

Université Abess Laghrour
Khenchela

Faculté des sciences de la
nature et de la vie



جامعة عباس لغرور خنشلة

كلية علوم الطبيعة والحياة

Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Science de la nature et de la vie**

Filière : **Biologie**

Spécialité : **Microbiologie Appliquée**

THÈME

**Les actinobactéries : biocontrôles et propriétés promotrices de la
croissance des plantes**

Présenté par

BOUZEKRI Imen

BOULABIARE Hanna

Soutenue publiquement le/...../.....

DEVANT LE JURY

Président : M^{me} O.Naili

M.C.B Université Abess laghrour Khenchela

Directeur : M^{me} N. Leulmi

M.C.B Université Abess Laghrour Khenchela

Examineur: M^{me} R. Merabti

M.C.A Université Abess Laghrour Khenchela

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

À la fin de ce modeste travail, nous remercions d'abord Dieu le tout puissant de nous avoir accordé le courage, la volonté et la patience pour l'accomplir.

*Nous adressons nos plus vifs remerciements à notre encadreur **Mme Leulmi Nassima** maitre de conférences à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Khenchelapour sa rigueur scientifique et son amitié sincère dont il a fait preuve le long de ce travail. Merci également de nous avoir encouragées dans les moments les plus difficiles, sur le plan scientifique autant qu'humain.*

*Nos remerciements s'adressent également à **Mme Naili Oumaima**. Malgré vos multiples engagements, vous avez accepté d'apporter vos critiques constructives à notre mémoire. Votre présence en tant que président du jury est un grand honneur pour nous.*

*Nos chaleureux remerciements s'adressent à **Mme Merabty Ryma** d'avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement et aimablement d'examiner ce travail. Nous sommes particulièrement reconnaissantes et honorée par sa participation au jury de ce travail.*

Nos remerciements aussi vont à tous les enseignants et enseignantes qui nous ont fait former durant ces 5 années, en nous préparant pour cette dernière année de master. Merci pour vos encouragements et votre gentillesse.

Enfin on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou loin à l'aboutissement de ce modeste travail.

Merci encore une fois.

Dédicace

*Je dédie cet événement marquant de ma vie à mes parents formidables
«HACENE » et «FAIZA »*

*Merci pour vos sacrifices sans relâche pour que vos enfants grandissent et prospèrent.
Merci de m'avoir permis de réaliser ces longues études et celles à venir!
Merci pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez transmises.
Merci pour tout l'amour que vous me portez et toute la confiance que vous m'accordez.*

*Mes frères «Radwen, Rafik, Omar ; Amine et Yazid », le simple fait de leur présence me
donne la force d'avancer.*

*Mes sœurs, «Nawel »et son mari « Mohamed, Hayem »«et son mari « Yahya », ma belle
petite sœur « Chaima ».*

*Vous avez toujours été là pour me soutenir et m'encourager pendant mes études.
Merci pour votre soutien sans faille que vous m'avez toujours apporté aussi bien dans les
moments difficiles que radieux,
Merci pour votre amour, votre assistance, votre compréhension.*

Ma nièce et mon neveu «Hanine et moadh».

*A toutes mes copines, « Hanna, Raouia ,Houda et Samira», pour les bons souvenirs et le
beau temps que nous avons passé ensemble, en leur souhaitant le succès et le bonheur dans
leurs vie.*

A tous mes collègues de la promotion de 2015 surtout « Sara et Nesserine ».

Et tous les membres du Club Tanween Khenchela.

*A mon binôme, «Boulabiere Hanna», merci pour ta volonté et ta
patience qui nous ont permis de réaliser ce travail.*

Imen

Dédicace

Avant toute chose, je tiens à remercier « Allah » le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience pour terminer ce modeste travail que je dédie tout d'abord,

À mes très chers parents, les prunelles de mes yeux,

À ma très chère mère, qui a œuvrée pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissances. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit.

À mon cher père qui a su se montrer patient, compréhensif, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort, je ne saurais jamais vous remercier assez pour vos efforts et sacrifices. Que Dieu vous procure santé, prospérité et bonheur et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour....

À mes chères sœurs et frères pour leur appui et leur encouragement.

À mes adorables petits neveux et nièces

À toute ma famille maternelle et paternelle.

À ma confidente « Yasmine » qui m'a toujours encouragée, et à qui je souhaite plus de succès .

À ma moitié « Nousy » qui était toujours à mes cotés,

À ma très chère binôme « Bouzekri Imen », on a vécu cette expérience ensemble, merci pour ta volonté et ta patience qui nous ont permis de réaliser ce travail.

À tous mes collègues de la promotion 2020.

HANNA

Tables des matières

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction	1
Révue bibliographique	4
1 la rhizosphère	4
1.1 Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes	6
1.2 Mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes	7
1.2.1 La solubilisation de phosphate	7
1.2.2 La production des phytohormones	8
1.2.2.1 L'auxine : le régulateur clé du développement de la racine latérale	9
1.2.2.2 L'Acide Indole Acétique (AIA)	10
1.2.3 Production de sidérophores	11
2 La microflore de la rhizosphère	12
2.1 Les algues	13
2.2 Les bactéries	13
2.3 Champignons	13
2.4 Protozoaires	14
3 Actinobactéries	14
3.1 Historique	14
3.2 Caractéristiques générales des actinobactéries	15
3.3 Habitat des actinobactéries	17
3.4 Caractères cultureux et morphologiques	19
3.5 Cycle de vie et de développement	21
3.6 Caractères biochimiques et physiologiques	22
3.7 Taxonomie des actinobactéries	23
3.7.1 Rôle des actinobactéries dans la durabilité agricole et environnementale	25
3.7.2 Actinobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPA)	27

3.8	Métabolites bioactifs	28
3.8.1	Production d'antimicrobiens	28
3.8.2	Antifongiques	32
3.8.3	Enzymes	33
	Revue expérimentale	39
	I.Matériels et méthodes	39
1	Echantillonnage	39
2	Isolement des actinobactéries	39
2.1	Préparation des dilutions et isolement	39
3	Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries	40
3.1	Activité antibactérienne	40
3.1.1	Standardisation des inocula	40
3.1.2	Technique de striés croisées	40
3.1.3	Technique des cylindres agar	41
3.2	Activité antifongique	42
4	Solubilisation des phosphates	43
4.1	Solubilisation des phosphates sur milieu solide : test qualitatif	43
4.2	Solubilisation des phosphates en milieu liquide : test quantitatif	43
5	Production et dosage de l'auxine	43
5.1	Préparation de l'inoculum	43
5.2	Production d'Acide Indole Acétique (AIA)	44
6	La production de sidérophore	44
6.1	Production de sidérophores sur milieu solide	44
6.2	Production des sidérophores sur milieu liquide	45
	II.Résultats et discussions	47
1.	Isolement et purification des actinobactéries à partir d'un sol rhizosphérique	47
2	Activité antimicrobienne	49
3	Solubilisation de phosphate	50
4	la production des auxines	51
5	La production des sidérophores	52
	Conclusion et perspectives	55
	Références bibliographiques	58
	Annexes	

Liste des abréviations

ACC : 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase.

ADN : acide désoxyribonucléique.

AIA : acide indole-acétique.

ARN : acide ribonucléique.

ATCC : American Type Culture Collection.

CAS : Chrome Azurol S.

C° : Degré Celsius .

DO : densité optique.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

G+C : Contenu en guanine et cytosine .

g/L : Gramme par liter.

H : Heur .

HCN : l'acide cyanhydrique.

HClO₄ : Acide perchlorique.

IAM : indole-3-acétamide.

Inc : Incorporation.

IS : indice de solubilisation.

ISR/S : Induced systemic resistance/suppression.

ISP-2 : International *Streptomyces* Project-2 Medium.

Kda : kilodalton.

L : litre.

2-MIB : 2-méthylisoborneol.

min : minute.

mg/ml: Milligramme/ millilitre.

nm: Nano metre.

P : phosphate.

PDA :Potato Dextrose Agar.

Ph : Potentiel Hydrogène .

PGPB : plant Growth Promoting Bacteria.

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

PVK: *pikovskaia*.

Rpm : rotation par minute.

RPCP : Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

sp: Espèces.

tr/min : Tours par minute.

TLC :thin-layer chromatography.

Trp :L-tryptophane.

Tx : Texas.

UFC: unité formant colonie.

µg : Micro gramme.

µl: Micro litre.

V /V :Volume par volume.

YMEA : Yeast Malt Extract Agar.

YT : tryptone yeast.

Liste des figures

Figure 1 : Les interaction de la rhézosphère impliquant la plante et les microorganisme.	5
Figure 2 : Role des rhizobactéries favorisant la croissance des plante.	7
Figure 3 :Mécanismes d'action de solubilisation de phosphate.	8
Figure 4 :Role de l'acide acétique dans l'amélioration de la croissance végétale.	10
Figure 5 : Biosynthèse de l'auxine.	11
Figure 6 : La microflore de la rhizosphère.	12
Figure 7 : Type de structure chez les Streptomycètes.	20
Figure 8 :Streptomycète (a) Colonies de Streptomycète et d'autre bactérie du sol dérivées en gros plan Streptomycète coelicolor.	21
Figure 9 : Schéma representatif du cycle de vie des actinobactéries sporulant.	22
Figure 10 : Un arbre phylogénétique basé sur le génome basé sur 97 séquences génomiques di phylum Actinobactéria	24
Figure 11 : Un diagramme schématique montrant le role des actinobactéries et la durabilité de l'envirennement.	27
Figure 12 :Propriétés favoraisant la croissance des actinobactéries.	28
Figure 13 : Liste des antibiotiques produit a partir des actinobactéries.	29
Figure 14 :Antibiotique produit par Streptomyces.	30
Figure 15 : Mise en evidence de l'activité antimicrobienne sur le milieu ISP2 par la théchnique de stries croisées.	41
Figure 16 : Mise en évidence de l'activité d'antibiotique de l'isolat d'actinobactéries sur le milieu Muller-Hinton par la méthode de cylindre d'agar.	42
Figure 17 : Test biologique en milieu gélosé pour la mise en évidence de la production de sidérophore .	46
Figure 18 : Aspect sur milieu YMEA+CaCo3 des isolats d'actinobactéries .	47

Liste des tableaux

Tableau 1 :Exemple de certains actinobactéries rhizosphérique et leur fonction pour les plante.	18
Tableau 2 : Classification des actinobactéries.	25
Tableau 3 :Exemples des antibiotiques produit par les actinobactéries.	30
Tableau 4 :Agent antifongique actinobacterienne et leur mode d'action.	33
Tableau 5 : Enzymes et leur aplication industrielles.	34

Résumés

Résumé

Un grand nombre de microorganismes vivent dans le sol où l'activité microbienne est intense en particulier dans la zone liant le sol avec les racines, la rhizosphère. Cette dernière peut contenir plus d'un million de microorganismes par gramme du sol. Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires. Ces bactéries sont alors reprises sous le terme RPCP/PGPR.

La majorité des actinobactéries sont trouvés dans divers types de sol, certains sont distribués dans les parties rhizosphériques. Cet environnement a été jugé une source riche pour l'isolement des agents producteurs de nouvelles molécules bioactives : antibiotiques, agents de biocontrôle et des promoteurs de croissance des plantes.

Dans la rhizosphère, les actinobactéries et particulièrement les *Streptomyces* jouent un rôle très important dans la protection des racines des plantes par inhibition du développement des champignons potentiellement pathogènes par leur sécrétion d'antifongiques. D'autres genres appartenant aux actinobactéries sont également des producteurs de molécules possédant des activités antifongiques. Les actinobactéries sont prouvés également leur capacité à produire des sidérophores et à solubiliser le phosphate. Par conséquent, ce groupe de bactérie peuvent être appliqués vivement en agriculture.

D'après la littérature, les actinobactéries suscitent beaucoup d'intérêts par leur importance dans la production d'antibiotiques et autres métabolites secondaires bioactives. Cette dernière révèlent des activités biologiques variées tel qu'antibactériennes, antifongiques, antiviral, anticancéreux, anti protozoaires, anti cholestérol, ce qui fait d'eux des producteurs intéressants en industrie pharmaceutique ou agrochimiques, en particulier *Streptomyces* qui produisent des milliers d'antibiotiques.

Mots clés : Rhizosphère, PGPR, actinobactéries, molécules bioactives, antibiotiques, antifongiques, phosphate, sédrophores.

Abstract

A large number of microorganisms live in the soil where the microbial activity is intense, in particular in the zone linking the soil with the roots, the rhizosphere. The latter can contain more than a million microorganisms per gram of soil. Some of these microorganisms, mainly bacteria, are able to effectively colonize root systems. These bacteria are then included under the term RPCP / PGPR. The majority of actinobacteria are found in various types of soil, some are distributed in the rhizosphere parts. This environment has been judged to be a rich source for the isolation of agents producing new bioactive molecules: antibiotics, biocontrol agents and plant growth promoters.

In the rhizosphere, actinobacteria and particularly *Streptomyces* play a very important role in the protection of plant roots by inhibiting the development of potentially pathogenic fungi through their secretion of antifungals, other genera belonging to actinobacteria are also producers of molecules possessing antifungal activities. Actinobacteria have also proven their ability to produce siderophores and to solubilize phosphate. Based on their performance, these microorganisms can be applied vigorously in agriculture.

According to the literature, actinobacteria arouse a lot of interest, because it is the most important source of production of antibiotics and other bioactive secondary metabolites reveal various biological activities such as antibacterial, antifungal, antiviral, anticancer, anti protozoa , anti cholesterol, which makes them interesting producers in the pharmaceutical or agrochemical industry, in particular *Streptomyces* which produce thousands of antibiotics.

Key words: Rhizosphere, PGPR, actinobacteria, bioactive molecules, antibiotics, antifungals, phosphate, siderophores.

ملخص

يعيش عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة في التربة حيث يكون النشاط الميكروبي مكثفًا ، ولا سيما في المنطقة التي تربط التربة بالجذور ، وهي منطقة الجذور. يمكن أن تحتوي الأخيرة على أكثر من مليون كائن حي دقيق لكل جرام من التربة. بعض هذه الكائنات الدقيقة ، البكتيريا بشكل أساسي ، قادرة على استعمار أنظمة الجذر بشكل فعال. ثم يتم RPCP / PGPR تضمين هذه البكتيريا تحت مصطلح

تم العثور على غالبية البكتيريا الشعاعية في أنواع مختلفة من التربة ، ويتوزع بعضها في أجزاء الجذور. تم الحكم على هذه البيئة على أنها مصدر غني لعزل العوامل التي تنتج جزيئات جديدة نشطة بيولوجيًا: المضادات الحيوية وعوامل مكافحة الحويبة ومحفزات نمو النبات

تلعب البكتيريا الشعاعية وخاصة الستربتوميسيس دورا مهما للغاية في حماية جذور النباتات عن طريق تثبيط تطور الفطريات المسببة للأمراض من خلال إفراز مضادات الفطريات . الأجناس الأخرى التي تنتمي إلى البكتيريا الشعاعية هي أيضًا منتجة للجزيئات ذات الأنشطة المضادة للفطريات. ثبت أيضًا أن البكتيريا الشعاعية تنتج حوامل حامضية وتذيب الفوسفات. لذلك ، يمكن استخدام هذه المجموعة من البكتيريا بشدة في الزراعة.

وفقًا للأدبيات ، تثير البكتيريا الشعاعية الكثير من الاهتمام بسبب أهميتها في إنتاج المضادات الحيوية وغيرها من المستقبلات الثانوية النشطة بيولوجيًا ، والتي تكشف عن أنشطة بيولوجية مختلفة مثل مضادات البكتيريا ، ومضادات الفطريات ، ومضادات الفيروسات ، ومضادات السرطان ، ، ومضادات الكولسترول ، مما يجعلها مثيرة للاهتمام في التي تنتج آلاف المضادات الحيوية صناعة الأدوية أو الكيماويات الزراعية ، ولا سيما الستربتوميسيس.

الكلمات المفتاحية

البكتيريا الشعاعية ، الجزيئات النشطة بيولوجيًا ، المضادات الحيوية ، مضادات الفطريات ، الفوسفات الريزوسفير ، السيديريفور .

Introduction

Introduction

Le monde est confronté à un problème de sécurité alimentaire dû à la surpopulation mondiale qui conduit à une utilisation accrue des engrais chimiques pour augmenter la productivité agricole. Bien que les engrais chimiques présentent des avantages, ils ont des effets négatifs sur la santé humaine ainsi que sur la flore du sol et sur l'environnement. Cela a suscité un intérêt pour l'utilisation des bactéries/rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPB/R) en tant que principes actifs des biofertilisants. Les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) favorisent la croissance des plantes par des mécanismes directs et indirects tels que la production de phytohormones, la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphate, la production d'antibiotiques et des enzymes lytiques et la production de sidérophores. Dans la présente étude, nous nous sommes concentrés sur les actinobactéries et leur rôle dans la promotion de la croissance des plantes (**Lisa, 2019**).

Les actinobactéries représentent l'un des groupes microbiens les plus répandus dans le sol constitue environ 10 à 50% de la communauté de la microflore du sol (**Wang et al., 2012**), elles possèdent un potentiel considérable de biotransformation et de biodégradation des pesticides. Des études confirment l'implication de diverses souches de ces bactéries à paroi Gram-positive, dans la dégradation de pesticides avec des structures chimiques très différentes, notamment des organochlorés, des s-triazines, des triazinones, des carbamates, des organophosphates, des organophosphonates, des acétanilides et des sulfonilurées (**De Schrijver et De Mot, 1999 ; Rao, 2000**). Cette caractéristique particulière est due à la capacité des espèces d'actinobactéries à produire une variété d'enzymes extracellulaires capables de dégrader des polluants chimiques complexes et récalcitrants (**Sette et al., 2005**). Il a été estimé que sur 16500 antibiotiques connus, 8700 (53%) sont produits par les actinobactéries dont 6550 (40%) par des espèces de *Streptomyces* (**Choulet, 2006**).

Dans cette optique, notre manuscrit est scindé en trois parties :

- Une partie bibliographique qui comprend une synthèse d'un ensemble de données sur les bactéries rhizosphériques promotrices de la croissance des plantes (PGPB) et les mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes ainsi la microflore de la rhizosphère et les connaissances actuelles sur les actinobactéries en général et leurs métabolites bioactives.

- Une deuxième partie consiste à mettre différents protocoles utilisés au laboratoire pour étudier les actinobactéries rhizosphériques, leurs activités biologiques ainsi que leur capacité à produire les sidérophores et la solubilisation de phosphate.

- A cause de la pandémie mondiale Covid-19 survenue en début de l'année 2020 et les décisions administratives émanant de notre université prise en mois de mars 2020, nous étions dans l'impossibilité matérielle et sanitaire de réaliser la partie pratique attendue de ce travail. Aussi et afin d'enrichir ce document, nous avons ajouté une troisième partie comprenant une synthèse, de différents résultats obtenus par la littérature afin d'enrichir le contenu scientifique.

*Revue
bibliographique*

1. La rhizosphère

La rhizosphère est le volume de terre directement soumis à l'action des racines. Elle correspond aux surfaces d'échanges entre les racines et les minéraux de la terre ainsi qu'entre les racines et les microorganismes, c'est une zone où les relations entre plantes et microorganismes sont particulièrement actifs. Elle constitue une continuité entre le milieu biologique et le milieu physique (**Vacheron *et al.*, 2013**).

Plus simplement, il s'agit du volume de sol adhérent aux racines et sous leur influence. L'intense activité microbienne est la caractéristique essentielle de la rhizosphère. Elle est due à la libération dans le sol de composés carbonés (**les rhizodépôts**) qui stimulent la croissance et le développement des microorganismes du sol. L'influence des racines sur l'activité des microorganismes est appelée « **effet rhizosphère** ». L'intense activité microbienne dans, sur et autour de la racine, résulte de la libération dans le sol d'une grande variété de composés organiques servant de source de carbone, voire d'azote et d'énergie pour les microorganismes. C'est le processus d'exsudation racinaire appelé **rhizodéposition**, qui est commun à toutes les plantes supérieures (**Dennis *et al.*, 2010**).

Dans la rhizosphère on distingue trois zones : l'endorhizosphère, le rhizoplan et le ectorhizosphère. Dans cet environnement, il y a des interactions entre les racines des plantes, les microbes, et le sol. Les propriétés physiques et chimiques du sol, peuvent modifier la population microbienne dans la rhizosphère (**Huang *et al.*, 2014**).

Les microorganismes sont partout, ils se développent malgré des conditions extrêmes qui sembleraient rédhibitoires pour tout organisme, et dans l'ensemble de ses habitats, ils jouent un rôle crucial dans l'équilibre des cycles biogéochimiques. Cependant, s'il y a un habitat qui a particulièrement été étudié et où les microorganismes jouent un rôle fondamental pour l'Homme, c'est la rhizosphère.

Il a été montré que des relations se créent dans l'écosystème rhizosphérique au sein des communautés de microorganismes et entre les microbes et la plante (Figure1). La plante investit une partie de ses ressources pour entretenir des relations avec les microorganismes de la rhizosphère. En un sens, elle façonne la communauté de microorganismes autour de ses racines en libérant dans l'habitat rhizosphérique une partie du carbone qu'elle fixe par photosynthèse. Cette libération conduit à un échange mutuellement bénéfique puisque les

microorganismes vont être bénéfiques en termes de croissance de développement, de nutrition ou encore d'immunité pour la plante. Sur la (figure 1) (Pieterse *et al.*, 2016).

Le cadre orange regroupe les phénomènes liés au génotype de la plante : métabolisme des racines, fonctionnement du système immunitaire, et à la composition des exsudats qui ensemble, influent sur la structure de la communauté de microorganismes de la rhizosphère. Le cadre bleu représente les interactions microbes-microbes, il regroupe les activités des microorganismes variables en fonction des souches qui vont avoir un rôle antimicrobien ou probiotique et donc respectivement inhiber ou améliorer la croissance des autres microorganismes. Finalement, le cadre violet présente les services apportés collectivement par les microorganismes de la rhizosphère: transformation de l'architecture des systèmes racinaires, améliorer l'accumulation de la nutrition et activer les systèmes immunitaires par «induced systemic resistance/suppression» (ISR/S).

L'extension de la zone rhizosphérique peut varier selon le type de sol, l'espèce végétale et son âge et d'autres facteurs biotiques et abiotiques (Anand *et al.*, 2016).

