhatia R, Walia A. Microbial proteases: ubiquitous enzymes with innumerable uses. *3 Biotech*. 2021; 11.
87. Gilkes NR, Kilburn DG, Miller RC, Warren RAJ. Bacterial cellulases. *Bioresource Technology*. 1991; 36: 21–35.
88. Lokapirnasari WP, Nazar DS, Nurhajati T, Supranianondo K, Yulianto AB. Production and assay of cellulolytic enzyme activity of *Enterobacter cloacae* WPL 214 isolated from bovine rumen fluid waste of Surabaya abbatoir, Indonesia. *Vet World*. 2015; 8: 367–71.
89. Wadström T, Hisatsune K. Bacteriolytic enzymes from *Staphylococcus aureus*. Purification of an endo-beta-N-acetylglucosaminidase. *Biochemistry Journal*. 1970; 120: 725–34.
90. Jayasekara S, Ratnayake R. Microbial Cellulases: An Overview and Applications. In: *Cellulose*. Intech Open, 2019.

ANNEXES

Annexe I. Résultats des galeries biochimiques minimales

Isolat	Origine	TSI		Mannitol – Mobilité		Citrate de Simmons	Souche suspectée
		Gaz	Glu/Lac	Man	Mob		
1	Poudre de feuilles	+	+	+/-	+	+	<i>Enterobacter</i>
2	Feuilles	+	+	+/-	+	-	<i>E. coli</i>
3	Feuilles	+	+	+	+/-	+	<i>Enterobacter</i>
4	Poudre de graines	+	+	+/-	+	+	<i>Enterobacter</i>
5	Poudre de graines délipidée	+	+	+/-	+	+	<i>Enterobacter</i>
6	Poudre de graines délipidée	-	+	+	+	-	<i>Streptococcus</i>
7	Poudre de graines délipidée	-	+	-	+	-	<i>Staphylococcus</i>
8	Poudre de graines délipidée	-	+	-	+	-	<i>Staphylococcus</i>
9	Poudre de graines délipidée	-	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
10	Graines	+	+	+/-	+/-	+	<i>Enterobacter</i>
11	Graines	+	+	+/-	+	-	<i>E. coli</i>
12	Graines	+	+	+	+	-	<i>E. coli</i>

13	Graines	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter</i>
14	Graines	-	+	+	+	+	<i>Bacillus</i>
15	Feuilles	+	+	+	-	+/-	<i>Bacillus</i>
16	Poudre de graines	+	+	+/-	+	+	<i>Bacillus</i>
17	Poudre de feuilles	+	+	+	+	+	<i>Bacillus</i>

Annexe II. Milieux pour l'isolement et la purification

• **Gélose nutritive (GN)**

Extrait de viande	10g
Extrait de levure	2g
Peptone	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar.....	15g
Eau distillée	1000ml

pH= 7,4

• **Gélose Eosine Methylene Blue (EMB)**

Peptone	10g
Lactose	5g
Saccharose.....	5g
Hydrogénophosphate de potassium.....	2g
Eosinase y	400mg
Bleu de méthylène.....	65mg
Agar.....	13.5g
Eau distillée	1000ml

pH= 7,2

- **Gélose Chapman**

Peptone	10g
Extrait de bœuf.....	1g
Chlorure de sodium.....	75g
D-mannitol.....	10g
Rouge de phénol.....	25mg
Agar.....	15g
Eau distillée	1000ml

pH= 7,4

Annexe III. Milieux pour les tests enzymatiques

- **Milieu gélosé à 5% de lait écrémé**

Lait écrémé	50ml
Agar.....	10g
Eau distillée.....	1000ml

- **Milieu gélose à amidon 1%**

Gélose nutritive.....	1000ml
Amidon.....	10g

- **Milieu à 0,5% de D-Cellobiose**

D-Cellobiose	5g
Gélose nutritive.....	1000ml

pH=5

- **Milieu Pectine-Agar**

Pectine.....	5g
Extrait de levure.....	5g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

Annexe IV. Les indicateurs colorés

- **Rouge Congo à 0.1%**

Rouge Congo0.1g

Eau distillé100ml

- Dissoudre 0.1g de Rouge Congo dans un petite volume d'eau distillée puis compléter le volume jusqu'à 100ml

- **Eau iodée (Lugol)**

Iode1g

Iodure de potassium 2g

Eau distillé100ml

- Dissoudre 2g d'iodure de potassium dans un peu d'eau distillée puis ajouter 1g d'iode, ensuite compléter à 100ml d'eau distillée (ajouter éventuellement un peu d'iode pour permettre la dissolution totale de l'iode).