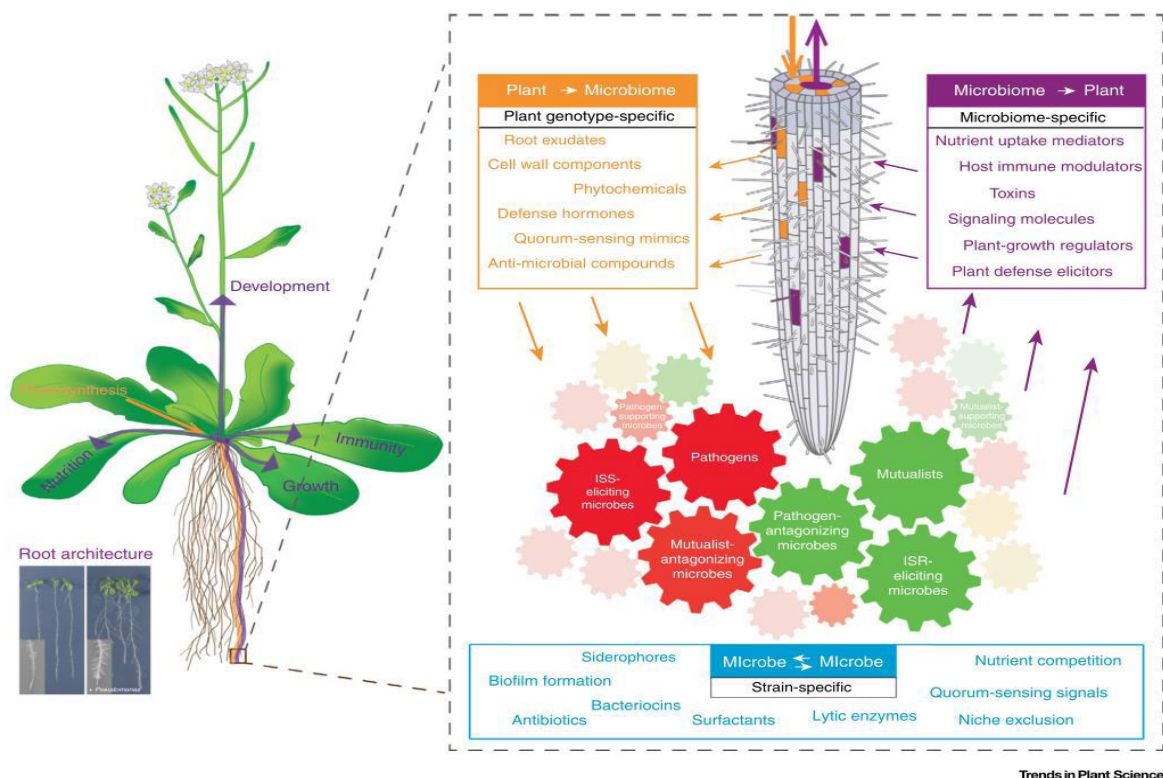


Figure 01 : Les interactions au sein de la rhizosphère impliquant la plante et les microorganismes (Pieterse *et al.*, 2016).

Les rhizobactéries stimulatrices de la croissance des plantes (PGPR : Plant growth-promoting rhizobacteria) : sont les bactéries du sol qui colonisent les racines des plantes et améliorent leur croissance directement ou indirectement ; et à leur tour les racines des plantes sécrètent des métabolites qui peuvent être utilisés comme éléments nutritifs. La stimulation directe peut inclure la fixation de l'azote atmosphérique, synthèse de diverses phytohormones et des enzymes, ainsi que la solubilisation des minéraux du sol. Tandis que la stimulation indirecte qui comprend l'inhibition des phytopathogènes via trois types d'interactions, la compétition, l'antagonisme et l'induction de la défense de la plante (la résistance systémique induit : IRS) (Osman *et al.*, 2017).

Elles appartiennent à différents genres, parmi lesquels *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Curtobacterium*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, et *Serratia* (Nelson et Kloepper 2014; Glick 2014).

Les nombreux métabolites produits par ces souches PGPR peuvent être classés en fonction du type d'action qu'ils vont provoquer, impliquant des effets indirects ou directs. Le mode d'action indirect s'observe en présence d'un agent pathogène. Il conduit à une modification des équilibres microbiens dans la rhizosphère qui aboutira à une protection de la plante par suppression des microorganismes nuisibles. Par un mode d'action direct, les bactéries stimulent la croissance des plantes, même en absence d'agent pathogène (Chen *et al.*, 2013; Hussein et Joo., 2014).

Plusieurs études sur la relation PGPR/amélioration de l'absorption des nutriments ont conclu que l'application des inoculations bactériennes améliore considérablement l'absorption du N, P, et K. En outre, le processus d'inoculation avec *Azospirillum* et *Bacillus* spp a montré une nette accumulation de ces minéraux dans les tissus de la plante (Amir *et al.*, 2005).

Fondamentalement, les PGPR sont définies par trois caractéristiques intrinsèques :

- 1) Elles doivent pouvoir coloniser la racine ;
- 2) elles doivent survivre et se multiplier dans les micro habitats associés à la surface des racines, en concurrence avec d'autres microbiotes ;
- 3) elles doivent favoriser la croissance des plantes (Niranjana et Hariparasad, 2014).

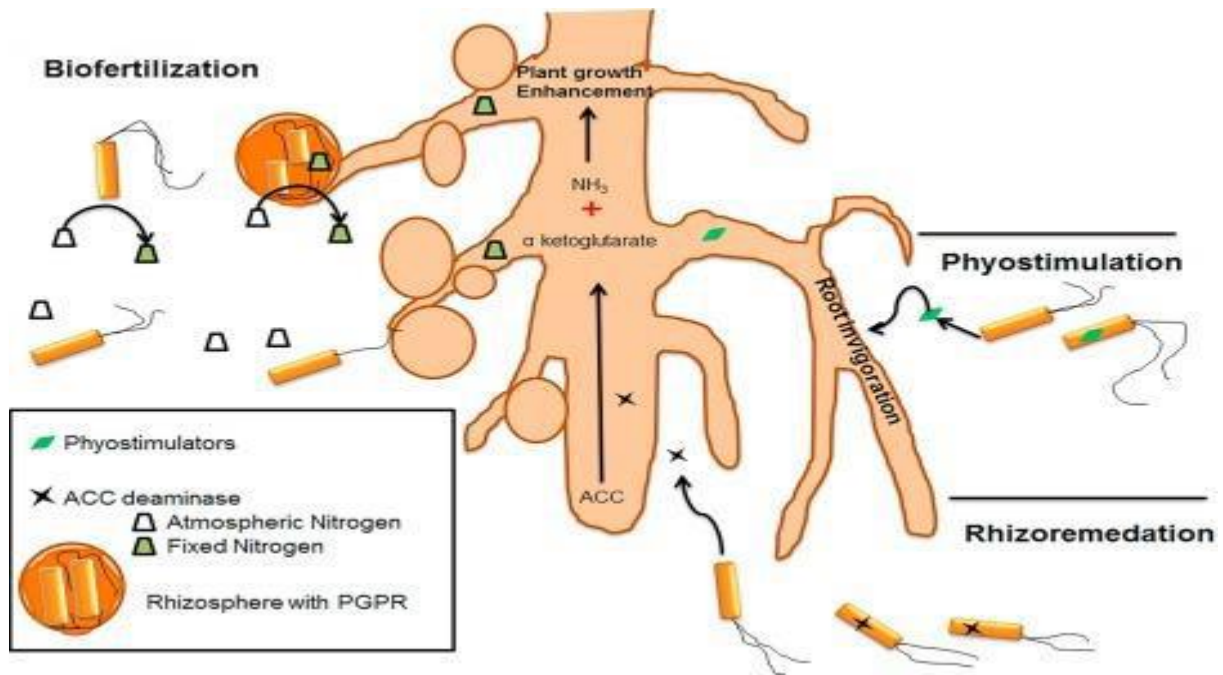


Figure 02 : Rôle des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (Gouda *et al.*,2018a).

1.2 Mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes

1.2.1 La solubilisation de phosphate

Le phosphore est un élément nutritif indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes (Rfaki *et al.*, 2014). La carence en phosphore dans les sols est une contrainte majeure qui limite la croissance des plantes due à sa faible solubilité. Les plantes absorbent les formes inorganiques de phosphore qui contribuent à leurs croissance et à leurs développement à un taux égal à 0.2% du poids sec de la plante (Oteino *et al.*, 2015; Alori *et al.*, 2017).

Pratiquement, le phosphore (p) joue un rôle important dans tout processus métaboliques, y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction de signal, la respiration chez les plantes (Khan *et al.*, 2010). Il a aussi un rôle important dans la fixation de l'azote chez les légumineuses. Par conséquent, l'acquisition d'une concentration suffisante de phosphore augmente la croissance et le développement des plantes dans différents systèmes de production (Hayat *et al.*, 2010).

Les plantes acquièrent du phosphore dans la solution du sol sous forme d'anions phosphates qui sont extrêmement réactifs et sont immobilisés par précipitation avec des cations tels que Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} et Al^{3+} selon les propriétés particulières du sol (Sanyal et Datta, 1991 ; Halford, 1997).

Les microorganismes bénéfiques solubilisant le phosphore convertissent les formes insolubles en formes directement assimilable par les plantes lors de sécrétion d'acides organiques qui diminuent considérablement la valeur du pH de la rhizosphère et entraîne la dissociation des liaisons dans les composés phosphorés insolubles tels que le $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, contenu dans les sols calcaires (Afzal et Bano, 2008).

Les bactéries solubilisatrices du phosphate comme *Rhizobium*, *Enterbacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, ou encore *Bacillus* jouent un rôle pour la nutrition des plantes puisqu'elles ont la capacité à convertir P insoluble au P soluble en produisant des acides organiques, la chélation et l'échange d'ions ce qui augmente la fertilité du sol. De plus, les sols contiennent des acides organiques de bas poids moléculaire avec un ou plusieurs groupes carboxyliques et certains acides. Le rôle des acides organiques dans la solubilisation du P dépend fortement du sol (Gupta *et al.*, 2012; Panhwar *et al.*, 2013).

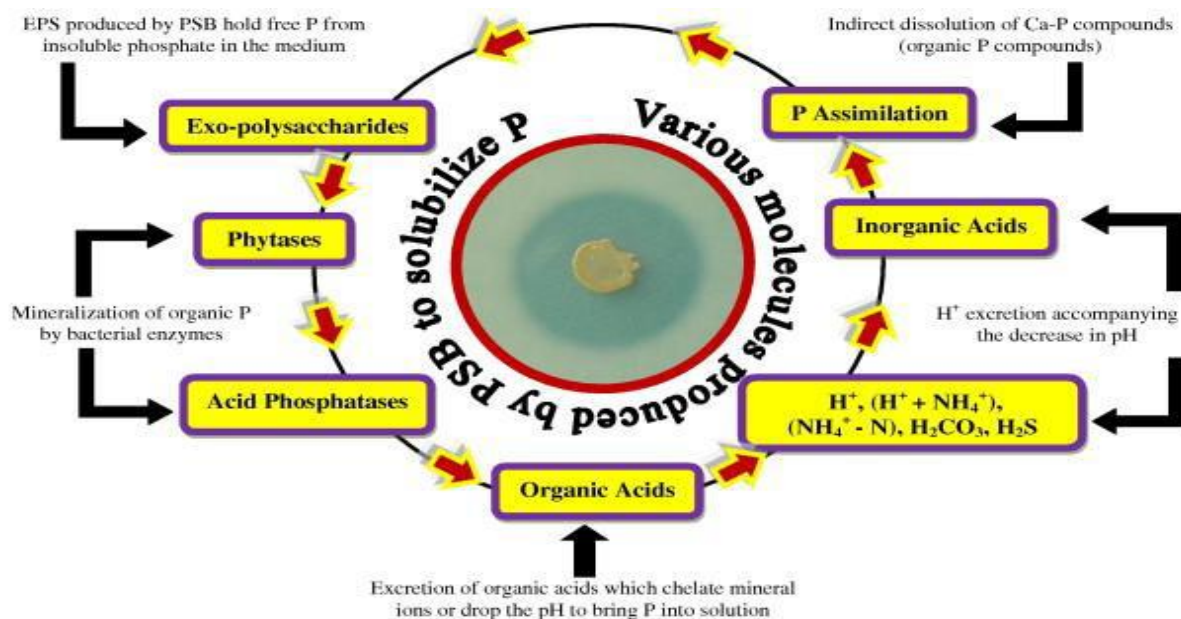


Figure 3: Mécanismes d'action de solubilisation de phosphate (Khan *et al.*, 2009) .

1.2.2 La production des phytohormones

Les hormones de croissance des plantes sont des produits chimiques organiques naturels qui sont biosynthétisés à des stades particuliers de la vie des plantes et régulent leur croissance (Asari *et al.*, 2016). Les phytohormones sont parmi les régulateurs de croissance les plus importants ; ils sont connus pour avoir un impact important sur le métabolisme et la croissance des plantes, et en outre, ils jouent un rôle essentiel dans la

stimulation des mécanismes de réponse de la défense des plantes contre les stress (**Egamberdieva et al., 2017**).

Dans la nature, les racines des plantes subissent divers types d'interactions avec des micro-organismes. Ces interactions sont généralement réglementées par divers physiochimiques et biologiques conditions, et devenir l'élément clé responsable pour la croissance et la propagation des plantes (**Dharni et al., 2014**).

1.2.1.1 L'auxine : le régulateur clé du développement de la racine latérale

Les auxines représentées principalement par l'**acide indole-acétique (AIA)** sont les plus importants hormones végétales, ou phytohormones, présentes dans tout le règne végétal. Elles jouent un rôle majeur dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes. L'auxine est une phytohormone indispensable au développement des plantes. Le terme d'auxine a été étendu à un ensemble des substances naturelles aux propriétés analogues ainsi qu'à des hormones de synthèse (**Simon et Petrasek, 2011**) (figure 4).

L'auxine agit sur l'élongation et les divisions cellulaires. Ses rôles sont nombreux, sur la dominance apicale, la formation des fruits, la floraison, la réponse à l'environnement (lumière, blessures), le développement des organes, et particulièrement des racines et les racines latérales (RL). De nombreuses revues récapitulent les divers rôles de l'auxine sur les plantes (**Kieffer et al., 2010**).

Généralement, la majorité (> 80%) des bactéries du sol capable de sécréter les auxines surtout l'acide indole acétique, via le métabolisme de tryptophane (**Ramos et al., 2010**).

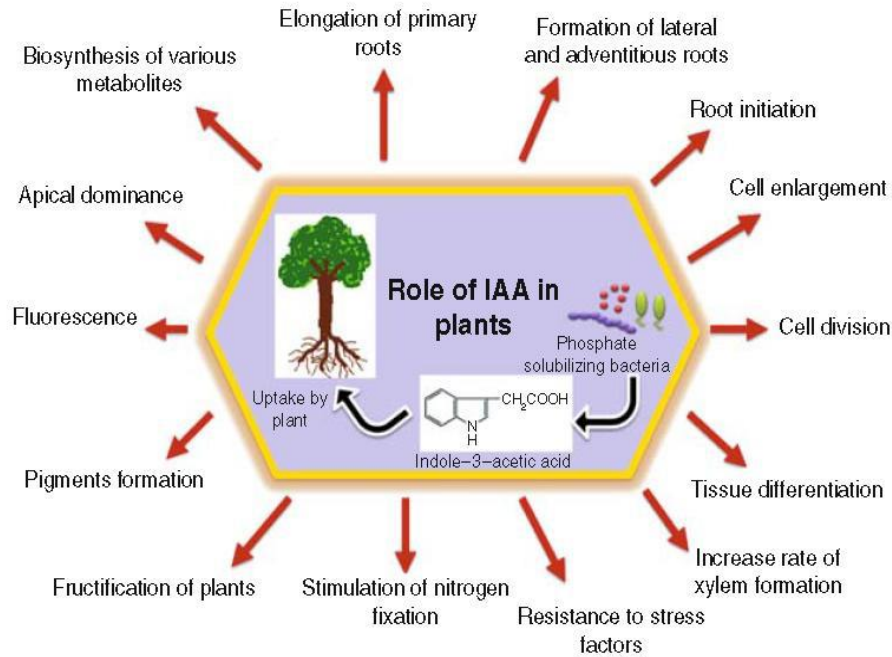


Figure04: Rôle de l'acide acétique dans l'amélioration de la croissance végétale (Khan *et al.*, 2009).

1.2.1.2 L'Acide Indole Acétique (AIA)

L'IAA (**Acide indole acétique**) est le plus important du groupe des auxines (Khan, 2014), et quantitativement le plus produit par les PGPR. En tant qu'une molécule de signal, il accomplit un rôle primordial dans le développement des plantes, tout en agissant sur l'organogenèse, les réponses trophiques, les réponses cellulaires telles que l'expansion des cellules, la division, la différenciation et la régulation des gènes (Chaiarn et Lumyong, 2011).

L'IAA est un métabolite dérivé de **tryptophane (Trp)** par de nombreuses voies dépendantes et indépendantes de Tryptophane dans les plantes et les bactéries. Dans la voie dépendante, le Tryptophane est converti en **indole-3-acétamide (IAM)** par Trp-2-monooxigénase et IAM est métabolisé en IAA par IAMhydrolase (Matsukawa *et al.*, 2007) (figure 5).

Plusieurs *micro-organismes* à savoir *Alcaligenes*, *Arthobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* et *Serratia* soutiennent le métabolisme du L-Trp naturellement sous l'impact des exsudats de racines de plantes, y compris glucides, acides organiques, acides aminés, mucilages, composés phénoliques, acides gras, stérols et vitamines (Nehra *et al.*, 2016; Passari *et al.*, 2016).

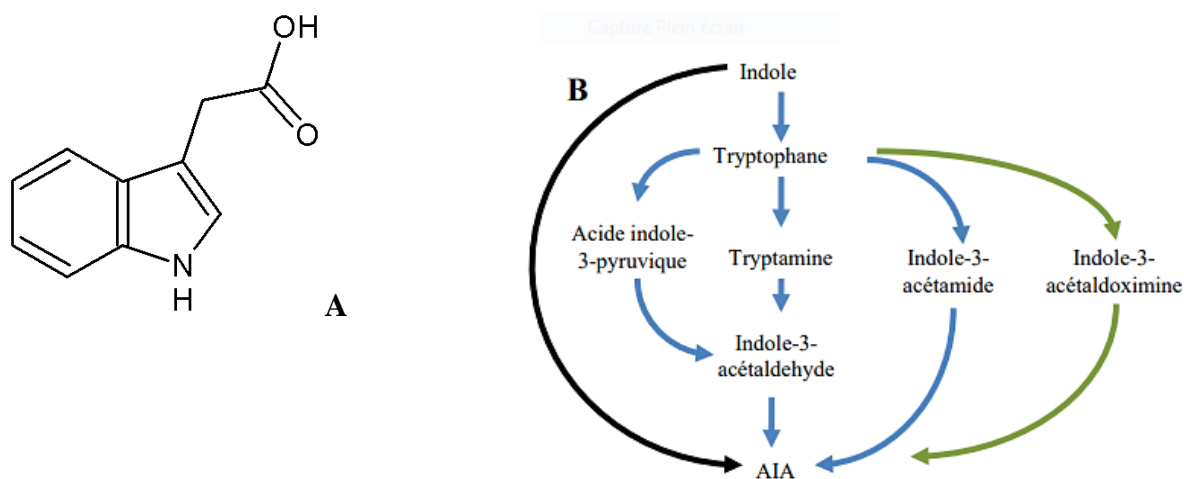


Figure 5 : Biosynthèse de l'auxine.

L'auxine (AIA) est synthétisée en majeure partie à partir du tryptophane, via trois voies de biosynthèse différentes. Il existe également une voie de biosynthèse à partir du précurseur indole, sans passer par l'étape du tryptophane.

Sources : Wikipedia Commons (A) et (**Quittenden *et al.*, 2009**) (B).

1.2.2 Production de sidérophores

Le fer est élément essentiel pour tous les organismes vivants pour tous les microorganismes vivants pour les processus tel que la respiration et la synthèse de l'ADN. Il est abondant dans le sol et se présente sous forme d'oxyde de fer (Fe^{+3}) ?insoluble (**compant *et al.*, 2005**). Lorsque les cellules microbiennes perçoivent une carence en fer, l'expression des gènes codant les enzymes nécessaires à la synthèse et au transport des sidérophores est activée (**Saha *et al.*, 2013**).

Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire, de 400 à 1000 kDa, avec une forte affinité pour le fer Fe^{3+} et permettent la nutrition en fer des microorganismes (**Saha *et al.*, 2013**). Ces molécules contiennent généralement un ou plusieurs de ces quatre groupes assurant la chélation des ions Fe^{3+} : les catécholates, les phénolates, les hydroxamates et les α -hydroxycarboxylates (**Miethke et Marahiel, 2007**). L'ion Fe^{3+} est chélate par le sidérophore selon la denticité de ce dernier. Les bactéries synthétisant les sidérophores lient le complexe fer-sidérophore à l'aide d'un récepteur spécifique situé sur la membrane cellulaire externe de la bactérie (**O'Sullivan et O'Gara, 1991**).

De nombreuses bactéries associées à des plantes et qui peuvent synthétiser des sidérophores tel que *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Streptomyces*, *Serratia*, *Azospirillum*, et *Bacillus*, à donner aux plantes un avantage concurrentiel dans la colonisation des tissus végétaux en les aidant à exclure d'autres micro-organismes de la même niche écologique, et peuvent également contribuer à la suppression de pathogènes dans la rhizosphère. De plus, il a été montré que les bactéries productrices de sidérophores résistant aux métaux, et jouent un rôle important dans la croissance et la survie de la plante, ainsi que l'induction de la résistance des plantes (Złoch *et al.*, 2016).

2 La microflore de la rhizosphère

Les plantes sont colonisées par un nombre étonnant de microorganismes qui peuvent atteindre des densités cellulaires bien supérieures au nombre de cellules végétales (figure 6). De plus, le nombre de gènes microbiens dans la rhizosphère dépasse de loin le nombre de gènes végétaux.

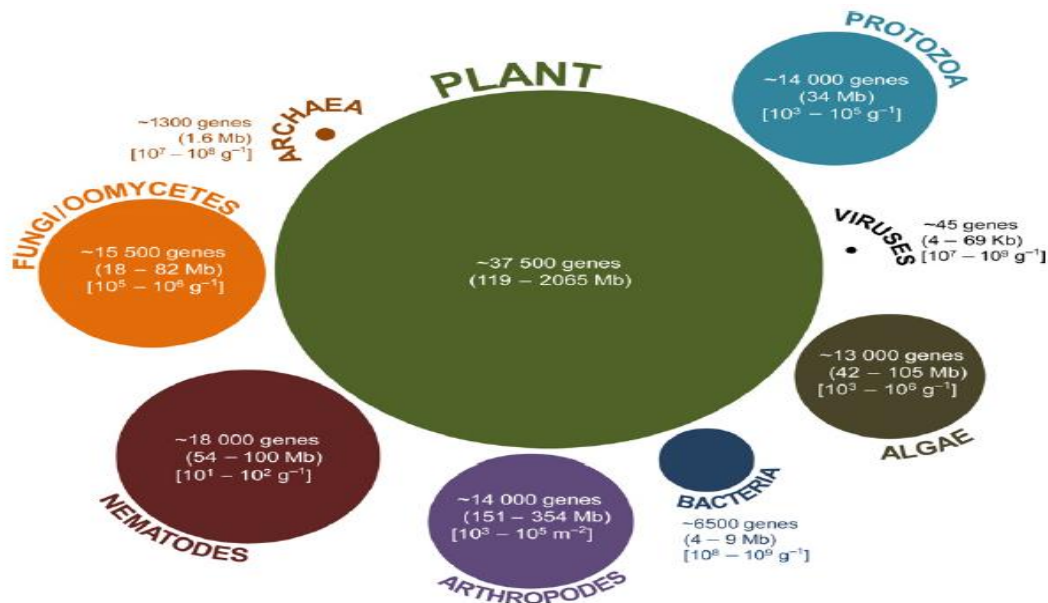


Figure 6 : La microflore de la rhizosphère (Mandes *et al.*, 2013) .

2.1 Les algues

Les algues sont des eucaryotes chlorophylliens. Leur chlorophylle les rend autotrophes, sont surtout présentes sur la surface du sol ou dans ses deux ou trois premiers centimètres du sol. Les algues sont peu abondantes, soit 10^5 par gramme de sol, mais fournissent néanmoins de la matière organique, certaines sont fixatrices d'azote.

Elles sont représentées par des espèces de Chlorophyceae, Cyanophyceae et les Diatomées Il leur faut, en effet, pour la photosynthèse, recevoir un minimum d'éclairage. Certaines algues hétérotrophes (Euglènes) peuvent vivre plus profondément. Beaucoup de ces algues sont entourées d'une couche mucilagineuse qui abrite de nombreuses bactéries(**Djigaldjibril, 2003**).

2.2 Les bactéries

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs du sol, d'où un gramme de sol forestier contient en moyenne environ 4×10^7 bactéries, tandis qu'un gramme de prairie ou le sol cultivé en contient selon les estimations 2×10^9 bactéries (**Prescott et al., 2013**).

Les bactéries représentant plus de 1000 espèces, sont responsables de nombreux processus : libération des éléments nutritifs à partir de la matière organique et des minéraux du sol. Oxydation de l'ammonium en nitrates (nitrification - bactéries nitrosomonas et nitrobacters). Production d'hormones de croissance qui favorisent le développement des racines. Compétition avec les micro-organismes pathogènes limitant ainsi les risques de maladie (**sybiotech.over-blog.com, 2017**). Les plantes ayant des antécédents médicaux ont produit de nouveaux médicaments sont préférées pour les isollements d'endophytes. Les tiges, les feuilles et les racines sont les parties préférées pour l'isolement des bactéries et actinobactéries exemples *Glycomyces Sambucus* sp ; *Rhodococcus Cercidiphilli* sp ; *Streptomyces Phytohabitans* sp ; *Pseudonocardia serianimatus* sp).

2.3 Champignons

La densité des champignons est estimée à 10^6 par gramme de sol Parmi les genres les plus fréquents dans la rhizosphère, on citera *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Phoma*. Certaines espèces sont antagonistes de champignons pathogènes, d'autres s'associent aux racines des plantes cultivées comme les mycorhizes (**Dommergue et al., 1970**). Plusieurs extraits liquides des cultures des champignons endophytes ont démontré

une inhibition de la croissance de plusieurs espèces de champignons phytopathogènes (**Inacio et al., 2006; Kim et al., 2007**).

(**Dingle et McGee, 2003; Istifadah et McGee, 2006**) ont fait l'expérience avec les endophytes du blé *Chaetomium et Phoma*, l'inoculation de ces champignons ainsi que l'application de leurs filtrats de cultures sur la plante ont réduit de la même façon la sévérité de la maladie foliaire causé par *Puccinia spp*, et *Pyrenophora*.

2.4 Protozoaires

Les protozoaires sont les moins nombreux, leur densité est de l'ordre de 10^3 par g de sol (**Tokiniaina, 2010**). Les espèces les plus communes sont: *Heteromitaglobosa*, *Colpodacucullus* et *Hartmanellahyalina*. La plupart sont hétérotrophes, certains sont phototrophes; ils se nourrissent de bactéries, de levures, de champignons et d'algues, ils peuvent être impliqués dans la décomposition de la matière organique (**Wild, 1993 ; Maier et al., 2000**).

3 Actinobactéries

3.1 Historique

Selon Waksman l'histoire des actinomycètes connus aujourd'hui sous le nom des actinobacteria ou actinobactéries, peut être divisée en cinq grandes périodes :

- **Première période (1874-1900):** a été nommée « période médicale » est celle de la découverte de leurs rôles dans la pathologie : Cohn en 1875 découvre le premier actinomycète qu'il appela *Streptothrix foeresteri*; Harz en 1877, isola l'agent responsable des actinomycoses du bétail et le nomma *Actinomyces bovis*.

- **Seconde période (1900-1940):** se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol : avec les travaux d'Orla Yensen (1909) qui créa la famille des *Actinomycetaceae* qui comprend un seul genre *Actinomyces*, par la suite, de nombreuses espèces telluriques furent isolées et décrit, Buchanan (1917) créa l'ordre des *Actinomycetales*. Les espèces qui composant le genre *Actinomyces*, étaient très différentes, certains auteurs ont commencés par scinder ce genre en plusieurs autres représentants taxonomiques. Au cours des années (1919-1940), une meilleure connaissance des germes a été acquise, grâce aux recherches d'Orskov (1923) qui créa le genre *Micromonospora*. Ce genre regroupe les actinobactéries qui ne produisent pas de mycélium aérien. Jensen (1932) regroupe dans le

genre *Paraactinomyces* (actuellement *Nocardia*) les actinobactéries dont le mycélium de substrat se fragmente.

- **Troisième période: Commence en 1940** est celle de la découverte des antibiotiques produits par les actinobactéries. En **1943**, Waksman et Henrici créent le genre *Streptomyces* (en combinant les noms des genres *Streptothrix* et *Actinomyces*) qui regroupe les actinobactéries dont le mycélium aérien produit des chaînes de spores portées par des sporophores. En 1944, Waksman découvre la streptomycine produite par *Streptomyces griseus* cette période a résultée en un accroissement brusque du nombre d'espèces décrites.

- **Quatrième période: (1940-1970)** peut être définie comme une période de développement de critères morphologiques et biochimiques pour la classification des actinobactéries, en parallèle avec la meilleure compréhension de la physiologie de ces bactéries de leur intérêt pour la production de métabolites secondaires et leur potentialité de biodégradation de composés organiques.

En 1958, (Pridham et al.), proposa un système de classification des *Streptomyces* basé sur la morphologie des chaînes de spores et la couleur du mycélium aérien ; Ettlting et al., (1958) introduit un critère important dans la différenciation des espèces : la production des pigments mélanoïdes.

-**Cinquième période: Depuis les années 1960**, l'essor des méthodes de génétique, initiées par Hopwood puis de génomique a révolutionné la classification des espèces et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes (**Merizig, 2015**).

3.2 Caractéristiques générales des actinobactéries

Étymologiquement, le mot actinomycète a été dérivé des mots grecs «Aktis» qui veut dire rayon et «mykes» qui veut dire champignon «Champignons à rayons» ou «Champignons rayonnants». Ont été considérés comme un groupe intermédiaire entre bactérie et champignons (**Merizig, 2015**).

Les actinobactéries, anciennement actinomycète sont des bactéries filamenteuses, à paroi Gram positive, ayant une teneur élevée en bases nucléotidiques (G+C) qui varie entre 57 et 75% (**Heuer et al., 1997 ; Jeffrey, 2008, Anandan et al., 2016**) et présentant un aspect cellulaire particulier, qui les distingue des autres bactéries unicellulaires et qui rappelle celui des moisissures. En effet, ces bactéries développent un mycélium végétatif et/ou un mycélium aérien, pouvant porter des spores considérées comme des structures de reproduction et de résistance. Ces mycéliums sont fins et courts, contrairement à ceux des moisissures, de ce fait,

les actinobactéries sont facilement différenciables des moisissures, par une simple observation microscopique des cellules ou des colonies (**Lechevalier, 2016**).

La croissance des espèces d'actinobactéries en présence de l'oxygène est variable, mais la majorité des espèces sont aérobies strictes. Elles sont chimio-organotrophes, pouvant utiliser des molécules organiques complexes comme sources d'énergie et de carbone, grâce à leur faculté à produire une panoplie d'enzymes capables de dégrader les composés chimiques les plus récalcitrants. Cette propriété leur confère un rôle primordial dans la minéralisation de la matière organique des écosystèmes qui les hébergent (**Anandan et al., 2016**).

Les actinobactéries forment un large groupe hétérogène renfermant des genres différenciables, principalement, par leur aspect morphologique général. Ainsi, il y a ceux qui présentent un mycélium rudimentaire, presque inexistant, qui se fragmente en bâtonnets, c'est le cas du genre *Mycobacterium*. D'autres se distinguent par un mycélium fugace se fragmentant facilement en corps coccoïdes ou bâtonnets, comme chez les *Nocardia*. Enfin, il y a le genre *Streptomyces* qui est le plus répandu des actinobactéries, dont les espèces forment un mycélium de base prononcé et persistant, au-dessus duquel peut se former un mycélium aérien, où les hyphes portent à leurs extrémités des structures reproductrices appelées conidies. Les spores sont, dans certains cas, comme chez *Actinoplanes*, produites dans des sacs appelés sporanges, renfermant des sporangiospores (**Anandan et al., 2016 ; Lechevalier, 2016**).

Si certaines espèces d'actinobactéries sont connues pour leur pathogénicité chez l'homme, les animaux et certains végétaux (certaines souches de *Mycobacterium*, *Streptomyces*, *Gardnerella*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Actinomyces*), d'autres présentent des aspects bénéfiques considérables, se résumant, en premier lieu, en leur aptitude à synthétiser des composés antimicrobiens à large spectre, contre les infections microbiennes qui peuvent toucher l'homme, animaux et plantes. Aussi, comme cité ci-dessus, la variété d'enzymes que peuvent produire certaines souches, est à l'origine de la dégradation de composés chimiques naturels et synthétiques, jouant ainsi un rôle dans la minéralisation de la matière organique et, par la même occasion, dans la décontamination des environnements pollués (**Alvarez et al., 2017**).

3.3 Habitat des actinobactéries

Les actinobactéries sont ubiquitaires ; elles sont recensées en grand nombre dans le sol, et peuvent coloniser d'autres écosystèmes comme les milieux aquatiques (eaux douces et eaux marines), l'air, les débris végétaux et les produits alimentaires. Elles sont également rencontrées dans des milieux extrêmes, comme les sols polaires, les sols désertiques, les sols contaminés par les hydrocarbures, les pesticides et les métaux lourds, ou encore les milieux d'extrême salinité (**Anandan et al., 2016 ; Alvarez et al., 2017**).

Le sol reste l'habitat le plus important pour les actinobactéries, les *streptomycètes* composants majeurs de sa population. Selon de nombreux rapports, *Streptomyces* le genre le plus abondant selon la littérature.

Les actinobactéries terrestres ont divers potentiels antimicrobiens intéressants. Oskay *et al.* ont isolés des actinobactéries qui avait la capacité de produire de nouveaux antibiotiques à forte activité antibactérienne. En anoxique, la rhizosphère des mangroves, les espèces actinobactériennes telles que *Streptomyces*, *Micromonospora* et le *Nocardioforme* s'est avéré être abondant, ce qui est 1000 à 10000 fois plus faible que les terres arables à cause de l'influence des marées (**Tan et al., 2009**). De même, *Nocardia* isolé du sol des mangroves a produit de nouveaux métabolites cytotoxiques qui inhibent fortement les lignées cellulaires humaines, comme l'adénocarcinome gastrique (**Schneider et al., 2006**).

Le sol de désert est également considéré comme un environnement terrestre extrême où seuls certains des espèces, en particulier dans lesquelles les actinobactéries, utilisent souvent *Microcoleus* comme source de nourriture. Il y a plusieurs rapports montrant la répartition des actinobactéries à divers endroits, comme le sol du sable (Cario, Égypte; Falmouth, MA), sol alcalin noir (Karnataka, Inde), loam sableux (KeffiMetropolis, Nigéria; Presque Isle, PA), sol de dessert alcalin (Wadi El Natrun, Égypte; Wadi Araba, Égypte) et le sol de dessert subtropical (Thar, Rajasthan), où *Streptomyces* sp étaient dominants suivi par les autres organismes, tels que *Nocardia*, *Nocardiosis* et *Actinomycètes* (**Cundell et Piechoski, 2016**).

Selon une étude qui a été réalisé par Nithya *et al.*, 134 actinobactéries cultivables morphologiquement distingués ont été isolés à partir de 10 échantillons différents de sols désertiques. De même, les actinobactéries jouent un rôle majeur dans la communauté microbienne de la rhizosphère des plantes récalcitrantes, et donc la région de la rhizosphère

est considérée comme l'un des meilleurs habitats pour l'isolement de ces micro-organismes (tableau 1).

Priyadharsini et *al.* ont isolé 45 isolats morphologiquement distinctes à partir de 12 sols différents de rizières et ont observé leur capacité à inhiber la croissance de *Cyperus rotundus*. Les isolats comprennent *Streptomyces* sp, *Streptoverticillium* sp, *Actinomadura* sp., *Kitasatosporia* sp., *Nocardiosis* sp, *Pseudonocardia* sp, et *Kibdelosporangium* sp.

Plusieurs actinobactéries ont été isolés à partir de sols algériens. Certains d'entre eux appartiennent aux genres rares tels que *Actinomadura*, *Nanomuraea*, *Nocardiosis*, *Saccharothrix*, *Spirillospora* et *Streptosporangium* (Badji et al., 2007).

Tableau 1 : Exemples de certaines actinobactéries rhizosphériques et de leurs fonctions pour les plantes.

Espèce	L'intérêt de l'isolement	Espèce végétale	Références
<i>Micromonospora endolithica</i>	-Solubilisation du phosphate pour favoriser la croissance des plantes	-Haricot (<i>Phaseolus Vulgaris</i>)	El-Tarabily et al., 2008).
<i>Streptomyces griseus</i>	-Protection contre la fonte des semis causée par <i>Pythium ultimum</i>	-Blé (<i>Triticum spp.</i>)	(Hamdali et al., 2008).
<i>Frankia species</i>	-Fixation biologique de l'azote	-Plante actinorhizienne (<i>Casuarina equisetifolia</i>)	(Rascio et al., 2008).
<i>Norcardia levis</i>	-Lutte biologique contre la maladie du flétrissement à <i>Fusarium oxysporum</i>	-Sorgho (Sorghum bicolor)	(Kavitha et al., 2010).
<i>Streptomyces species</i>	-Agir en tant que biocontrôle contre <i>Rhizoctonia solani</i>	-Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	(Patil et al., 2011).
<i>Streptomyces species</i>	-Biorestauration des sols contaminés	-Maïs (<i>Zea mays</i>)	(Benimeli et al., 2008).

3.4 Caractères culturels et morphologiques

Les milieux de culture utilisés pour la détermination des caractères morphologiques sont généralement ceux établis par l'International *Streptomyces* Project (ISP) (**Shirling et Gottlieb, 1966**). Pour les genres rares (non *Streptomyces*), les milieux glucose-asparagine et amidoncaséine sont utilisés (**Anandan et al., 2016**).

Les actinobactéries se développent plutôt lentement, comparativement aux autres bactéries, leur temps de génération varie de 2 à 3 jours (**Kitouni, 2007**). Selon les conditions de croissance (physico-chimiques et nutritionnelles) et l'espèce actinobactérie considérée, le développement bactérien peut apparaître dès les trois premiers jours de l'incubation, ou prendre plus de temps, variant d'une à quatre semaines.

Morphologiquement, les actinobactéries peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forme seulement une masse de filaments ramifiés.

Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (**Lechevalier, 1985**). Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- Des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu,
- Des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides,
- Des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

Les différents genres d'actinobactéries peuvent sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores (*Thermoactinomyces*). D'autres genres d'actinomycètes sporulent en produisant des sporanges tel que le genre *Streptosporangium* (**Kalakoutskii et Agre, 1976**).

Les spores peuvent, selon les genres, être produites :

- isolément (*Micromonospora*),
- deux à deux longitudinalement (*Microbispora*),
- en courtes chaînes (*Actinomadura*),
- en longues chaînettes (*Streptomyces*).

Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales. De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores (Figure 7).

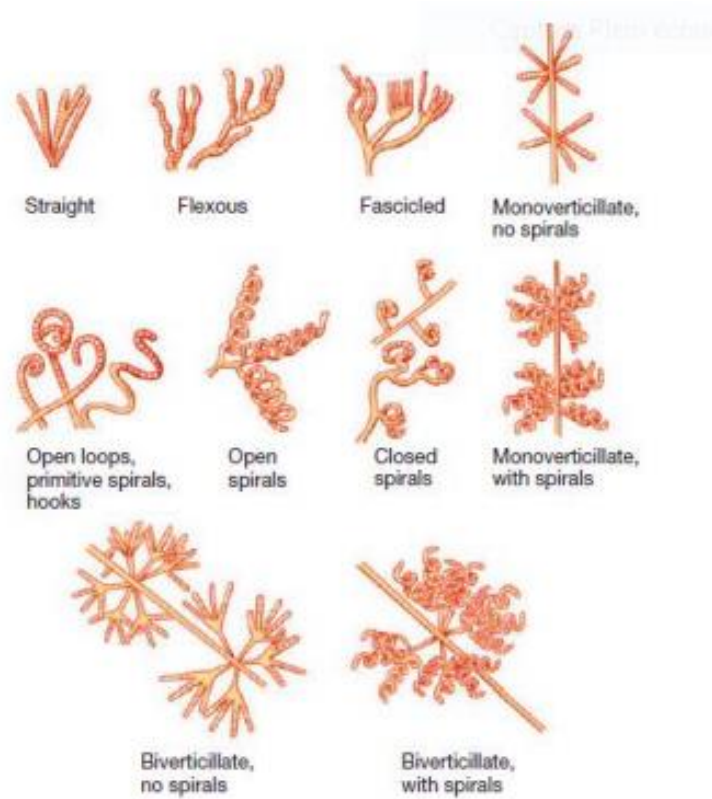


Figure 7 : Type de structures sporulées chez les *Streptomycètes* (Eranga Jayashantha, 2015) .

La majorité des actinobactéries cultivés sur milieu solide forment un mycélium de substrat et un mycélium aérien. Néanmoins, il existe des groupes qui ne forment qu'un mycélium de substrat poussant à la surface et dans le milieu de culture ou un mycélium aérien dont les hyphes sont attachés au milieu par des crampons (Errakhi, 2008).

En culture liquide et sans agitation, les hyphes formés après la germination des spores montent en surface pour croître en contact de l'air (Keulen *et al.*, 2003). Cependant, en milieu liquide avec agitation, il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. Les *Streptomyces* forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'agrègent pour former des pellets (figure 8).

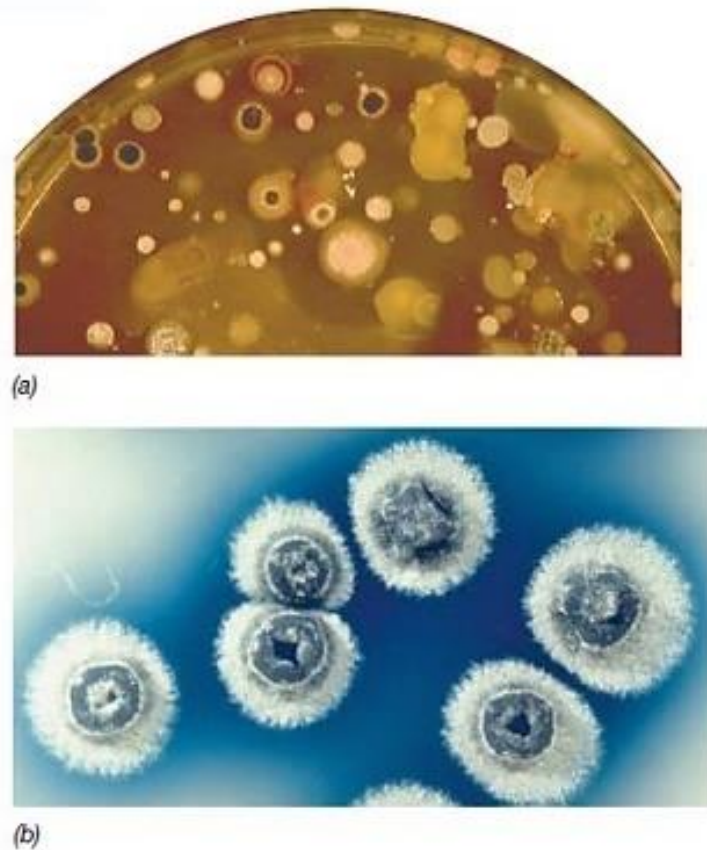


Figure 8 : *Streptomycètes* .(a) Colonies de *Streptomyces* et d'autres bactéries du sol dérivées de l'épandage d'une dilution du sol sur une plaque de gélose à l'amidon de caséine.(b)Photo en gros plan de *Streptomyces coelicolor* (Eranga, 2015) .

3.5 Cycle de vie et de développement

Le cycle de vie de nombreux actinobactéries commence par la germination des spores (Figure 9). Ce processus nécessite la présence des ions de calcium. Cette germination donne naissance à un mycélium primaire ramifié (O'Gara *et al.*, 2008). Un mycélium aérien vient s'installer au-dessus du mycélium de substrat. Ce dernier s'autolyse et les produits de la lyse sont utilisés par le mycélium aérien. C'est généralement, à ce moment-là que les composés dit métabolites secondaires sont synthétisés (Smaoui, 2010). A l'extrémité du mycélium aérien se forme des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores. Ces spores naissent par séparation du mycélium primaire habituellement en réponse à un stress environnemental comme le manque de nutriment par exemple. Si les spores sont enveloppées dans un sac, on les appelle des sporangiospores. Généralement ces spores ne sont pas

résistantes à la chaleur, mais résistent bien à la dessiccation et sont donc doués de capacités adaptatives importantes. Les actinobactéries sont immobiles, excepté pour les spores de certains genres (*Actinoplan*, *Spirillospora*....etc.) (Prescott *et al.*, 2010) .