- **Acétate de cuivre à 0,7%**

Acétate de cuivre.....7,5g

Eau distillée.....1000ml

- Dissoudre 7,5g de l'acétate de cuivre dans un petite volume d'eau distillée puis compléter le volume jusqu'à 100ml

Résumé :

Ce mémoire présente les résultats d'une étude visant à caractériser les micro-organismes présents dans différentes parties de la plante *Moringa oleifera*, ainsi que leurs activités enzymatiques. L'échantillonnage a été réalisé pendant la période de février à mars 2023, en collectant des échantillons de feuilles, de graines. Les échantillons ont été soumis à des techniques d'isolement bactérien, suivies d'analyses microbiologiques, de colorations de Gram et de tests biochimiques. Les résultats ont révélé une diversité bactérienne, avec des souches appartenant aux genres *Enterobacter*, *Staphylococcus* et *Bacillus*. De plus, des activités enzymatiques ont été mises en évidence, notamment l'activité protéolytique, amylatique, cellulotique et pectinolytique des isolats bactériens. Ces découvertes offrent de nouvelles perspectives pour l'utilisation potentielle de ces micro-organismes dans divers domaines tels que la biotechnologie, la santé et l'environnement.

Mots-clés : *Moringa oleifera*, caractérisation microbiologique, activités enzymatiques, biotechnologie, santé, environnement.

Abstact :

This paper presents the results of a study to characterize the microorganisms present in different parts of the *Moringa oleifera* plant, as well as their enzymatic activities. The sampling was carried out during the period from February to March 2023, collecting samples of leaves and seeds. The samples were subjected to bacterial isolation techniques, followed by microbiological analyses, Gram stains and biochemical tests. The results revealed bacterial diversity, with strains belonging to the genus *Enterobacter*, *Staphylococcus* and *Bacillus*. In addition, enzymatic activities were identified, including proteolytic, amylatic, cellulotic and pectinolytic activity of bacterial isolates. These discoveries offer new perspectives for the potential use of these microorganisms in various fields such as biotechnology, health and the environment.

Keywords : *Moringa oleifera*, microbial characterization, enzymatic activities, biotechnology, health, environment

الملخص:

تقدم هذه المذكرة نتائج دراسة لتوصيف الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في أجزاء مختلفة من نبات *Moringa oleifera*، بالإضافة إلى أنشطتها الإنزيمية. تم أخذ العينات خلال الفترة من فبراير إلى مارس 2023، وجمع عينات من الأوراق والبذور. خضعت العينات لتقنيات عزل البكتيريا، تليها التحليلات الميكروبيولوجية وتلوين الغرام والاختبارات الكيميائية الحيوية. كشفت النتائج عن التنوع البكتيري، مع سلالات تنتمي إلى أجناس *Enterobacter* و *Staphylococcus* و *Bacillus* بالإضافة إلى ذلك، تم تحديد الأنشطة الإنزيمية، بما في ذلك نشاط الانحلال البروتيني والأميلي والسيلولوتي وتحلل البكتيريا للعزلات البكتيرية. تقدم هذه الاكتشافات وجهات نظر جديدة للاستخدام المحتمل لهذه الكائنات الحية الدقيقة في مجالات مختلفة مثل التكنولوجيا الحيوية والصحة والبيئة.

الكلمات الرئيسية: *Moringa oleifera*، التوصيف الميكروبيولوجي، الأنشطة الإنزيمية، التكنولوجيا الحيوية، الصحة، والبيئة