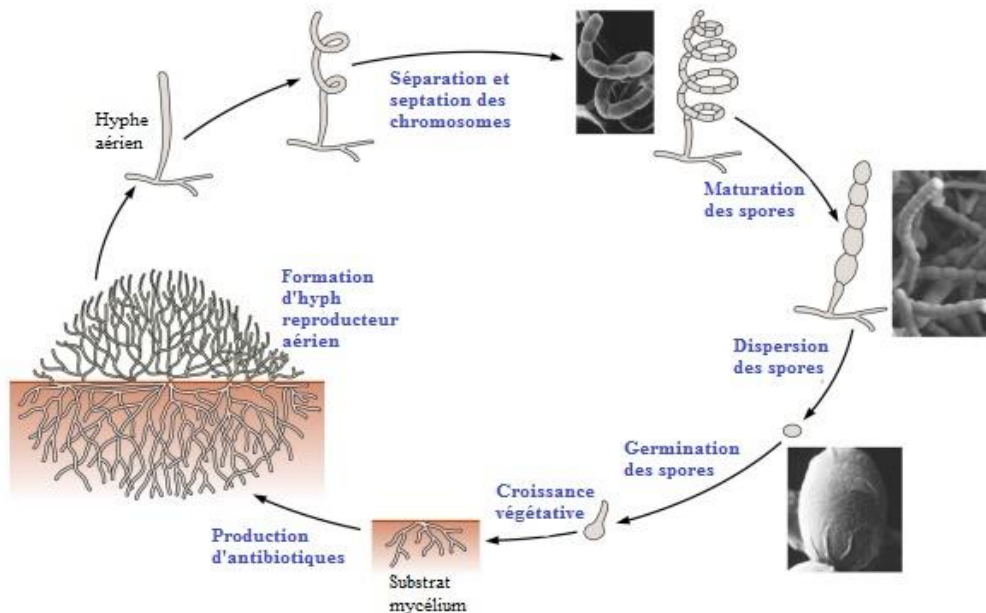


Figure 9 : Schéma représentatif du cycle de vie des actinobactéries sporulantes (Barka *et al.*, 2016).

3.6 Caractères biochimiques et physiologiques

Les propriétés physiologiques et biochimiques des bactéries en général, sont dues à l'activité enzymatique et des protéines qui les régulent, et qui traduisent elles-mêmes. L'expression des gènes impliqués, la caractérisation physiologique et biochimique est donc le reflet indirect du génome et sa réalisation est beaucoup plus facile qu'une analyse génomique, d'où l'importance de cette étape dans la systématique bactérienne. Des tests physiologiques et biochimiques classiques sont utilisés pour la caractérisation phénotypique des actinobactéries. Il s'agit de récolter des données sur la croissance à différentes valeurs de température, de pH, de concentrations en sel, et d'oxygène ; sur la croissance en présence de substances antimicrobiennes ; sur l'activité enzymatique, et donc l'utilisation de certains substrats (Li *et al.*, 2016).

De manière générale, les actinobactéries se développent quasiment sur les majeurs intervalles de températures. Ainsi, les mésophiles croissent sur une large plage de 20 à 42°C, les thermotolérantes survivent jusqu'à 50°C, les thermophiles modérées poussent entre 45 et 55°C, alors que les thermophiles strictes se développent entre 37 et 65°C, avec un intervalle optimum de 55 à 60°C. Il est à noter que certaines espèces du genre *Streptomyces* sont psychrophiles. Pour l'isolement de souches mésophiles, thermotolérantes et thermophiles modérées, à partir du sol, les températures d'incubation de 28°C, 37°C et 45°C sont usuellement et respectivement, prises en considération (**Anandan et al., 2016**).

La majorité des actinobactéries préfère les milieux neutres ou légèrement alcalins. Cependant, des souches acidophiles sont répertoriées avec un optimum variant entre 4,5 et 5,5 (**Boughachiche, 2012**). La réponse des actinobactéries à la présence de concentrations élevées de sel, varie selon le genre considéré. La plupart des souches halophiles sont isolées de sols salés, et quelques genres seulement le sont à partir d'environnements marins, tels que *Micromonospora* et *Rhodococcus* (**Anandan et al., 2016**).

3.7 Taxonomie des actinobactéries

La classification des actinobactéries a été depuis longtemps réarrangée. Les actinobactéries sont traditionnellement classés comme une partie autonome dans la taxonomie des bactéries (figure10) . Dans le manuel de Bergey's of determinative bacteriology, les actinobactéries sont inclus dans plusieurs sections du volume quatre. Tous les actinobactéries sont inclus dans l'ordre *Actinomycetales*. L'ordre *Actinomycetales* est subdivisé en quatre familles : *Streptomycetaceae*, *Actinomycetaceae*, *Actinoplanaceae* et *Mycobacteriaceae*.

Le Manuel Bergey de Systématique Bactériologique 2ème édition (2012), se présente en cinq volumes (Tableau 2), contenant des noms d'espèces bactériennes, internationalement reconnues, dont l'identification moléculaire est basée sur les séquences des gènes codant l'ARNr 16S, qui est pour le moment, l'analyse la plus significative pour l'identification des actinobactéries (**Anandan et al., 2016**) . Le choix de l'ARNr 16S est dû d'abord à sa présence chez toutes les bactéries, à sa stabilité fonctionnelle et à sa composition en régions hautement conservées et d'autres variables. D'autres analyses, tout aussi significatives, consistent en l'hybridation ADN/ADN, ainsi que la détermination du coefficient du (G+C)%, les actinobactéries se distinguant par des taux élevés, allant de 50 à 80% (**Chen et al., 2016**).

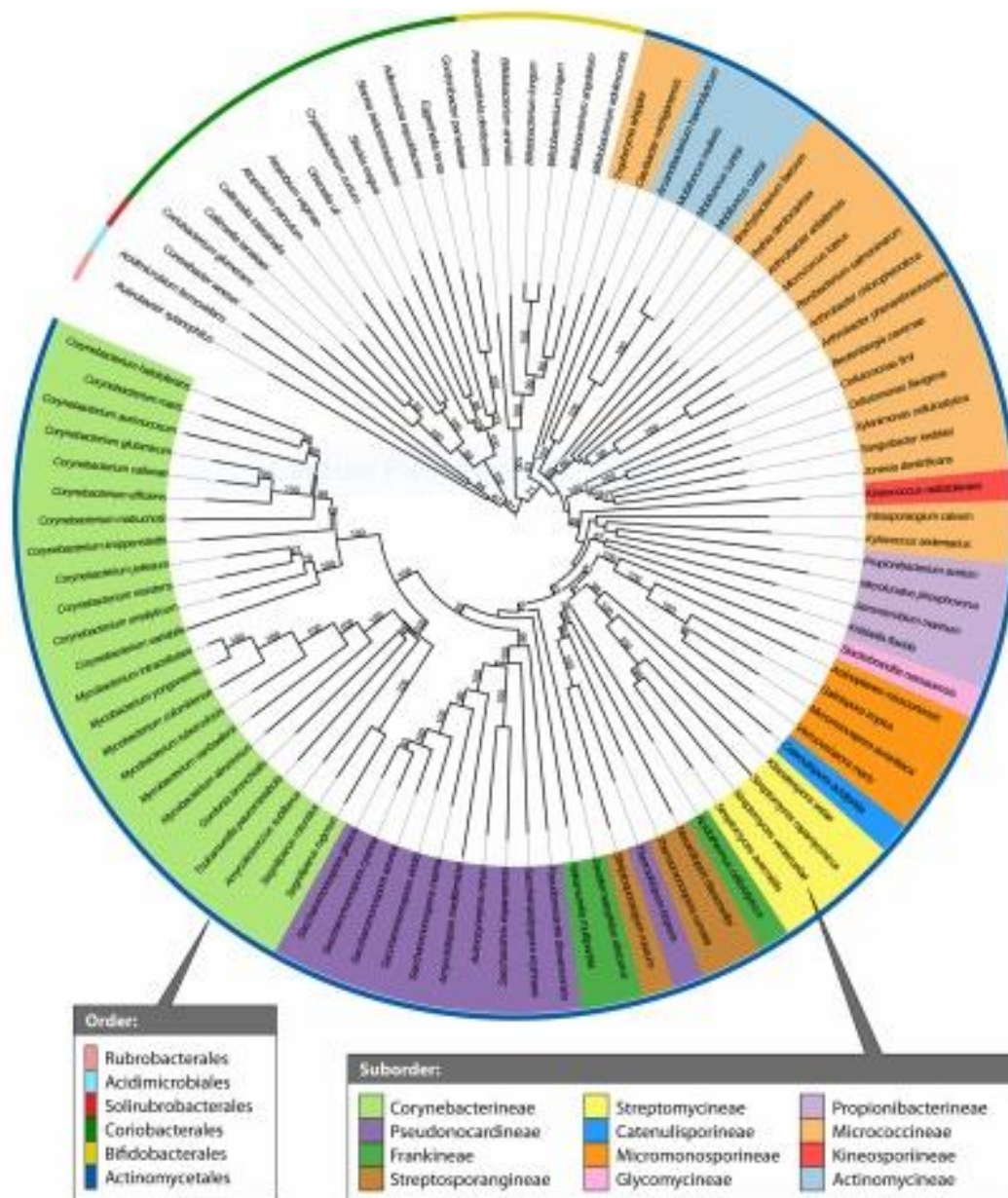


Figure 10 : Un arbre phylogénétique basé sur le génome basé sur 97 séquences génomiques du phylum *Actinobacteria* (**Barka et al., 2016**).

Tableau 2 : Classification des actinobactéries (Anandan *et al.*, 2016) .

Les archées et les bactéries profondément ramifiées et phototrophes	Volume 1
Les protéobactéries	Volume 2
Les Firmicutes	Volume 3
Les Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobactéries	Volume 4
Les Actinobactéries	Volume 5

Dans le volume 5, le phylum Actinobacteria est divisé en six classe :

Actinobacteria, *Acidimicrobiia* , *Coriobacteriia* , *Nitriliruptoria* , *Rubrobacteria* , et *Thermoleophilia*. La classe *Actinobacteria* renferme quinze (15) ordres qui sont *Actinomycetales*, *Actinopolysporales*, *Bifidobacteriales*, *Catenulisporales*, *Corynebacteriales*, *Frankiales*, *Glycomycetales*, *Jiangellales*, *Kineosporiales*, *Micrococcales*, *Micromonosporales*, *Propionibacteriales*, *Pseudonocardiales*, *Streptomycetales*, *Streptosporangiales* (Kampfer, 2012).

3.7.1 Rôle des actinobactéries dans la durabilité agricole et environnementale

Les actinobactéries englobent un grand groupe d'espèces d'importance industrielle et agricole. Ils sont une source prolifique de nouveaux métabolites secondaires [agents antimicrobiens, antitumoraux, anti-inflammatoires (Brana *et al.*, 2015), antioxydants (Karthik *et al.*, 2013)] et d'autres composés pharmaceutiquement intéressants. Les espèces actinobactériennes ont une importance économique considérable à la fois en agriculture et en écologie environnementale illustrée à la (figure 11). Le phylum *Actinobacteria* comprend un nombre considérablement élevé de genres favorisant la croissance des plantes que les bactéries (Hamedi et Mohammadipanah , 2015). Les actinobactéries favorisant la croissance des plantes sécrètent une vaste gamme de modulateurs chimiques, qui stimulent directement la croissance des plantes ou agissent indirectement en soutenant d'autres microbes bénéfiques pour les plantes. Les actinobactéries du sol tuent ou inhibent la croissance des

agents pathogènes des plantes via la production d'antibiotiques, garantissant ainsi la bonne santé des plantes. Le terme «médicament miracle» a été proposé pour les antibiotiques, car ceux-ci diminuent la menace causée par les agents pathogènes des plantes et des animaux (**Demain, 1999**). Les actinobactéries comprennent le plus grand nombre de genres producteurs d'antibiotiques, qui produisent environ 45% du total des antibiotiques connus (**Raja et Prabakarana, 2011**). Ils sécrètent des alcaloïdes tertiaires volatils tels que la géosmine (**Gerber et Lechevalier, 1965**) et le 2-méthylisoborneol (2-MIB) (**Gerber, 1969**), qui expliquent l'odeur terreuse du sol (**Wilkins, 1996**) et indiquent la fertilité et les niveaux de nutriments du sol aux agriculteurs. Certaines actinobactéries présentent une relation mutualiste comme l'actinorhizal (**Verghese et Misra, 2002**), l'actinolichène (**Lazo et Klein, 1965**) et les associations d'endophytes (**Taechowisan et al., 2005**) pour favoriser la remise en forme des plantes via la morphogenèse des plantes. D'autres rôles écophysologiques des actinobactéries comprennent la fixation de l'azote, la solubilisation des phosphates et la production de phytohormones (auxines et cytokinines) et de sidosphores (**Palaniyandi et al., 2013**), qui ajoutent une valeur supplémentaire à l'importance des taxons actinobactériens du point de vue de l'agriculture.

Outre la promotion de la croissance des plantes et la suppression des maladies, les actinobactéries jouent un rôle essentiel dans divers processus de dégradation biologique. Ils ont une haute compétence pour dégrader les polymères récalcitrants tels que les produits chimiques toxiques (pesticides, insecticides et herbicides), les colorants, les bioplastiques et les produits pétroliers et pétroliers. Leur rôle impératif dans la désintoxication des métaux lourds a également été documenté. En général, les études de laboratoire liées à la dégradation microbienne ne réussissent pas toujours pendant la biorestauration in situ, car les cellules microbiennes utilisées sont soumises à des défis environnementaux à la fois biotiques et abiotiques qui peuvent diminuer leur taux de survie et leur efficacité de dégradation. Par conséquent, les microbes isolés des sites pollués sont de meilleurs candidats pour la biorestauration.

De nombreuses études confirment le fait que les espèces actinobactériennes montrent une suprématie dans les zones fortement contaminées (**Gremion et al., 2003; Chikere et al., 2009**). Les actinobactéries ont un potentiel de tolérance ou d'acclimatation considérable pour les composés ou métaux toxiques, ce qui les aide à se développer dans des sites fortement pollués ainsi qu'à assainir l'environnement. L'utilisation d'actinobactéries et de leurs enzymes

comme outil de bioremédiation peut ainsi constituer une porte d'entrée efficace vers le domaine de la biotechnologie environnementale.

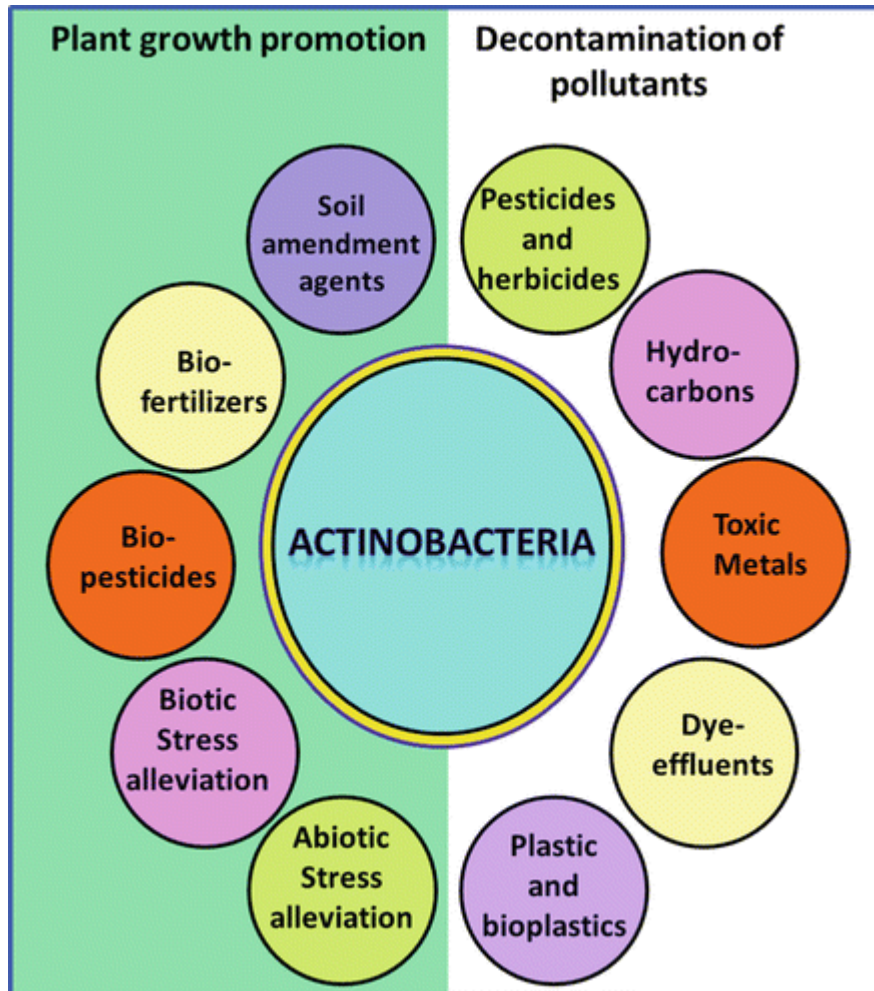


Figure 11 : Un diagramme schématique montrant le rôle des actinobactéries dans l'agriculture et la durabilité de l'environnement (Shivlata et Satyanarayan, 2017).

3.7.2 Actinobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPA)

La première preuve concluante de la promotion de la croissance des plantes par l'inoculation de micro-organismes bénéfiques sur les graines a été rapportée par Kloeppler et Schorth (Bloemberg et Lugtenberg, 2001). Une illustration schématisant des traits d'actinobactéries favorisant la croissance des plantes est présentée à la (figure 12). Les actinobactéries favorisent principalement la croissance des plantes en stimulant les hormones, en améliorant la disponibilité du fer, la fixation et la symbiose de l'azote, la solubilisation du phosphore et la réduction du stress.

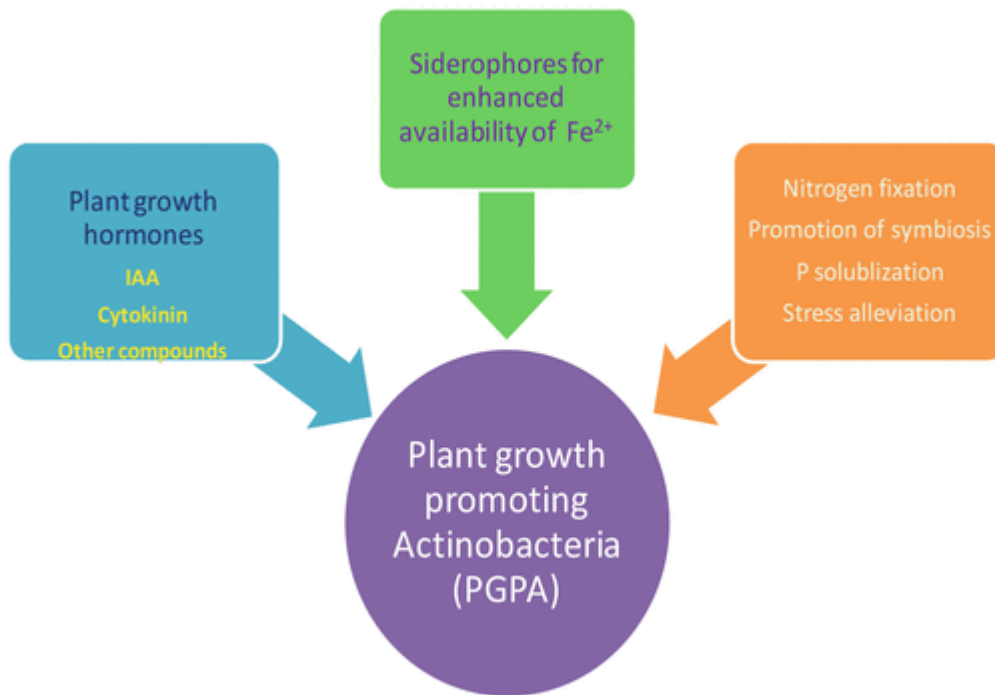


Figure 12 : Propriétés favorisant la croissance des plantes des actinobactéries(**Subramanian et al., 2016**).

3.8 Métabolites bioactifs

3.8.1 Production d'antimicrobiens

Le premier rôle qui vient à l'esprit quand le groupe des actinobactéries est évoqué, consiste en la production d'une diversité de substances antibactériennes et antifongiques. Plus de 80% des molécules antimicrobiennes utilisées, proviennent des actinobactéries et particulièrement, des genres *Streptomyces* et *Micromonospora*, qui les synthétisent pour, entre autres, éliminer d'éventuels organismes compétiteurs (**Anandan et al., 2016**) (figure 13).

Les molécules d'antibiotiques produites par le groupe d'actinobactéries présentent des structures variées, leur permettant d'être classées dans différentes familles d'antibiotiques, comme les bêta-lactamines, les aminoglycosides, les macrolides, les anthracyclines, les tétracyclines, les glycopeptides, les chloramphénicolés, les nucléosides et les polyènes (figure 14). Chaque classe possède un mécanisme d'action qui lui est spécifique et agit sur des cibles bien déterminées, telles que la synthèse de la paroi cellulaire et de la membrane phospholipidique, l'inhibition de l'ARN polymérase et la synthèse protéique, le blocage de la transcription et de la répllication de l'ADN (**Grasso et al., 2016**).

Des études menées par Zhang *et al.* (2003) et Farris *et al.* (2011), ont démontré la production de bactériocines (peptides à activité antibactérienne, à grand intérêt dans la bioconservation des aliments), par des souches telluriques de *Streptomyces ipomoeae* et *Streptomyces scopuliridis*, respectivement. Certaines actinobactéries peuvent produire plus d'une substance bioactive (*Streptomyces griseus*), aussi une même molécule à activité antimicrobienne peut être synthétisée par différentes espèces d'actinobactéries, c'est le cas de (l'actinomycine et streptothricine) par exemple (Anandan *et al.*, 2016).

Cependant, l'émergence de souches possédant une multiples résistances vis-à-vis aux molécules d'antibiotiques, constitue un réel problème de santé publique, ce qui incite les chercheurs du monde entier à mettre la main sur de nouvelles molécules dont le mode d'action diffère des substances actuelles. Cela ne pourra se faire qu'à travers la recherche et l'isolement de nouvelles souches d'actinobactéries bioactives en utilisant des écosystèmes peu exploités.

Le tableau 3 représente la liste des antibiotiques produits par diverses actinobactéries avec une excellente application antimicrobienne (Tableau 3).

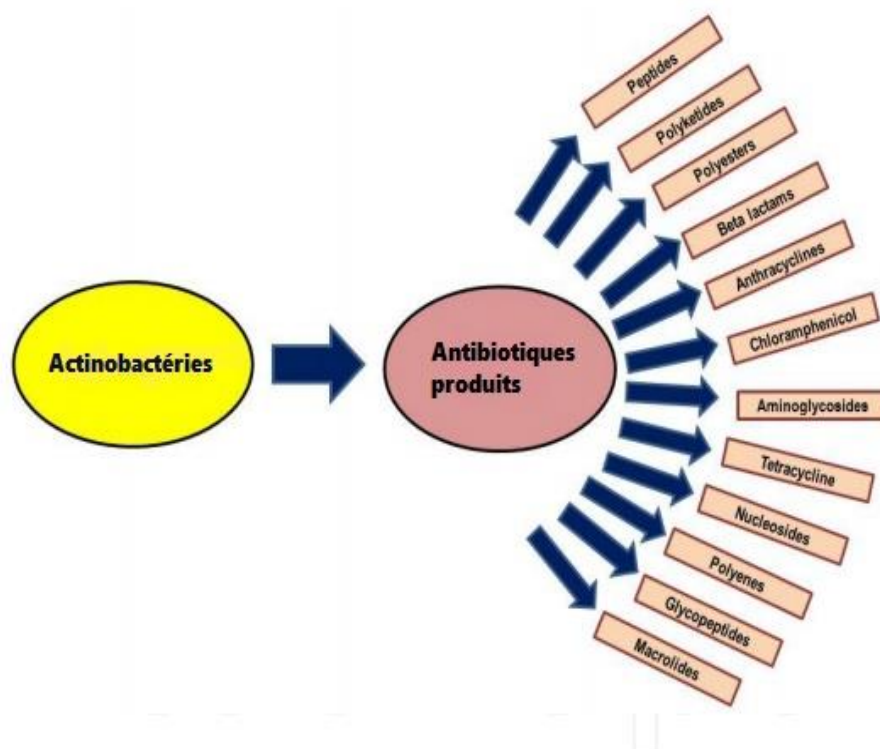


Figure 13 : Liste des antibiotiques produits à partir des actinobactéries (Anandan *et al.*, 2016) .

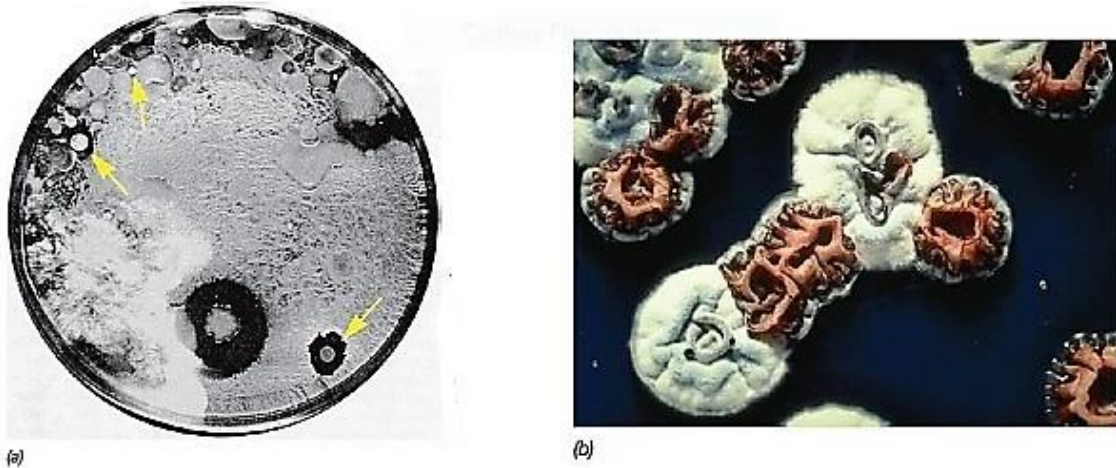


Figure 14 : Antibiotiques produits par *Streptomyces*. (a) Action antibiotique des micro-organismes du sol .Les plus petites colonies entourées de zones d'inhibition (flèches) sont des streptomycètes; les colonies plus grandes et étalées sont des espèces *Bacillus*, dont certaines produisent également des antibiotiques.(b) L'undécylprodigiosine, un antibiotique de couleur rouge, est excrétée par des colonies de *S. coelicolor* (**Eranga Jayashantha ,2015**).

Tableau 3 :Exemples des antibiotiques produits par les actinobactéries .

Antibiotique	Espèce productrice	Action	Références
-1,8-Dihydroxy-2-methoxy-3-methyl-; anthraquinone	<i>Streptomyces</i> sp	Antitumeur	-(Ranjani Anandan et al.,2016)
-1-Hydroxy-1-norresistomycin	<i>Schisandra chinensis</i>	Aticancéreux	-(Ranjani Anandan et al .,2016)
-Chloramphenicol	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Antibactérien, inhibiteur de protéines biosynthèse	-(Ranjani Anandan et al., 2016)
-Daryamides	<i>Streptomyces</i> sp	Anticancéreux, Antifongique	-(Ranjani Anandan et al.,2016)
-Streptomycine	<i>S. griseus</i>	-Antibactérien.	-(Lee et al., 2018)
-Grixazone B		-Produit comme parasiticide à basse température disponibilité	-(Arakawa , 2018) -(Tsujiimoto et al., 2016)

		phosphate.	
-Lankacidin C	<i>S. rochei</i>	-Antibactérien	- (Lu et al., 2018)
-Lankamycine		-Antibactérien -Antitumeur	- (Lu et al., 2018)
- Avermectines	<i>S. avermitilis</i>	- Antimicrobien - Antiparasitaire - Pesticide	-(Cheng et al.,2018), - (Choi et al.,2018), - (Rath et al.,2018), -(Zhang et al.,2015)
-Acide clavulanique -Céphamycine C	<i>S. clavuligelus</i>	-Antibactérien	-(Flores-Gallegos et Nava-Reyna (2019), -(Romero Rodríguez et al .,2018)
-Actinorhodin -Prodiginines -Albaflavenone	<i>S. coelicolor</i>	-Antibactérien -Antibactérien -Antibactérien	- (Čihák et al., 2017), - (Gao et al., 2012), -(Huang et al., 2001), -(Moore et al., 2012)
-Acide clavulanique - Céphamycine C	<i>S. venezuelae</i>	-Antibactérien	-(Cytryn et al., 2017), - (Mousa et Raizada 2015), - (Thanapipatsiri et al., 2016)
- Monensin	<i>S. cinnamomensi</i>	-Agent favorisant la croissance -Herbicide	-(AlMatar et al.,2017), -(Zhang et al., 2016)
-Tétracyclines	<i>S. rimosus</i>	-Antibactérien	- (Lee et al., 2015), -(Petković et al.,2017)
-Auréomycine	<i>S. aureofaciens</i>	-Antibactérien	- (Francis, 2017)

3.8.2 Antifongiques

Les actinobactéries ont été reconnues comme l'un des principaux microbes antagonistes contre certains agents pathogènes des plantes en raison de leur capacité à sécréter des composés métaboliques, qui inhibent la croissance des agents pathogènes en se faisant concurrence pour les nutriments. Les actinobactéries produisent des antibiotiques dans la région de la rhizosphère et contribuent ainsi à inhiber la croissance des pathogènes fongiques, ce qui à son tour favorise une colonisation efficace de la rhizosphère. Par exemple, les antibiotiques méthylvinylcétone produits par les actinobactéries modifient la morphologie des champignons pathogènes et finissent par les tuer. Le genre *Streptomyces* a été largement exploité pour la production d'antibiotiques et a révélé une activité antagoniste contre *Pythium aphanidermatum*, *Alternaria* sp, *Colletotrichum higginsianum*, *Fusarium oxysporum* et *Acremonium lactucum* (Hong et al., 2002).

Selon Molano et al. un antibiotique actinomycine, synthétisé par *Nocardia* sp. ont montré une inhibition in vitro contrairement à *Fusarium oxysporum* isolé à partir d'un échantillon de sol de rhizosphère. Les agents antifongiques produits par les actinobactéries présentent une activité à large spectre contre les champignons pathogènes des plantes. Un métabolite antifongique, la Mildiomycine, isolé de *Streptoverticillium rimofaciens*, inhibe la biosynthèse des protéines fongiques et est intensément actif contre l'oïdium sur diverses cultures. Le principal site d'action de ces fongicides est la localisation de la synthèse de la chitine dans les parois cellulaires fongiques. Des exemples de certains agents antifongiques actinobactériens et de leurs fonctions sont présentés dans le (tableau 4) .*Streptomyces lydicus* WYEC 108 produisant un biofongicide soluble dans l'eau a été autorisé par Natural Industries Inc., TX, USA et enregistré comme Actinovate soluble en 2004 et il contrôle efficacement certaines maladies courantes transmises par le sol et les feuilles.

Tableau 4 : Agents antifongiques actinobactériens et leurs modes d'action.

Les agents antifongiques	Espèce productrice	Action	Références
Actinomycins	<i>Streptomyces anulatus</i>	Inhibition de la synthèse des protéines.	(Bister <i>et al.</i> ,2004)
Validamycin	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Inhibition d'enzyme tréhalase.	(Iwasa <i>et al.</i> ,1970)
Tetracenomycin	<i>Streptomyces canus</i>	Inhibe la réplication de l'ADN .	(Zhang <i>et al.</i> ,2013)
Nikkomycin	<i>Streptomyces tendae</i>	Inhibe la synthèse de la chitine	(Bormann <i>et al.</i> ,1985)
Galbonolides	<i>Streptomyces galbus</i>	Inhibe la biosynthèse des sphingolipides	(Fauth <i>et al.</i> ,1986)
Candididin	<i>Streptomyces griseus</i>	Targets ergosterol in fungal membrane	(Acker <i>et Lechevalier</i> , 1954)

3.8.3 Enzymes

Une grande variété d'enzymes biologiquement actives sont produites par des actinobactéries marines et terrestres (tableau 5). Les actinobactéries sécrètent des amylases à l'extérieur des cellules, ce qui aide pour effectuer la digestion extracellulaire. Cette enzyme a une application importante en biotechnologie telles que l'industrie alimentaire et les industries (Pandey A *et al.*, 2000).

Un autre aspect important des actinobactéries est la production des cellulases, qui sont une collection d'enzymes hydrolytiques qui hydrolysent les liaisons glucosidiques de cellulose et dérivés cello-digosaccharides apparentés.

La lipase est produite à partir de divers actinobactéries, bactéries et champignons et est utilisée dans les industries des détergents, des denrées alimentaires, des oléochimies, paramètres de diagnostic, et aussi dans les industries des domaines pharmaceutiques (Schmid RD et Verger R , 1998).

Beaucoup d'*Actinobacteria* ont été isolées de diverses sources naturelles, ainsi que dans les tissus végétaux et lessols. Les fonctions biologiques des actinobactéries dépendent principalement des sources à partir desquelles les bactéries sont isolées. Les actinobactéries, en particulier les streptomycètes, sont connues pour sécréter les protéases dans le milieu de culture (Sharmin S *et al.*, 2005). De même, les actinobactéries représentent une excellente ressource pour la L-asparaginase, qui est produite par une gamme d'actinobactéries, principalement ceux isolés des sols, tels que *S. griseus*, *Streptomyces karnatakensis*, *Streptomyces albidoflavus* et *Nocardia* sp (Dejong PJ, 1972) et (Narayana KJ *et al.*, 2008). Les racines et les rhizomes de plusieurs plantes médicinales thaïlandaises telles que le citronnelle (*Cymbopogon citratus*) et le gingembre (*Zingiber officinale*) ont longtemps été utilisés en médecine traditionnelle pour les maux d'estomac et le traitement de l'asthme. Le Sol rhizosphérique de ces plantes peut être une source actinobactérienne attrayante, qui a la capacité de produire de nouveaux métabolites. Des enzymes telles que la catalase, la chitinase et l'uréase sont également produites à partir d'Actinobactérie.

Tableau 5 : Enzymes et leurs applications industrielles (Anandan *et al.*, 2016) .

Enzyme	Actinobactéries	Utilisation	Secteur d'application
protéase	<i>Thermoactinomyces</i> sp	Détergents	Détergent
	<i>Nocardiopsis</i> sp,	Fabrication de fromage	Aliments
	<i>Streptomyces pactum</i> ,	Clarification	Brassage
	<i>Streptomyces</i> ,	Dehiding	Cuir
	<i>Streptomyces</i> sp	Traitement du caillot de sang	Médecine
Cellulase	<i>Streptomyces</i> sp , <i>Thermobifida</i> <i>halotolerans</i> ,	Enlèvement des taches	Détergent
	<i>Streptomyces</i> sp.,	Finition des jeans	Textile
	<i>Thermomonospora</i> sp,	Ramollissement de coton	
	<i>Streptomyces ruber</i>	Désencrage, modification de fibres	Papier et pâte
Lipase	<i>Streptomyces griseus</i>	Enlèvement des taches	Détergent
		Stabilité et conditionnement de	Pâtisserie

		pâte	
		Arôme de fromage	Laitier
		Désencrage, nettoyage	Textile
Xylanase	<i>Actinomadura</i> sp., <i>Streptomyces</i> spp.	Digestibilité	L'alimentation animale
		Blanchissement	Papeterie
Amylase	<i>Streptomyces</i> sp., <i>Streptomyces erumpens</i> ,	Détachant	Détergent
	<i>Nocardiopsis</i> sp, <i>Thermobifida fusca</i> ,	Douceur du pain et volume	Cuisson
	<i>Nocardiopsis</i> sp	Drainage,désencrage,amélioration	Papeterie
		Production de glucose etsirops de fructose	L'industrie de l'amidon
		Élimination de l'amidon des tissus	Textile
Pectinase	<i>Streptomyces lydicus</i>	Clarification , purée	Boisson
		Récurage	Textile
Glucose oxidase	<i>Streptomyces coelicolor</i> ,	Renforcement de la pâte	Cuisson
Keratinase	<i>Nocradiopsis</i> sp. SD5	Dégradation des plumes	L'alimentation animale
Phytase	<i>Streptomyces luteogriseus</i> R10	Digestibilité des phytates	L'alimentation animale

*Revue
expérimentale*

I. Matériel et méthode

1 Echantillonnage

Un échantillonnage représentatif se doit de garantir que l'analyse de l'échantillon, ou du groupe d'échantillons, reflète le niveau de concentration des microorganismes en question dans le sol rhizosphérique prélevé. Les racines des arbres doivent être dégagées, puis 100g du sol fermement lié aux racines sont prélevés (**Yilmaz et al., 2008**). L'échantillon trié est placé dans un flacon stérile et transporté au laboratoire.

2 Isolement des actinobactéries

2.1 Préparation des dilutions et isolement

La préparation des suspensions mère par l'introduction de 10g de l'échantillon dans un flacon contenant 100ml d'eau physiologique stérile.

- L'isolement des actinobactéries se fait par l'utilisation des milieux sélectifs. Généralement, les chercheurs utilisent le milieu gélosé Olson (**Annexe 1**) additionné d'un antifongique, la nystatine (50 µg/l) et d'un antibactérien Gram (-) la polymyxine (20µg/l).
- Des dilutions décimales de 10^{-1} jusqu'à 10^{-7} sont préparées à partir des solutions mères. Par la suite, 0,1 ml de chaque dilution est étalé sur le milieu Olson précédemment stérilisé et coulé dans des boîtes de Pétri stériles. Ces dernières sont, alors incubées à 30 °C et observées après deux, trois et quatre semaines d'incubation.
- À l'aide d'un microscope optique, les colonies d'actinobactéries peuvent être repérées d'après leur aspect macroscopique caractéristique. Les colonies possédant un aspect typique aux actinobactéries sont purifiées sur milieu Yeast Malt Extract Agar (YMEA) + CaCO₃ (**Annexe 1**). Les isolats purs d'actinobactéries sont conservés, d'une part, dans le milieu YMEA coulé dans des tubes à essai inclinés avant solidification puis mis à +4 °C et d'autre part dans un milieu liquide ISP2 (**Annexe 1**) dans des tubes eppendorf additionnés de glycérol à raison de 20% (v/v) puis les tubes sont conservés à -20 °C .

3 Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries

3.1 Activité antibactérienne

Dans le but de réaliser un screening des souches actives, plusieurs protocoles pour le test de l'activité antibactérienne ont été utilisés. Généralement ces tests se réalisent contre des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 2592 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633) et contre des bactéries à coloration de Gram négatives (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, et *Escherichia coli* ATCC 25922).

3.1.1 Standardisation des inocula

Pour utiliser une charge identique pour tous les microorganismes cibles, il est nécessaire de standardiser tout les inocula. A partir d'une culture de 18h sur milieu Muller Hinton (**Annexe 1**), une suspension dans l'eau physiologique de chaque bactérie cible est préparée. La densité cellulaire de chaque suspension est ajustée par dilution dans de l'eau physiologique stérile est en comparaison avec la solution 0,5 McFarland (une densité optique égale à 0,5 à 650 nm) (**Annexe 2**), de façon à obtenir une concentration finale de 10^6 UFC/ml après incorporation dans le milieu (**Cavalla et Eberlin, 1994**).

La standardisation des champignons est effectuée par la méthode de suspensions dilutions par mesure de la densité optique ($DO = 0,5$) avec un spectrophotomètre (Shimadzu UVmini. 1240) à différentes longueurs d'onde selon le germe. Le dénombrement des spores est effectué à l'aide de la cellule de Malassez, La charge de l'inoculum utilisée est de 10^7 spores /ml (**Billerbeck et al., 2002 ; Matan et Matan, 2008**).

3.1.2 Technique de striés croisés

Cette méthode préconisée par **Boubetra et al., (2013)** consiste à ensemencer la souche d'actinobactérie en un seul trait a la surface de milieu solide ISP2 et en bordure de la boite de pétri. Après incubation de l'actinobactérie pendant 10 jours a 28C°, les microorganismes cibles sont ensemencés perpendiculairement a la strie longitudinale de la souche d'actinobactéries (figure15) .La lecture de résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition entre la bordure de l'actinobactérie et la souche cible après 24 heures d'inhibition Pour les bactéries et 48 h et 72h respectivement pour les champignons.

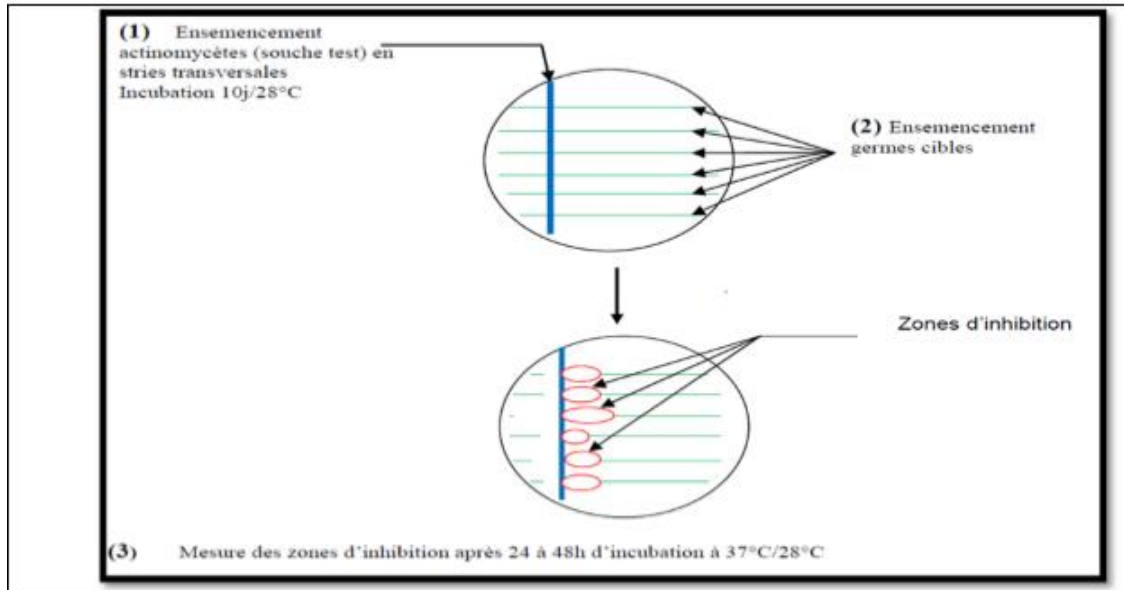


Figure15 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne sur une milieu ISP2 par la technique de stries croisées (Boubetra *et al.*, 2013).

3.1.3 Technique des cylindres agar

Les isolats d'actinobactériés sont ensemencés en strie serré à la surface du milieu ISP2 et incubés à la température de 28 °C pendant 14 jours. Des cylindres de 5 mm de diamètre sont alors prélevés à l'emporte-pièce et déposés à la surface du milieu Muller-Hinton préalablement ensemencé par les bactéries tests. Les boîtes pétris sont ensuite placées à 4 °C pendant quatre heures pour permettre une diffusion des substances et après elles sont incubées à la température de 37 °C pendant 24 heures. Les zones d'inhibition formée autour des cylindres sont alors mesurées (Pazhanimurugan *et al.*, 2012) (figure 16).

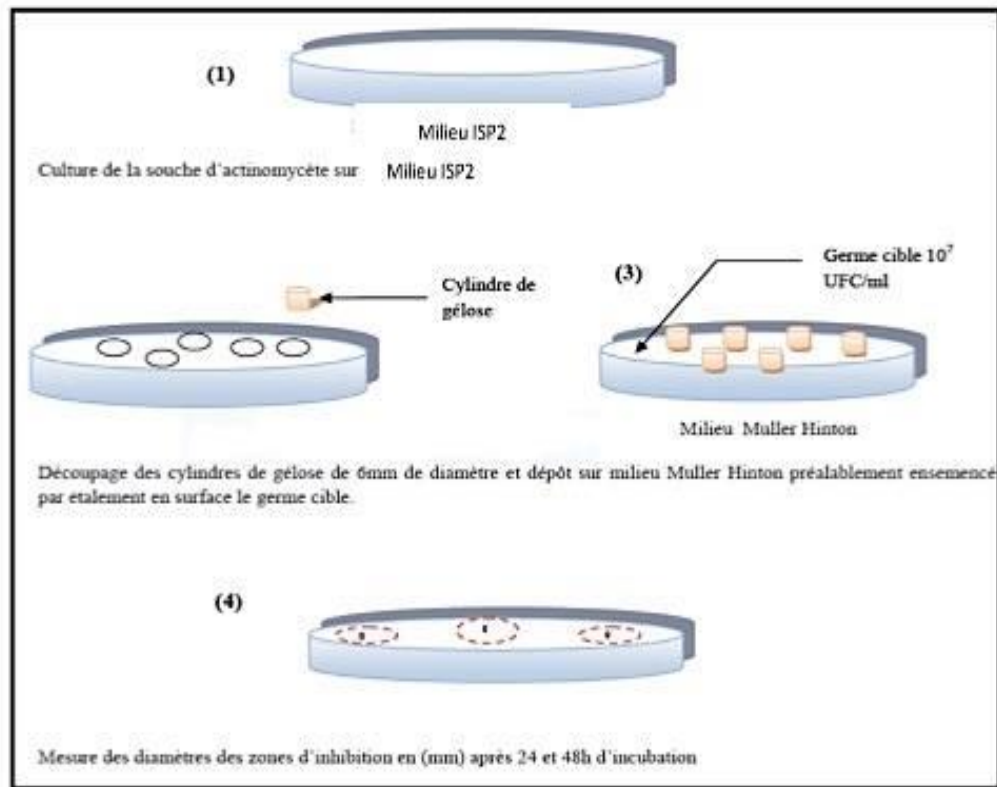


Figure 16 : Mise en évidence de l'activité d'antibiotique de l'isolat d'actinobactérie sur milieu Muller-Hinton par la méthode des cylindre d'agar (Bastide *et al.*, 1986).

3.2 Activité antifongique

La capacité des isolats d'actinobactéries à inhiber le développement des moisissures phytopathogènes ou pathogène (exemple *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Alternaria* sp) se détermine sur milieu Potato Dextrose Agar PDA (Annexe 1), en utilisant la technique des cylindres d'agar. Un disque de 6 mm de diamètre issu d'une culture pure de l'agent phytopathogène ou pathogène est déposé au centre de la boîte. Ensuite, des disques de l'actinobactérie sont placés parallèlement et autour à une distance de 3 cm du disque de champignon. Ces boîtes sont incubées à 30 °C pendant 14 jours. Des boîtes contenant juste le disque de champignon sont incubées dans les mêmes conditions, elles servent de contrôles (Tour *et al.*, 2004). Après les périodes d'incubation, l'évaluation de l'inhibition est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition (I%) de la croissance mycélienne selon la formule suivante $I\% = (C-T/C) \times 100$ où C: la croissance de la moisissure dans la boîte contrôle; T : croissance de *F. oxysporum* ou *A. niger* en présence des souches étudiées.

4 Solubilisation des phosphates

La méthode décrite par Gaur (1990) permet d'évaluer la capacité de solubilisation des phosphates sur milieu Pikovskaya (PVK) (**Annexe 1**) contenant du $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ comme source de phosphate (Pikovskaya, 1948).

4.1 Solubilisation des phosphates sur milieu solide : test qualitatif

Un volume de 10 μl de suspensions bactériennes issues de pré cultures fraîches, est déposé à la surface du milieu PVK solide additionné de bleu de bromophénol (**Pikovskaya, 1948**). Après incubation à 28 ± 2 °C pendant 7 jours, le diamètre de la colonie et de l'halo qui l'entoure ont été mesurés. L'indice de solubilisation est calculé par la formule suivante :

$$\text{IS(\%)} = \frac{\text{Diamètre de l'halo (mm)} - \text{diamètre de colonie la}}{\text{Diamètre de la colonie (mm)}} * 100$$

4.2 Solubilisation des phosphates en milieu liquide : test quantitatif

Les isolats ayant présenté un indice de solubilisation élevé ($\text{IS} \geq 2$) à l'issue du test qualitatif, sont soumis à un test quantitatif. Pour chacun des isolats investis, un volume de 50 ml du milieu NBRIP(**Annexe1**) liquide est inoculé avec 200 μl de suspension bactérienne fraîche et les tubes sont incubés à 28 ± 2 °C pendant 7 jours sous agitation modérée de 180rpm (**Rfaki et al., 2015**). Ensuite, les cultures sont centrifugées à 10.000 rpm pendant 10 min (**Dipaket et al., 2016**) et le surnageant est utilisé pour la quantification du phosphore solubilisé, par colorimétrie à 890 nm (**Harwood et al., 1969**). la quantité de phosphate (**p**) solubilisé est déterminé en soustrayant la quantité de P soluble du témoin (milieu non inoculé) de la quantité de P soluble contenu dans le surnageant des milieux inoculés avec les isolats.

5 Production et dosage de l'auxine

5.1 Préparation de l'inoculum

La production des auxines est réalisée sur le bouillon nutritif ou le bouillon ISP2, supplémentés de L-tryptophane (1g/L) (**Penrose et Glick, 2003**).

Des suspensions actinobactériennes de 108 cellules/mL sont établies à partir des pré-cultures de 24 heures, en ajustant l'absorbance de ces suspensions (entre 0,8 à 0,12) à une longueur d'onde $\lambda = 650$ (Kumar 2010). Un volume de 100 μL des suspensions actinobactériennes est utilisé pour inoculer 20 mL du bouillon de fermentation contenu dans des tubes Falcon de 50 mL. Les tubes sont incubés à 30°C avec une agitation permanente de 180 rpm pendant 72 heures (Cherif, 2014).

5.2 Production d'Acide Indole Acétique (AIA)

Pour évaluer la synthèse d'IAA, des souches actinobactériennes sont inoculées dans des flacons Erlenmeyer contenant 50 ml de bouillon extrait de levure-tryptone (YT) (HiMedia), complétés avec 5 mg ml⁻¹ de L-tryptophane, et conservés dans un agitateur incubés (200 tr / min, 30 ° C, 5 jours). Les flacons contenant le bouillon de culture sont ensuite été centrifugés à 4000 rpm pendant 30 min. Une concentration équimolaire de réactif Salkowski (1 ml 0,5 M FeCl₃ dissous dans 50 ml 35% HClO₄) (Annexe 3), est ajoutée à 2 ml de surnageant. Le mélange est incubé dans l'obscurité pendant 30 min et l'apparition de la couleur rose a indiqué la production de composés d'indole. La production d'IAA a ensuite été confirmée par chromatographie sur couche mince (TLC) tel qu'utilisé par Ahmad, **Ahmad et Khan (2005)**. L'absorbance est mesurée dans un spectrophotomètre à 530 nm et la concentration d'IAA est calculée en utilisant une courbe standard d'IAA pure (**Goudjal et al., 2013**).

6 La production de sidérophore

6.1 Production de sidérophores sur milieu solide

La production des sidérophores a été testée en utilisant la gélose Czapek sans fer (**Annexe 1**). Les isolats bactériens ont été ensemencés par spot, puis incubées à 30°C pendant 7 jours. Ensuite, les cultures bactériennes ont été superposées par 15 mL de la gélose fer/Chrome azurol S (CAS) (**Annexe 1**) (**Pérez-Miranda et al., 2007**). Les halos orange formés autour des colonies sur la gélose bleue après incubation à température ambiante ont été considérés comme révélateurs de la production des sidérophores (**Sánchez-Cruz et al., 2019**).

6.2 Production des sidérophores sur milieu liquide

Le milieu King B liquide (**Annexe1**), étant donné sa composition exempte de fer, est préconisé pour mettre en évidence la production des sidérophores. Le milieu estensemencé par 100 µl des cultures et incubé à 30°C / 3jours. Les cultures sont centrifugées à 5000 rpm /20min puis 500 µl du surnageant sont mélangés à 500 µl de la solution CAS incubé 30 min à l'obscurité. La couleur virera du bleu à l'orange selon le taux de production des sidérophores.

La DO est mesuré par spectrophotométrie à 630nm. Le principe est que le milieu de culture possède initialement une couleur bleue due au complexe fer-CAS (**Annexe 1**) hexadécyltriméthylammonium (complexe Fer/CAS/HDTMA) qui vire au rouge-orangé suite au déplacement du fer par le sidérophore produit par le microorganisme. Cette compétition pour le fer se fera au profit du sidérophore formant ainsi le ferri-sidérophore de couleur rouge-orangé (**Cherif, 2014**).

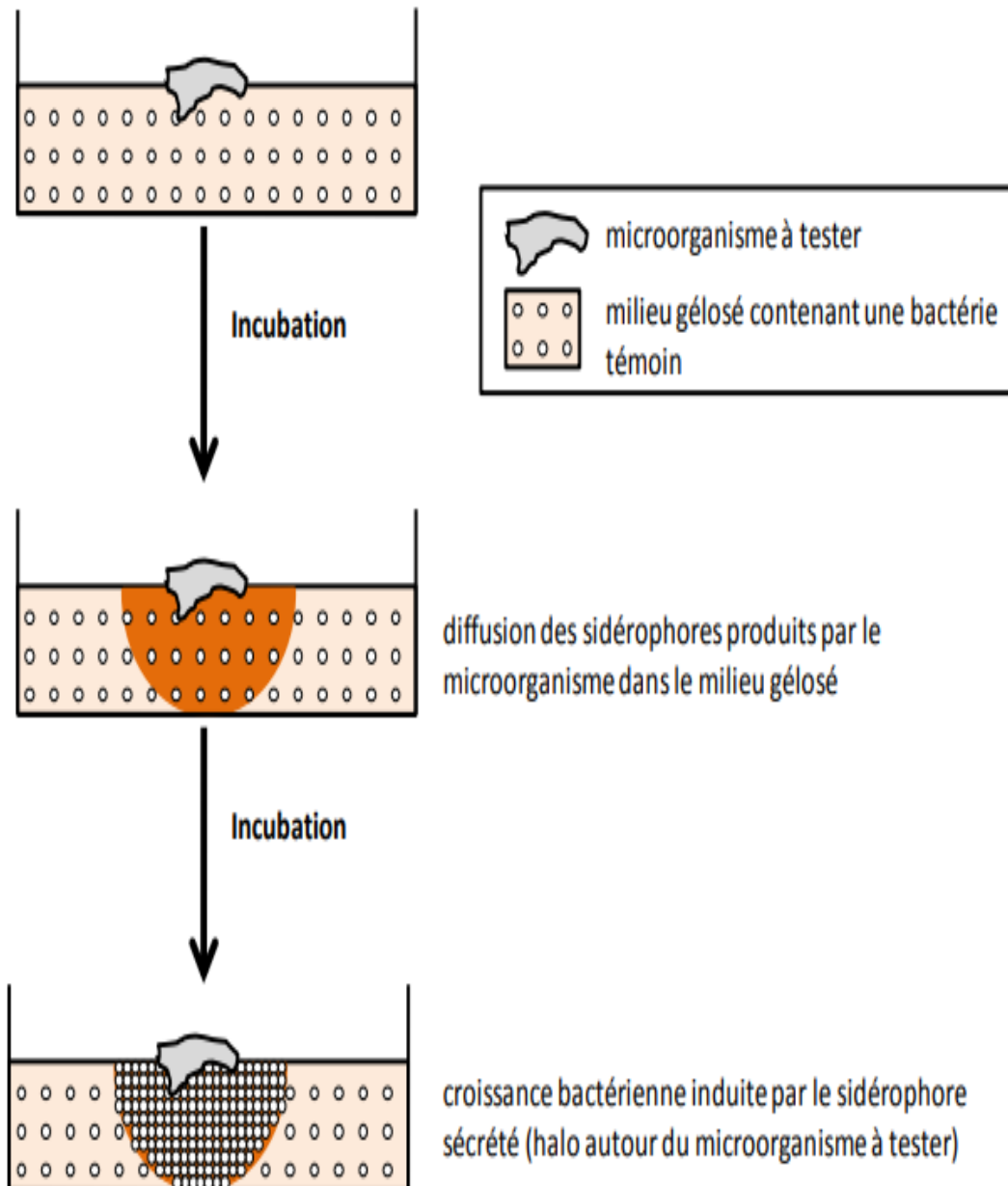


Figure 17 : Test biologique en milieu gélosé pour la mise en évidence de la production de sidérophores (Samuel *et al.*, 2009).

II. Résultats et discussion

1. Isolement et purification des actinobactéries à partir d'un sol rhizosphérique

Les actinobactéries sont des micro-organismes capables de coloniser différents écosystèmes grâce à leur caractéristique compétitive. Le nombre des actinobactéries est très différent d'un site à un autre et qui peut être influencé par la disponibilité de la matière organique essentielle pour leur croissance.

En Algérie, plusieurs études portant sur l'isolement des actinobactéries, la taxonomie des souches isolées et l'étude des antibiotiques secrétés, ont été réalisées (**Lamari et al., 2002 ; Zitouni et al., 2005**).

Parmi ces travaux, l'étude de (**Leulmi et al., 2018**) qui ont pu récolté 99 souches d'actinobactéries. L'isolement des actinobactéries a été réalisé à partir d'un sol rhizosphérique et d'un sol montagneux provenant de la région de Khenchela et du sol environnant la Sebkhha (wilaya de Oum El Bouaghi). Cette variation des sites de prélèvement a pour but d'augmenter les chances d'isolement d'actinobactéries possédant, éventuellement, un potentiel élevé de production de molécules bioactives.

L'addition au milieu d'isolement des substances inhibitrices tels que la nystatine et la polymexine (figure 18) permet de stopper la croissance des germes envahisseurs et de diminuer fortement le nombre de bactéries non mycéliennes indésirables (**Leulmi et al., 2018**).



Figure 18 : Aspect sur milieu solide *YMEA* + CaCO_3 des isolats purs d'actinobactéries (**Leulmi et al., 2018**).

Ce nombre obtenu par **(Leulmi et al., 2018)** est considéré petit en comparaison avec celui obtenu par **(Bouaziz et al., 2018)** qui ont isolés un totale de 112 d'actinobactéries d'écosystèmes différents à partir de trios solsrhizosphériques de la région de Ouargla (Sud Est de l'Algérie).

Ces deux travaux ont montré que les sols arides et semi arides, représentent un écosystème particulier, renferment un potentiel assez riche d'actinobactéries tant du point de vue quantitatif de biodiversité et d'activité antimicrobienne **(Sabaou et al., 1998)**.

D'après les résultats de **(Bouaziz et al., 2018)**, il apparaît que le nombre des souches d'actinobactéries isolées à partir des milieux additionnés d'antifongiques est nettement supérieur à celui des milieux sans antifongique. Ce qui confirme que l'addition d'antifongique aux milieux de culture réduit la prolifération des champignons au profit des bactéries actinomycétales **(Takizawa et al., 1993)**.

Cependant, sur un lot de cinquante-cinq souches d'actinobactérie isolées à partir d'échantillons de sol aride prélevés dans la région de Biskra, dix souches à structure filamenteuse ont été purifiées par **(Reghioua et al., 2006)**. Ces souches sont connues par leur morphologie caractéristique qui les distingue des autres microorganismes. Elles sont très souvent pigmentées, d'aspect compact, sec, lisse ou rugueux, quelques fois en forme de chou-fleur ou sous forme de cratère.

Selon la littérature, l'utilisation du milieu amidon-caséine est très recommandé pour la purification des actinobactéries car il contient de l'amidon et de la caséine qui par leur présence rendent les milieux de culture moins favorables à la croissance des autres bactéries. Aussi l'addition de nystatine à raison de 50 µg/ml de milieu de culture s'est montrée efficace pour l'élimination des champignons qui gênent par leur développement en entravant le développement des actinobactéries. Plusieurs auteurs, à juste titre, considèrent que l'emploi de substances antifongiques est une précaution essentielle dans l'isolement des actinobactéries **(Suzuki et al., 2001)**, et cela correspond au résultat précédent de **(Bouaziz et al., 2018)**.

La présence d'acide nalidixique à raison de 25 µg/ml de milieu de cultures est avérée efficace pour l'élimination des bactéries à coloration de Gram négative selon **(Reghioua et al., 2006)**.

2. Activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne des souches d'actinobactéries est mise en évidence par plusieurs méthodes (méthodes de diffusion en gélose, technique de double couche,...) vis-à-vis de plusieurs souches bactérienne test (exemples *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*). L'une des caractéristiques des actinobactéries est leur capacité à ralentir et /ou d'inhiber l'activité et la croissance des bactéries et des champignons pathogènes et phytopathogènes (**Harir et al., 2018**).

Dans cette optique et d'après l'analyse des résultats obtenu par la littérature, quatre-vingt anse (91) isolat d'actinobactéries ont été collectés par (**Saker et al., 2015**) à partir de sols de quatre région différent M'zab, Biskra, M'sila et de Boughezoul (Médéa) en Algérie. Cette population actinobactérienne présente une diversité culturelle (aspect ; couleur et diamètre des colonies et quantité de mycélium aérien) et morphologique (sporulation et présence du mycélium aérien et mycélium du substrat et fragmentation ou non de ce dernier).

Le pouvoir antagonistes de ces 91 actinobactéries des sols est effectué par la méthode des cylindres d'agar vis-à-vis des microorganismes (bactéries, levures et champignon filamenteux) dont la plupart sont pathogènes ou encore phytopathogènes. Les résultats montre que 69(75.8%) souches sur les 91 testées ont une activité antibiotique contre au moins un microorganisme cible. Les souches actives ont inhibées surtout les champignons filamenteux et les levures. En effet Les 69 souches actives ont toutes une action antifongique, dont 47 (45%) essentiellement antifongique et 22 (24%) à la fois antifongique et antibactérienne. Ce pourcentage des souches actives est inférieur par rapport à celui obtenu par (**Leulmi et al., 2018**).

L'activité antimicrobienne de ces souches d'actinobactéries isolé et purifié a été mise en évidence par la technique de cylindre d'agar .d'après (**Leulmi et al., 2018**), les résultats montre que sur les 65 souche d'actinobactéries 95% d'entre elles ont présenté une activité antibactérienne et/ ou antifongique vis-à-vis au moins de l'une des souches cibles. Et, seulement 24% des isolats ont inhibé, au moins, la croissance du mycélium d'un champignon phytopathogène. En outre, les résultats de ce screening aussi est plus élevés en comparaison à celui obtenu par (**Belyagoubi et al., 2014**) qui a pu récolter cent-huit (108) actinobactérie à partir des sols prélevés de différente sites de Tlemcen et Laghouat en Algérie.

L'analyse de résultats obtenus dans cette étude indique que l'activité antibactérienne des actinobactéries par la technique des cylindres d'agar, représentent un pourcentage de 31,2% (33) pour les souches isolées de Laghouat et 54,5% (58) pour les souches isolées de Tlemcen, alors que l'activité antifongique occupe un taux de 37,5% (34) pour les souches isolées de Laghouat et 18,2% (16) pour celles isolées de Tlemcen.

La variabilité de l'activité antimicrobienne observée entre ces différents sols rhizosphériques peut être justifiée par la variabilité de la profondeur des prélèvements des sols rhizosphériques, de même il est déjà connu que la charge microbienne du sol change avec le changement de la profondeur (Kremer, 2019). D'un autre côté et d'après (Kattere et Andren, 2001), le nombre et l'activité des microorganismes changent d'une région à une autre, influencé par le contenu de matières organiques du sol, la texture du sol, le pH, l'humidité, la température, l'aération et d'autres facteurs.

3 Solubilisation de phosphate

Selon (Khan *et al.*, 2016), la solubilisation du phosphate inorganique est un autre mécanisme par lequel les actinobactéries jouent un rôle important dans la promotion de la croissance des plantes. La croissance globale des plantes est affectée par la disponibilité des éléments nutritifs essentiels des plantes, comme le phosphore (P) (Hamdali *et al.*, 2008).

Le bouillon de Pikovskaya amendé avec $(Ca_3 (PO_4)_2)$, $(FePO_4)$ ou $(AlPO_4)$, comme sources de Phosphate inorganique ont été utilisés par (Boukayaa N *et al.*, 2018) pour mettre en évidence la capacité de solubilisation du phosphate des souches d'actinobactéries. Les résultats donnés montrent que toutes les actinobactéries testées ont bien poussés sur les trois milieux de Pikovskaya, et qu'elles ont dissous le phosphore des sources de phosphate tricalcique et de phosphate d'aluminium.

Plusieurs souches bactériennes, fongiques et actinobactériennes se sont révélées solubilisantes le phosphate organique. Ils convertissent les formes insolubles de phosphate, comme le phosphate tricalcique $(Ca_3 (PO_4)_2)$, le phosphate d'aluminium $(AlPO_4)$ et le phosphate de fer $(FePO_4)$, aux formes solubles de phosphore (Khan *et al.*, 2014).

Ces résultats sont en accord avec les résultats de (Franco *et al.*, 2010), qui ont signalé des activités élevées des actinobactéries qui possèdent la capacité de solubiliser du phosphate. (Franco *et al.*, 2010) indiquent que la plupart des souches d'actinobactéries

testées semblent avoir la capacité de solubiliser des sources de P inorganique peu disponibles ou de minéraliser du P à partir des sources de P organique dans le sol. En fait, 70% d'entre eux solubilisé le P inorganique dans le milieu PVK.

Ce résultat est largement supérieur à celui observé par plusieurs autres études tel que les résultats de (**Anwar et al., 2016**) qui montre que parmi les (98) isolats sélectionnés six souches (6%) d'actinobactérie étaient pour solubiliser le phosphate en produisant des zones claires autour des colonies après 7 jours d'incubation.

On conclure que, la grande aptitude des isolats d'actinobactéries à solubiliser le phosphate inorganique peut être liée à l'adaptation au milieu extrême qui exprime des teneurs faibles en phosphate libre. En fait, le phosphate en milieu salin se précipite avec Ca^{+2} et il devient inaccessible pour l'utilisation par les microorganismes et/ou les plantes (**Singh et Singh, 2013**).

Pour répondre, les microorganismes développent leurs aptitudes à la solubilisation du phosphate par plusieurs mécanismes, tels que la libération des acides organiques, conduisant ainsi à l'acidification du milieu et donc l'accumulation des protons H^+ qui se complexent avec les ions Ca^{2+} , permettant la libération du phosphate (**Illmer et Schinner, 1995**). Un autre mécanisme utilisé par les microorganismes pour la solubilisation du phosphate est la production des enzymes telles que la phosphatase (**Taktek et al., 2017**).

4 La production des auxines

Les auxines sont des phytohormones qui induisent la formation des poils racinaires et des racines latérales et augmentent la capacité des plantes à absorber les nutriments à partir du sol. Selon la littérature, les auxines produites par les souches d'actinobactéries isolées et sélectionnées promotrices de la croissance de plantes sont révélées par l'utilisation du réactif de Salkowsky. La production de l'acide indole acétique est réalisée à partir de différentes voies métaboliques. La présence de l'indole dans le milieu de culture, est fortement liée à l'intensité de la coloration rose, due principalement au réactif de Salkowsky.

La majorité des actinomycètes PGPR synthétisent l'IAA (acide indole acétique), qui est responsable de l'augmentation du nombre de racines adventives qui aident la plante à absorber

un grand volume de nutriments et absorber l'eau, tandis que l'augmentation des exsudats racinaires à son tour profite aux bactéries (**El-Tarabily, 2008**).

La synthèse des hormones de croissance des plantes, dont l'AIA est le plus efficace, est une faculté très commune chez les actinobactéries (**Cherif, 2014**).

Sur la base de 98 actinobactéries rhizosphériques qui ont été isolées de différents champs de blé et de tomates, Punjab, Pakistan. (**Anwar et al., 2016**) indiquent que l'analyse qualitative du surnageant de culture d'isolats d'actinobactérie sélectionnés montre que environ 80% des actinobactéries rhizosphériques sont capables à produire l'IAA. Le L-tryptophane est considéré comme le précurseur parce que son adjonction est nécessaire à la production. La production d'IAA est comprise entre 10 et 79,5 µg / ml.

Ces résultats (79.5 ug/ml) de l'IAA ont dépassés le niveau des travaux précédemment rapportés par (Khamna et al., 2009) où la production de l'IAA est de valeur de 28.5ug/ml

(**Khamna S et al., 2009**) représente que sur un lot de 445 isolats d'actinobactéries ont été obtenus à partir des sols de rhizosphère de plantes médicinales, Trente-six (8,1%) des isolats d'actinobactéries ont produit de l'IAA.

5 La production des sidérophores

La production de sidérophores est une autre caractéristique qui stimule la croissance des plantes en formant un complexe avec la forme de fer (Fe³⁺) dans la rhizosphère, rendant le fer indisponible pour les phytopathogènes. Il est suggéré par (**Tan et al., 2009**) que la production de sidérophores est un facteur important pour l'antagonisme des phytopathogènes et le développement de la croissance de la plante.

D'après les résultats de (**Anwar et al., 2016**), parmi 98 actinobactéries 83 (85,7%) des souches testées produisent des sidérophores ayant pour conséquence l'apparition d'un halo orange sur gélose, ces souches jouent probablement un rôle majeur dans la promotion de la croissance des plantes.

Ce résultat est nettement supérieur à celui obtenu par (**Khamna et al., 2009**) qui montrent que parmi les 445 actinobactéries ; La production de sidérophores a été trouvée

dans 45 (27,5%) de tous les isolats d'actinobactéries. Cette production se manifeste par la formation d'un halo orange sur la gélose(CAS) autour des colonies.

Alors que sur un total de 112 isolats d'actinobactéries qui ont été récupérés par (Joanna L, 2011) du sol de deux sites géographiquement distincts en Australie, dont les isolats ont été évalués pour leur capacité à produire des sidérophores pendant leur croissance. Les résultats indiquent que les populations d'actinobactéries des deux sites avaient caractéristiques de production de sidérophores très similaires, avec 15 (17%) et 2 (3%) par le deuxième et le premier site respectivement.

D'après ces résultats on remarque que la majorité des souches isolées à partir de ces différents sols rhézosphériques produisent des sidérophores à des taux très variables. La capacité de production intrinsèque de sidérophore de ces souches d'actinobactéries est sous l'influence des facteurs environnementaux (Valdebinito *et al.*, 2006). Plusieurs facteurs agissent sur la synthèse des sidérophores : le pH, la teneur en fer et les formes d'ions de fer, la présence d'oligo-éléments (Duffy et Defago, 1999). Cependant, sur milieu solide la production est beaucoup moins appréciée que sur milieu liquide. Ceci serait dû à l'inhibition de la croissance des actinobactéries par les composants du milieu de culture ou à la nature du sidérophore produit (Gangwar et Kaur, 2009).

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

L'utilisation des technologies microbiennes dans l'agriculture s'étend très rapidement par l'identification de nouvelles souches bactériennes efficaces dans l'amélioration de la croissance des plantes, les PGPR, (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). En général, les micro-organismes rhizosphériques, exercent sur les plantes divers effets influençant leurs développements en améliorant leurs compétitivités et leurs réponses aux facteurs de stress externes. Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes, ayant de multiples activités dirigées vers la promotion de la croissance des plantes vis-à-vis de l'exposition des potentiels de biorémediation en détoxifiant les polluants tels que, les métaux lourds, les pesticides et le contrôle d'une gamme de phytopathogènes en tant que biopesticides, ont montré des résultats spectaculaires dans différentes études sur les cultures (**Rachel et al., 2018**).

Comme les autres PGPR, les actinobactéries utilisent également des mécanismes directs et indirects pour influencer la croissance et la protection des plantes. Les actinobactéries PGP influencent directement la croissance des cultures de plusieurs manières: la production d'hormones de croissance végétale comprenant l'auxine (acide indole-3-acétique: IAA), les cytokinines, les gibbérellines et l'acide abscisique; fixation de l'azote; et la solubilisation du phosphore, du zinc, du fer et du potassium et donc une disponibilité accrue des nutriments. En dépit de la satisfaction de ces besoins nutritionnels de base, ils favorisent également la croissance des cultures indirectement en produisant l'ACC désaminase, une enzyme anti-stress, et en fournissant une protection contre les attaques d'agents pathogènes et de ravageurs par la production d'antibiotiques tels que le 2,4-diacétylphloroglucinol, la kanosamine, acide phénazine-1-carboxylique, pyolutéorine, néomycine A, pyrrolnitrine, pyocyanine et viscosinamide. La sécrétion de sidérophores permettant la captation du fer, privant les champignons pathogènes du voisinage; la production de métabolites de bas poids moléculaire tels que l'acide cyanhydrique (HCN) qui inhibe le transport d'électrons et donc la perturbation de l'apport d'énergie aux cellules; la production d'enzymes lytiques telles que la chitinase, la β -1,3-glucanase, la protéase et la lipase qui lysent les parois cellulaires fongiques et bactériennes pathogènes (**Gopalakrishnan et al., 2016**).

D'après la littérature, Les actinobactéries présentent une activité à la fois antibactérienne et antifongique contre les bactéries soit Gram positive ou Gram négative et de même contre les champignons pathogènes et phytopathènes. Leurs performances prouvées dans la capacité à produire les sidérophores et à solubiliser le phosphate.

Pour cela, ces bactéries constituent un groupe fort utile en biotechnologie. Leur hétérogénéité, leur diversité écologique et leur exceptionnelle capacité à produire des métabolites importants utilisés dans le monde de la médecine, en raison de leur assistance précieuse pour sauver l'homme contre les maladies infectieuses et aussi dans la lutte biologique contre les maladies des plantes. Egalement, les actinobactéries jouent un rôle vital dans la fertilité du sol et favorise la croissance des plantes.

Au terme de ce travail qui ouvre plusieurs perspectives de recherches consisteraient à :

- ✓ Réalisation des tests d'inoculation in vivo (sur plantes), au laboratoire et sur champs ; pour voir leurs caractères de promotion de la croissance des plantes (direct et indirect);
- ✓ Approfondir les techniques de purification, identification et caractérisation chimique des molécules antifongiques et antibactérienne produites.
- ✓ Faire une étude par GC-MS pour avoir une idée sur la nature des sidérophores produits par les actinobactéries.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Abderrazak, R., Nassiri, L., et Ibjibijen, L.(2014).*Phosphate-Solubilizing Bacteria in the Rhizosphere of Some Cultivated Legumes from Meknes Region, Morocco. Soil and Environment Microbiology Unit, Faculty of Sciences, Moulay Ismail University, Meknes, Morocco British Biotechnology Journal.*4(9): 946-956.

Acker RF, Lechevalier H .(1954). *Some nutritional requirements of Streptomyces griseus 3570 for growth and candicidin production.*Applied Microbiology and Biotechnology . 2:152–157.

Aftab, A., et Asghari., B .(2008).*Rhizobium and Phosphate Solubilizing Bacteria Improve the Yield and Phosphorus Uptake in Wheat (Triticum aestivum).*International Journal of Agriculture and Biology. 10(1):1560-8530.

Alori, E.T., Glick, B.R., and Babalola, O.O. (2017).*Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. Front. Microbiol.*8.

Alvarez A., Saez, J.M., Davila, Costa, J. S., Colin V. L., Soledad Fuentes M., Cuozzo S. A., Benimeli C. S., Polti M. A. Et Amoroso M. J. 2017).*Actinobacteria: Current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals. Chemosphere.*166: 41-62.

Amir, HG, ZH.Shamsuddin, MS. Halimi, M. Marziah MF.Ramlan. (2005).*Enhancement in nutrient accumulation and growth of oil palm seedlings caused by PGPR under field nursery conditions.*Commun SoilSci Plant Anal 36:2059–2066.

Anand, K., Kumari , B., Mallick , M.A.(2016). *Phosphate solubilizing microbes :an effective and alternative approach as biofertilizers.*International journal of pharmacy and pharmaceutical Sciences.8:37-40.

Anandan, R., Dharumadurai, D., et Manogaran, G.P.(2016).*An Introduction to Actinobacteria, Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, Dr. Dharumadurai Dhanasekaran(Ed.).intechopen.DOI:10.5772/62329.Availablefrom: <http://www.intechopen.com/books/actinobacteria-basics-and-biotechnologicalapplications/an-introduction-to-actinobacteria>*

Asari S., Tarkowska, D., Rolcik J., Novak, O., Palmero, D.V., Bejai, S., Meijer J. .(2016).*Analysis of plant growth-promoting properties of bacillus amyloliquefaciens ucmb5113 using arabidopsis thaliana as host plant.*Planta.245(1).

A. Tokiniaina.(1993).*Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des Actinomycètes telluriques cas de la forêt d'ankafobe [en ligne]. Mémoire de recherche pour l'obtention du diplôme d'études approfondies de biochimie. : Sc. de Biotechnologie-Wild,.Soils and the environment.An introduction.281.Pp.In: Cambridge.*

Bastide, B., Lachevalier, M.P., Gordon, RE., Lechevalier, H.A.(1964). Rapid differentiation between *Nocardia* and *Streptomyces* by paper chromatography of whole-cell. *Applied Microbiology*.12(5):421-423.

Belyagoubi, L.(2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de doctorat . Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, 117Pp.

Bertran, S.(2009). Les sidérophores de *Scedosporium apiospermum* : identification, synthèse et applications. Thèse de doctorat . Université D'angers. 46Pp.

Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P., et Marquier P.(2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. Laboratoire de Bactériologie, virologie et microbiologie industrielle. **Hygiène des mains : révolutions, normalisation, globalisation.**N°3.

Bister, B., Bischoff, D., Strobele, M., Riedlinger, J., Reicke, A., Wolter, F., Bull, AT., Zahner, H., Fiedler, HP., Sussmuth, RD. (2004). Abyssomicin C: a polycyclic antibiotic from a marine *Verrucospora* strain as an inhibitor of the *p*-aminobenzoic acid/tetrahydrofolate biosynthesis pathway. *Angewandte Chemie International Edition* 43:2574–2576.

Bloemberg, G., Lugtenberg, B .(2001). Molecular basis of plant growth-promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current Opinion in Plant Biology*.4:343–350.

Bormann C, Huhn W, Zahner H, Rathmann R, Hahn H, König WA.(1985). Metabolic products of microorganisms. 228. New nikkomycins produced by mutants of *Streptomyces tendae*. *The Journal of Antibiotics*.38:9–16.

Bouaziz, S.(2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse doctorat. Université Kasdi Merbah- Ouargla, 59Pp.

Boubetra, D., Sabaou, N., Zitouni, A., Bijani, C., Lebrihi, A., et Mathieu, F.(2013). Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a shahara soil. *Microbiology research*.168(4),223-230.

Boughachiche, F., S. Reghioua, L. Oulmi, H. Zirezer, M. Kitouni, A. Boudemagh et A. Boulahrouf .(2005). Isolement d'actinomycètes productrices de substances antibactériennes à partir de la sebkhia de Ain Mlila. *Scienc Techno*. 23: 5-10.

Brana , AF., Fiedler, HP., Nava, H., Gonzalez, V., Sarmiento-Vizcaino , A., Molina, A., Acuna, JL., Garcia, LA., Blanco , G .(2015) . *Two Streptomyces species producing antibiotic, antitumor, and anti-inflammatory compounds are widespread among intertidal macroalgae and deep-sea coral reef invertebrates from the central Cantabrian Sea. Microbial Ecology.*69:512–524.

C**herif, H. (2014)**. *Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec Bacillus sp. et Pantoea agglomerans isolées de sols arides. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif. 1, 54,114-132.*

Chen, L., Dodd, IC., Theobald, JC., Belimov, A., Davies ,WJ. (2013).*The rhizobacterium Variovorax paradoxus 5C-2, containing ACC deaminase, promotes growth and development of Arabidopsis thaliana via an ethylene-dependent pathway. Journal of experimental botany.*64: 1565–73.

Chen, X., Jiang, Y., Li, Q., Han, L. et Jiang C.(2016). *Molecular Phylogenetic Identification of Actinobacteria, Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, Dr. Dharumadurai Dhanasekaran (Ed.), InTechopen.DOI:10.5772/62029. Available from: <http://www.intechopen.com/books/actinobacteria-basics-andbiotechnological-applications/molecular-phylogenetic-identification-of-actinobacteria>.*

Chikere, CB., Okpokwasili, GC., Chikere, BO .(2009).*Bacterial diversity in a tropical crude oil-polluted soil undergoing bioremediation.African Journal of Biotechnology* 8:2535–2540.

Choulet , F.(2006) . *Evolution du genome des Streptomyces: transfert horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy 1., 210Pp.*

Compant, S., Duffy, B., Nowak, j., Clément, C., Baraka, E.A.(2005).*Use of plant growth promotion bacteria for biocontrol of plant disease :principal ,mechanisme of action and future prospect ,Applied and environmental microbiology,71(9),49514959.Current Opinion in Plant Biology.*13: 12-20.

Cundell , DR., et Piechoski, MP.(2016).*Potentially novel Actinobacteria derived antibiotics from unique microenvironments. In: Antimicrobials Synthetic and Natural Compounds. (Dhanasekaran et al., Eds),CRC Press, New York.83-98.*

D**avies, Fl., Williams, St.(1970)**.*Studies on the ecology of Actinomycetes in soil. I. The occurrence and distribution of Actinomycetes in a pine forest soil.Soil Biology and Biochemistry.*2: 227-38.

Dejong PJ.1972.*L-asparaginase production by Streptomyces griseus.Applied Microbiology and Biotechnology.*23(6):1163-1164.

Demain, AL .(1999).Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*.52:455–463.

Dennis, PG., Miller, AJ., Hirsch, PR.(2010). Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *Fems Association.microbiology ecology*.72: 313–27.

Djigaldjibril. (2003). Interactions entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorhiziens) et les nématodes bactérivores : effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes.Thèse de doctorat.Université Cheikh Anta Diop (UCAD) Dakar. 140 Pp.

Dingle, J., et McGee, P., A. (2003).Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in wheat. *Mycological Research*. 107: 310-316.

Dipak, P., Sankar, NS. (2016). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 with antibacterial potential from river Ganga, India.*Annals of agrarian science*.I, 7.

Duffy, B.K. et G., Defago.(1999). Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains.*Applied and Environmental Microbiology*.65:2429–2438.

Egamberdieva, D., Wirth, S.J., Alqarawi, A.A., AbdAllah, E.F., et Hashem, A. (2017). *Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness*.*Frontiers in Microbiology*.8.

El-Tarabily, K.A., Nassar,A.H., et Sivasithamparam, K.(2008). Promotion of growth of bean (*Phaseolusvulgaris* L.) inacalcareoussoilbya phosphate-solubilizing,rhizosphere-competent isolate of *Micromonosporaendolithica*. *Applied Soil Ecology*.39(2) :161–171.

Emad , Y., Lisa, H.(2019). Promotion de la croissance des plantes en utilisant des souches de *Streptomyces*et de *Bacillus* produisant de l'auxine, seules ou en consortium. Mémoire présenté au Département de biologie en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)Université de Sherbrooke,Canada .4 Pp.

Eranga,J.(2015).*ActinobacteriaMorphology, Physiology, biochemistry, diversity & Industrial Applications of genus Actinobacteria. Microbiology Special Degree - Assignment 2 Université de Kelaniya – Sri Lanka*.216:12.

Errakhi, A., Dauphin, P., Meimoun, A., Lehner, D., Reboutier, P., Vatsa, J.,Briand, K.,Madiona, J.P., Rona, M., Barakate, D., Wendehenne, C., Beaulieu, F.,Bouteau.(2008). An early Ca²⁺ influx is a prerequisite to thaxtomin A-induced cell death in *Arabidopsis thaliana* cells.*Journal of Experimental Botany*.59: 4259–70.

Essaid, A.B., Parul, V.L., Sanchez, N., Gaveau, V., Cedric, J., Hans-Peter, K., Christophe C., Yder, O., Gilles, P., Van, W. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. Microbiology and molecular biology. 80(1):3-8.

Fauth, U., Zahner, H., Muhlenfeld, A., Achenbach H. (1986). Galbonolides A and B: two non-glycosidic antifungal macrolides. *The Journal of Antibiotics* 39:1760–1764.

FrancoCorrea, M., Quintanaa, A., Duquea, C., Suarez, C., Rodriguez, M.X., et Bareab, J.M. (2010). Evaluation of actinomycetes strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. Applied Soil Ecology. 45:09–217.

Gangwar, M., et G., Kaur. (2009). Isolation and characterization of endophytic bacteria from endorhizosphere of sugarcane and ryegrass. *International Journal of Medical Microbiology*. 7 (Suppl).

Gerber, N.N., Lechevalier, H., A. (1965). Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from actinomycetes. Applied Microbiology and Biotechnology. 13:935–938.

Gerber NN. (1969). A volatile metabolite of actinomycetes, 2-methylisoborneol. The Journal of Antibiotics. 22:508–509.

Glick BR. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological Research. 169: 30–39.

Gopalakrishnan, S., Sathya, A., Vijayabharathi, R. (2016). Plant Growth Promoting Actinobacteria A New Avenue for Enhancing the Productivity and Soil Fertility of Grain Legumes. Springer, Singapore. pp:11. DOI:10.1007/978-981-10-0707-1.

Gouda, S., Kerry, R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.-S., et Patra, J.K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiol Research. 206:131–140.

Goudjal, Y., Toumatia, O., Sabaou, N., Barakate, M., Mathieu, F., et Zitouni, A. (2013). Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: Indole-3-acetic acid production and tomato plant growth promoting activity. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 29 (406):1821–1829.

Grasso L. L., Martino D. C. et Alduina R. (2016). Production of Antibacterial Compounds from Actinomycetes, Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, Dr. Dharumadurai Dhanasekaran (Ed.), IntechOpen. DOI:10.5772/61525. Available from: <http://www.intechopen.com/books/actinobacteria-basics-and-biotechnological-applications/production-of-antibacterial-compounds-from-actinomycetes>.

Gremion, F., Chatzinotas, A., Harms, H .(2003). *Comparative 16S rDNA and 16S rRNA sequence analysis indicates that Actinobacteria might be a dominant part of the metabolically active bacteria in heavy metalcontaminated bulk and rhizosphere soil. Environ Microbiol.5:896–907 .*

Gupta, M., Kiran, S., Gulati, A., Singh, B., and Tewari, R.(2012). *Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of Aloe barbadensis Miller. Microbial Research. 167:358–363.*

Hacene, H., Sabaou N., Bounaga N., Lefevre, G.(1994). *Screening for non polyenic antifungal antibiotics produced by rare Actinomycetales. Microbios. 79:81-5.*

Hamdali, H., Hafidi, M., Virolle, M.J. ,et Ouhdouch, Y.(2008). *Growth promotion and protection against damping-off of wheat by two rock phosphates solubilizing actinomycetes in a P-deficient soil under green house conditions. Applied Soil Ecology, 40:510–517.*

Hamedi, J., Mohammadipanah, F .(2015). *Biotechnological application and taxonomical distribution of plant growth promoting actinobacteria. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.42:157–171.*

Harir, M., Bellahcen, M., Fortas, Z., José, M., Veloso, A., Rodriguez-Couto S.(2018). *Isolation and characterization of actinobacteria from Algerian Sahara soil with antimicrobial activities. International Journal of Molecular and Cellular Medicine .2017.vol6 No2.*

Harwood, J.E, Van, S., R.A, Kuhn, A.L.(1969). *A rapid method for orthophosphate analysis at high concentrations in water. Water Research Pergamon Press.3:417-423.*

Hayat, R., Alii, S., Amara, U., Kalida, R., A.hmed, I.(2010). *Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion a review .Annals of microbiologie,60(4):579-598.*

Huang, X.-F., Chaparro, J.M., Reardon, K.F., Zhang, R., Shen, Q., et Vivanco, J.M. (2014). *Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. Botany 92, 267–275.*

Heuer, H., Krsek, M., Baker, P., Smalla, K., et Wellington, E., M. H. (1997). *Analysis of Actinomycete Communities by Specific Amplification of Genes Encoding 16S rRNA and Gel-Electrophoretic Separation in Denaturing Gradients. Applied and Environmental Microbiology.63(8):3233-3241.*

Hong, T., Cheng, C., Huang, J., Meng, M .(2002). *Isolation and biochemical characterization of an endo-1, 3- β -glucanase from Streptomyces sioyaensis containing a C-*

terminal family 6 carbohydrate-binding module that binds to 1, 3- β -glucan. *Microbiology* 148:1151–1159.

Hussein, K., Joo, JH. (2014). Potential of Siderophore Production by Bacteria Isolated from Heavy Metal: Polluted and Rhizosphere Soils. *Current microbiology*, 68(6):717-723. improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). *International Journal Of Agriculture & Biology*. 85-88.

Imer, P., et F., Schinner .(1995). Solubilization of inorganic calcium phosphates solubilization mechanisms. *Soil Biology and Biochemistry*. 27(3):257-263.

Inacio, M.L., Silva, G.H., Teles, H.L., Trevisan H. C., Cavalheiro A. J., Bolzani, V.S., Young, M.C. M., Pfenning, L.H., et Araujo, A.R.(2006). Antifungal metabolites from *Colletotrichum gloeosporioides*, an endophytic fungus in *Cryptocarya mandioccana* Nees (Lauraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 34: 822-824.

Istifadah, N., et McGee, P. A.(2006). Endophytic *Chaetomium globosum* reduces development of tan spot in wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Australasian Plant Pathology*. 35: 411-418.

Iwasa T, Yamamoto H, Shibata M .(1970). Studies on validamycins, new antibiotics. I. *Streptomyces hygroscopicus* var. *limoneus* nov. var., validamycin- producing organism. *The Journal of Antibiotics*. 23:595–602.

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

Kalakoutskii, L. V et Agre, N. S.(1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriol.Rev.* 40:469–524.

Kampfer, P., Goodfellow, M., Kampfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M. E., Susuki K. I., Ludwig, W., Whitman, W. B., Parte, A. C.(2012). Order XIV. *Streptomycetales* ord. nov. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second edition. Vol. 5. The Actinobacteria, part A. Springer, pp 1446-1804.

Karthik, L., Kumar, G., Vishnu, K.A., Rahuman, A.A., Bhaskara, Rao, K.V.(2014). *Streptomyces* sp. LK3 mediated synthesis of silver nanoparticles and its biomedical application. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 37:261–267.

Kattere, T., Andoren, O. (2001). The Inter Continental Ballistic Missile of analytically solved models of soil carbon, nitrogen and microbial biomass dynamics descriptions and application examples. *Ecological Modelling*. 136(2-3):191–207.

Kecha M. (1996). *Isolement et sélection de deux souches de Streptomyces productrices d'antifongiques non polyéniques. Taxonomie; extraction, purification et caractérisation partielle des antibiotiques synthétisés. Thèse de Magister. Université de Tizi Ouzou. Pp 127.*

Khamna, S., Yokota, A., et Lumyong, S.(2009). *Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 25, 649–655. DOI:10.1007/s11274-008-9933-x.*

Khan, M.S., A. Zaidi., et M. Javed .(2009). *Microbial Strategies for Crop Improvement. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1-371.*

Khan, M.S., Zaidi, A., Ahmed, M., Oves, M., Wani, P.A.(2010). *Plant Growth Promotion by phosphate solubilizing fungi –current perspective :Archive of Agronomy and soil sciences .56(1):37-98.*

Khan, M.S., Zaidi, A., et Ahmad, E .(2014). *Mechanism of phosphate solubilisation and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms. In M.Khan, A.Zaidi, et J.Musarrat (Eds.), Cham: Springer. Phosphate solubilising microorganisms. 31–62.*

Khan, A.L., Halo, B.A., Elyassi, A., Ali, S., Al-Hosni, K., Hussain, J., et Lee, I.J. (2016). *Indoleacetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of Solanum lycopersicum. Electronic Journal of Biotechnology. DOI:10.1016/j.ejbt.2016.02.001.*

Kieffer, M., J. Neve, and S. Kepinski .(2010). *Defining auxin response contexts in plant development. Current opinion in plant biology. 13(1):12-20.*

Kim, H.Y., Choi, G. J., Lee, H. B., Lee, S.W., Kim, H. K., Jang, K. S., Son, S. W., Lee, S. O., Ch, o K. Y., Sung, N. D. et Kim, J. C.(2007). *Some fungal endophytes from vegetable crops and their anti-oomycete activities against tomato late blight. Letters in Applied Microbiology. 44: 337.*

Kitouni M. (2007) *.Isolement de bactéries Actinomycetales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaires des substances élaborées. Thèse de Doctorat d'État en Microbiologie Appliquée. Université Frères Mentouri Constantine 1, Constantine, Algérie, 170 Pp.*

Kremer, R. J. (2019). *Sampling and Handling of Soil to Identify Microorganisms with Impacts on Plant Growth. In Plant Innate Immunity. 237-246.*

Kumar, A. (2010). *Development of a liquid biofertilizer with indigenous microbial strains of Himachal Pradesh. Thèse de doctorat.* Chaudhary Sarwan Kumar Himachal Pradesh Krishi Vishvavidyalaya University. India. 196Pp.

Lamari, L., Zitouni, A., Boudjella, H., Badji B., Sabaou, N., Lebrihi A., Lefebvre, G., Seguin, E., et Tillequin, F. (2002a). *New dithiopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233.I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. Journal of Antibiotics.*(55): 696-701.

Lamari, L., Zitouni, A., Dob, T., Sabaou, N., Lebrihi A., Germain P., Seguin, E. et Tillequin, F.(2002b). *New dithiopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233.II. Physicochemical properties and structure elucidation.*Journal of Antibiotics.(55): 702-707.

Lardj, Zazou ,K.(2017). *Isolement et caractérisation des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes capables de lutter contre le Fusarium.*these de doctorat .Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbes,58Pp.

Lazo, WR., Klein, R .(1965). *Some physical factors involved in actinolichen formation. Mycologia.*(57):804–808.

Lechevalier, M.P., et Lechevalier, H.(1985). *Biology of actinomycetes not belonging to genus Streptomyces In: Biology of industrial microorganisms. The Benjamin Cummings Publishing Company, constitué en société commerciale.*315-31 .

Lechevalier H. A. (2016). *Actinomycètes.*Encyclopædia Universalis (en ligne), consulté le 4 décembre 2016. URL :<http://www.universalis.fr/encyclopedie/actinomycetes/>.

Lee, J., Postmaster, A., Peng Soon, H., Keast, D., Carson, k.(2011). *Siderophore production by actinomycetes isolates from two soil sites in Western Australia Biometals (2012).*25:285–296.

Leulmi,N.(2018). *Identification polyphasique des souches d'actinobactéries isolées d'échantillons de sols semi-arides. Caractérisation structurale des antibiotiques produits .Thèse de doctorat en microbiologie appliquée Université 1-Frères Mentouri Costantine.*47Pp.

Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., et Jiang, C.(2016a) . *Cultural, Physiological, and Biochemical Identification of Actinobacteria, Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, Dr. Dharumadurai Dhanasekaran (Ed.), Institute for Microbial Technology.DOI: 10.5772/61462. Available from: <http://www.intechopen.com/books/actinobacteria-basics-andbiotechnological-applications/cultural-physiological-and-biochemical-identification-ofactinobacteria>*

Matan, N., et Matan, N.(2008). *Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (*Hevea brasiliensis*). International Biodeterioration & Biodegradation.*(62): 75-78.

Matsukawa, E., Nakagawa, Y., Iimura, Y., Hayakawa, M.(2007). Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. *Actinomycetologica*.21: 32–39.

Merizig, H., NAAMI, F. (2015). Etude taxonomique de quelques souches d'actinomycètes isolées de la région de Ouargla. Mémoire Master Académique. Microbiologie fondamentale et appliquée. Université Kasdi Merbah Ourgla.65Pp.

Miethke, M., Marahiel, MA.(2007). Siderophore-Based Iron Acquisition and Pathogen Control. *Microbiol and Molecular Biology Reviews*.(71): 413–451.

Narayana, KJ., Kumar, KG., Vijayalakshmi, M.(2008). L-asparaginase production by *Streptomyces albidoflavus*. *Indian Journal of Microbiology*.48(3):331-336.

Nirangana, S. et Hariparasad, P.(2014). Understanding the Mechanism Involved in PGPR-Mediated Growth Promotion and suppression of biotic and abiotic Stress in Plants .In :Futur Challenge in Crop Protection Against Fungal Pathogens. Goyal Manoharachary .C. Fungal Pathogens.Goyal,A.,Manoharachary.C, Springer, New York. USA. pp59-108.

Nouasri , A. (1996). Les genres *Microellobosporia*, *Saccharomonospora*, *Thermoactinomyces* et *Thermomonospora* (Actinomycetales) dans les sols sahariens : Taxonomie numérique, production, purification et caractérisation partielle des principaux antibiotiques. Thèse de Magister.130Pp.

O'Gara F. Dowling, D.N., Boesten, B. (2008). Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of Genetically Modified Organism. John Wiley & Sons: Weinheim. Pp: 192.

OMURA, S. (1992). The search for bioactive compounds for microorganisms. New York: Springer- Verlag.1992. p. 281-98, p. 303-22.

Osman, J.R., Fernandes, G., et DuBow, M.S. (2017). Bacterial diversity of the rhizosphere and nearby surface soil of rice (*Oryza sativa*) growing in the Camargue (France). *Rhizosphere*.3:112–122.

O'Sullivan, D. J., et O'Gara, F. (1991). Regulation of iron assimilation: nucleotide sequence analysis of an iron-regulated promoter from a fluorescent pseudomonad. *Molecular Genetics and Genomics*.228: 1-8.

Oteino, N., Lally, R.D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K.J., et Dowling, D.N. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology*.

Palaniyandi, SA., Damodharan, K., Yang, SH., Suh, JW.(2014).*Streptomyces* sp. strain PGPA39 alleviates salt stress and promotes growth of 'Micro Tom' tomato plants. *Journal of Applied Microbiology*.117:766–773.

Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C.R, Soccol, V.T., Singh, D., Mohan, R.(2000). *Advances in microbial amylases. Applied biochemistry and biotechnology*.31: 135-152.

Panhwar, Q.A., Jusop, S., Naher, U.A., Othman, R., et Razi, M.I. (2013). *Application of Potential Phosphate-Solubilizing Bacteria and Organic Acids on Phosphate Solubilization from Phosphate Rock in Aerobic Rice. Scientific World Journal*. 2013:1–10.

Penrose, D. M., et Glick, B. R. (2003).*Methods for isolating and characterizing ACC deaminase containing plant growth promoting rhizobacteria. Physiologia plantarum*.10-15.

Pérez-Miranda S., Cabirol N., George-Téllez L., Zamudio-Rivera L.S. and Fernández E. J. (2007). *O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection.Jornal Microbioogy Methods*.70:127-131.

Pieterse, C.M.J., de Jonge R, Berendsen, R.L. (2016). *The Soil-Borne Supremacy. Trends in Plant Science*.21: 171–173.

Piokovskaya, R.I.(1948) .*Mobilization of Pin soil in connection with vital activity by some microbial spaces.Microbiologica*.17:362-37.

Prescott, L. M, Harley, J. P., Klein, D. A. (2010). *Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 3eme éd Pp 849-854.*

Prescott., Willey., Sherwood., Woolverton .(2013). *Microbiologie*.page:693-697.

Quittenden, L. J., N. W. Davies, J. A., Smith, P. P., Molesworth, N. D. Tivendale, et J. J. Ross. (2009).*Auxin Biosynthesis in Pea: Characterization of the Tryptamine Pathway: Plant Physiology*,verma.

Raja, A., Prabakarana, P.(2011). *Actinomycetes and drug-An overview. American Journal of Drug Discovery and Development*.1:75–84.

Ramos –Solano, B.,Garica .A.L.,Garica-Villaraco,A.,Algar ,E., Garica Cristobjal.(2010). *Sidérophore and chitinase producing isolates from the rhizosphère.Plant and soil*.334(1-2):189-179.

Rachel, B., Stefan, R.,Gayathri, I., John, L., Dana, P., Emily, R., Sowmyalakshmi S., Donald, L., Smith .(2018). *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of*

Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture; Frontier in plant science.17:11p .

Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Oulmi, L., Kitouni, M., Boudemagh, A., B.(2006). *Activité antibactérienne d'actinomycètes rares isolés d'échantillons de sol aride du Sud est Algérien. Antibiotiques.8: 147-152.*

Rfaki, A., Nassiri, L., Ibijbijen, J. (2014). *Phosphate solubilizing bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes from Meknes Region, Morocco. Biotechnology Journal.9:946-956.*

Rfaki, A, Nassiri, L., Ibijbijen, J. (2015). *Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizosphere of Faba Bean (Vicia faba L.) in Meknes Region, Morocco. British Microbiology Research Journal.6(5):247-254.*

Rodrigo, M., Paolina, G., Jos, M. Raaijmakers.(2013). *The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. Microbiology European federation of learned microbiology . 37: 634–663.*

S**Sabaou, N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A., Lamari L.(1998).** *Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. Sécheresse .9:147-53.*

Saha , R., Saha , N., Donofrio, R.S., Bestervelt, L.L .(2013). *Microbial siderophores: a mini review: Microbial Siderophores. Jornal of Basic Microbiology .53: 303–317.*

Saker, R.(2015). *Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse doctorat en microbiologie .Université Ferhat Abbas Sétif. 1, p99.*

Sánchez-Cruz, R., Vázquez, I. T., Batista-García, R. A., Méndez Santiago, E. W., del Rayo Sánchez-Carbente, M., Leija, A., and Folch-Mallol, J. L. (2019). *Isolation and characterization of endophytes from nodules of Mimosa pudica with biotechnological potential. Microbiological research.218: 76-86.*

Sanyal; De Datta, . S.K. Sanyal, S.K.(1991). *De Datta Chemistry of P transformations in soil. Advances in Soil Science, Pp 1-120.*

Simon, S., et J. Petrasek,(2011). *Why plants need more than one type of auxin: Plant Science, verma.180:454-460.*

Smaoui,S.(2010). *Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse doctorat : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). Pp 207.*

- Sanyal, S. K. et De Datta S. K. (1991).** *Chemistry of phosphorus transformations in soils Advances in Soil Sciences.16:1-120.*
- Schneider, K., Nicholson, G., Strobele, M., Baur, S., Niehaus, J., Fiedler, H.P., Sussmuth, R.D. (2006).** *The structures of fluostatins C, D and E, novel members of the fluostatin family. Journal of Antibiotics.59(2):105.*
- Schmid, R.D., Verger, R.(1998).** *Lipases: interfacial enzymes with attractive applications. Angewandte Chemie.37(12):1608-1633.*
- Sette, L. D., De Oliveira, V. M., Manfio ,G. P. (2005).** *Isolation and characterization ofalachlor-degrading actinomycetes from soil. Van Leeuw.87: 81-89.*
- Sharmin, S., Towhid Hossain, M.D., et Anwar , M.N .(2005).** *Isolation and characterization of a protease producing bacteria Bacillus amonvivorus and optimization of some factors of culture conditions for protease production, Journal of Biological Sciences,5(3):358-362.*
- Shivlata, L., Tulasi, S.(2017).** *Actinobacteria in Agricultural and Environmental Sustainability. Agro-Environmental Sustainability.Managing Crop Health.1:173-218.*
- Sindhu, S. S., Gupta, S. K., et Dadarwal, K. R. (1999).** *Antagonistic effect of Pseudomonas spp. on pathogenicfungi and enhancement of plant growth in green gram(Vigna radiata). Biology and Fertility of Soils.(29): 62–68.*
- Singh, J. S., et Singh, D. P. (2013).** *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): microbes in sustainable agriculture. In Management of microbial resources in the environment.361-385.*
- Subramanian, K. S., Iniyakumar,M .,Sivakumar, U.,(2016).** *Role of Actinomycete-Mediated Nanosystem in Agriculture. Plant Growth Promoting Actinobacteria.233-24.*
- Sumaira, A., Basharat, A., et Imran, S.(2016).** *Screening of Rhizospheric Actinomycete for Various In –vitro and vivo Plant Growth Promotion (PGP) traits and for Agroactive compound Frontiers microbiology.7:1334.*
- Suzuki, S., Okuda, T., Komatsubara, S.(2001).** *Selective isolation and distribution of the genus Planomonospora in soils.Can Jornal of Microbiology .47: 253-63.*
- T****aechowisan, T., Lu, C., Shen, Y., Lumyong, S .(2005).** *Secondary metabolites from endophytic Streptomyces aureofaciens CMUAc130 and their antifungal activity. Microbiology.151:1691–1695.*
- Takizawa, M.; Colwell, R. R., Hill, R. T.(1993).** *Isolation and diversity of actinomycetes in the Chasapeake.Bay.Applied. Environment. Microbiology. 59: 997-1002.*

Taktek, S., St-Arnaud, M., Piché, Y., Fortin, J. A., et Antoun, H. (2017). Igneous phosphate rock solubilization by biofilm-forming mycorrhizobacteria and hyphobacteria associated with *Rhizoglossum irregulare* Tri des déchets d'activité de soins 197198. *Mycorrhiza*.27: 13-22.

Tan, H., Deng, Z., Cao, L.(2009). Isolation and characterization of actinomycetes from healthy goat faeces. *Letters in Applied Microbiology*.49(2):248-253.

Toure, Y., Ongena, M., Jacques, P., Guiro, A., Thonart, P. (2004). Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. *Jornal Applied Microbiology*.96: 1151-1160.

Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M.-L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., and Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers. Plant Science*. 4.

Valdebinito, M., A.L Crumbliss., G. Winkelman et K. Hantke .(2006). Environmental factors influence the production of enterobactin, salmochelin, aerobactin and yersinianbactin in *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *International Journal of Medical Microbiology*.296:513-520.

Verghese, S., Misra, A.K.(2002). Frankia–actinorhizal symbiosis with special reference to host–microsymbiont relationship. *Current Science*.83:404–408.

Verma, M., Mishra, J., Arora, N.K .(2019). Plant growth-promoting rhizobacteria: diversity and applications. In: Sobti RC, Arora NK, Kothari R (eds) *Environmental biotechnology: for sustainable future*. Springer, Singapore.129–173.

Wang, F. W., Jiao, R. H., Cheng, A. B., Tan, S. H. Et Song, Y.C.(2007). Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in *Quercus variabilis* and brefeldin A obtained from *Cladosporium* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.23: 79-83.

Wang, N. X., Tang, Q., Ai G. M., Wang, Y. N., Wang B. J., Zhao Z. P. Et Liu S. J. (2012). Biodegradation of tribenuron methyl that is mediated by microbial acidohydrolysis at cell-soil interface. *Chemosphere*.86(11): 1098-1105.

Wilkins, K.(1996). Volatile metabolites from actinomycetes. *Chemosphere*.32:1427–1434.

Yilmaz, E.I., Yavuz, M., Kizil M. (2008). Molecular characterization of rhizospheric soil *Streptomyces* isolated from indigenous plants and their antimicrobial activity. *Word Jornal of Microbiology and Biotechnology*.24 : 1461-1470.

Zhang, YL., Li, S., Jiang, D.H., Kong, L.C., Zhang, P.H., J.D.X .(2013). Antifungal activities of metabolites produced by a termite-associated *Streptomyces canus* BYB02. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* .61:1521–1524.

Zitouni, A., Boudjella, H., Lamari, L., Badji, B., Mathieu, F., Lebrihi, A., et Sabaoun, N. (2005). *Nocardiosis and Saccharothrix genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics.* *Research in Microbiology*.156: 984-993.

Zitouni,A., Boudjella, H., Mathieu, F., Sabaou, N. et Lebrihi, A. (2004b). Mutactimycin PR, a new anthracycline antibiotic from *Saccharothrix* sp. SA 103. I. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Biological Activities. *Journal of Intibiotics*.57: 367-372.

Zitouni, A., Lamari, L., Boudjella, H., Badji, B., Sabaou, N., Gaouar, A., Mathieu, F., Lebrihi A. et Labeda, D.P.(2004a). *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.54: 1377-1381.

Zloch, M., Thiem, D., Gadzala-Kopciuch, R., and Hryniewicz, K.(2016). Synthesis of siderophores by plant-associated metallotolerant bacteria under exposure to Cd²⁺. *Chemosphere*.156 : 312–325.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture

Milieu Olson

Sodium casein	2g
L asparagine	0.1g
Sodium propionate	4g
K ₂ HPO ₄	0.5g
FeSO ₄	0.01g
agar	10g
Eau distillée.....	1000ml
pH=7.2	

Muller Hilton

Extrait de viande.....	2g
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Amidon.....	1,5 g
Agar.....	10 g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,4	

Milieu Czapek sans fer

Saccharose.....	30g
NaNO ₃	3g
KCL.....	0.5g
MgSO ₄ ,7H ₂ O.....	0.5g
K ₂ HPO ₄	1g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000mL
pH = 7.3	

Milieu TY

Tryptone.....	2.5g
CaCl ₂	0.35g
Extrait de levure.....	1.5g
Agar.....	15g
Eau distillée	1000mL
pH = 7	

Milieu ISP2

Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Glucose	4g
Agar	20g
Carbonate de calcium	2g
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,3	

Milieu YEMA

Extrait de levure.....	1g
Mannitol.....	10g
Phosphate dipotassique.....	0.5g
Sulfate de magnésium.....	0.2g
Chlorure de sodium.....	0.1g
Rouge Congo.....	0.025g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000mL

pH = 6.8

Milieu KING-B

Peptone.....	20g
Glycérol.....	10 mL
Phosphate dipotassique.....	1.5g
Sulfate de magnésium, 7H ₂ O.....	1.5g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000mL

pH = 7.2

Milieu GN

Peptone.....	5g
Extrait de levure.....	3g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000mL

pH = 7

Milieu PVK

Extrait de levure.....	0.5g
Glucose.....	10g
Phosphate tricalcique.....	5g
Sulfate d'ammonium.....	0.5g
Chlorure de potassium.....	0.2g
Sulfate de magnésium.....	0.1g
Sulfate de manganèse.....	0.0001g
Sulfate de fer.....	0.0001g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000mL

pH = 7.2

Milieu PDA

Infusion de pomme de terre.....	200g
Glucose.....	20g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000mL

pH = 5.6.

Milieu fer/Chrome azurol S (CAS)

Chrome azurol S.....0.065g
HDTMA.....0.0729g
PIPES.....30.24g
1 mM FeCl₃,6H₂O dans 10 mM HCl....10mL
Agarose.....9g
Eau distillée.....1000mL
pH = 7

Milieu NBRIP

Glucose.....5g
(NH₄)₂SO₄.....0.05g
MgSo47H₂O.....0.125G
NaCl.....0.1g
Na-InsP6.....2.5g
Kcl.....0.1g
Agar.....7.5g
PH =7

Annexe 2: Les solutions

Eau physiologique

Chlorure de sodium..... 09g
Eau distillée 1000ml

Solution de Mac Farland

Solution de BaCl₂. 2H₂O, 1%0.6ml
Solution de H₂SO₄, 1 %99.4ml

Annexe 3

Le réactif de Salkowski

Solution aqueuse de Fecl 3 (8,11g /100 ml)..... 10 ml
L'acide perchlorique 250 ml
L'eau distillé350 g