

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère De l'Enseignement Supérieur Et De la Recherche Scientifique



Université Abbès Laghrou Khenchela  
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie  
Département de biologie



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Biologie

Option : Microbiologie générale et biologie moléculaire

Thème :

*Mise en évidence de quelques activités  
enzymatiques des actinomycètes isolés à  
partir d'écosystèmes sahariens*

Réalisé par :

Aksel Zina

Manaa Besma

Kellil Tefaha

Membres du Jury :

Président: Mme Bouakkaz A.

Maitre assistant A à l'université de Khenchela

Examineur : Mme Hallassi I.

Maitre assistant A à l'université de Khenchela

Encadreur : Mme Bensouici K.

Maitre assistant A l'université de Khenchela

Session : 2013/2014

## Remerciements

*Nous tenons avant tout à remercier "ALLAH"*

*Nous remercions notre encadreur, Mme BENSOUICI KARIMA, pour nous avoir donné l'opportunité de réaliser ce mémoire dans de bonnes conditions, de nous avoir transmis ses connaissances dans le domaine .Elle nous a également, transmis son intérêt et sa motivation pour accomplir ce travail.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à Mme BOUAKKAZ AMEL, maître assistant à l'université de Khenchela pour avoir accepté de présider le jury de soutenance, ainsi que Mme HALLASSI ISMAHANE, maître assistant à l'université de Khenchela pour nous faire l'honneur d'examiner de mémoire.*

*Nous aimerons remercier tout l'ensemble des professeurs de la spécialité et à tous les enseignements du département de la Biologie qui nous ont enseigné pendant notre formation.*

*Nous remercions tous ceux qui ont participé et nous ont aidées de près ou de loin que ce soit physiquement ou moralement dans l'élaboration de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur amour, leur encouragement et leur soutien tout au long de mes études, que*

*DIEU les bénisse.*

*A mes chers soeurs Radhia et mes chers frères Fares, Mihoube, Abd Aroufe et A surtout à mon frère Maruone ; tu es le meilleur frère qui existe, je te souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de bonheur.*

*A tous mes amis est surtout l'ami le plus cher Tefaha  
A tous mes collègues de promotion de Master Microbiologie  
surtout Zina*

*A tous ceux que j'aime.*

*Besma*





# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à :*

*Mes parents*

*Ma sœur WARDA*

*À toute ma famille et toutes mes amies surtout  
BESMA et RADHIA*

*Mes enseignants qui m'ont éclairée la route du  
Savoir*

*TEFAHA.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents que j'aime plus que tous  
au monde*

*pour leur amour, leurs encouragements incessants et  
leur soutien morale*

*A mes deux chers frères Riadh et Oussama*

*A ma chère sœur Assia*

*A toute ma famille*

*A mes amies Wassila, Samah, Sakina , dalila , dido.*

*Ceux qui m'ont procuré aide et réconfort durant  
l'élaboration de ce travail toute mon affection*

*A tout les étudiants de biologie et ma promotion et  
tous qui m'aiment.*

*zina*

## Table des matieres

Liste des tableaux.....	i
Liste des figures .....	ii
Liste des photographies.....	iii
Liste des abréviations .....	v

### **PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>01</b>
<b>1. Propriétés générales des actinomycètes.....</b>	<b>03</b>
<b>2. Ecologie et distribution dans la nature .....</b>	<b>03</b>
<b>3. Physiologie.....</b>	<b>05</b>
*La forme fermentative.....	05
*La forme oxydative .....	05
<b>4. Colorations et caractéristiques biochimiques.....</b>	<b>05</b>
<b>5. Reproduction, biologie et développement des actinomycètes.....</b>	<b>06</b>
5.1. Mycélium du substrat et mycélium aérien.....	06
<b>6. Formation des spores.....</b>	<b>07</b>
6.1. Les exospores.....	07
6.2. Les endospores .....	07
6.3. La germination des spores.....	08
6.4. Structure particulières.....	09
<b>7. L'importance des actinomycètes dans les différentes industries.....</b>	<b>09</b>
7.1. Dans la production d'antibiotiques .....	09
7.1.1. Pénicilline.....	10
7.1.2. Tétracycline.....	10
7.1.3. Fattiviracins.....	10
7.1. 4. Céphamycines.....	11
7.1. 5.Les aminosides.....	11
7.2. Dans la production d'enzymes.....	11
7.2.1. La production d'enzymes et leur mode d'action.....	10
7.2.1.1. Cellulasec et cellulolyse.....	12

7.2.1.2. Les ligninases.....	13
7.2.1.3. Les pectinases .....	14
7.2.1.4. Les xylanases.....	14
7.2.1.5. Les amylases.....	14
7.2.1.6. Les dextrinases .....	14
7.2.1.7. Les chitinases.....	14
<b>8. Importances des actinomycètes dans l'agriculture.....</b>	<b>16</b>
<b>9. Les actinomycètes en tant qu'agents employés dans les processus de Biodegradation.....</b>	<b>17</b>
9.1. La biodégradation des composés organiques naturels.....	17
9.2. La biodégradation des composés organiques de synthèse.....	17
9.3. Exemples de composés organiques qui peuvent être dégradés par les genres d'actinomycètes .....	18
*Pouvoir dégradant des <i>corynébactéries</i> .....	18
*Pouvoir dégradant du genre <i>Gordonia</i> .....	18
*Pouvoir dégradant du genre <i>Rhodococcus</i> .....	19
*Pouvoir dégradant du genre <i>Mycobactérium</i> .....	19
<b>10. Pouvoir pathogène des actinomycètes.....</b>	<b>21</b>
10.1. Les maladies des plantes provoquées par les actinomycètes.....	21
10.2. Les maladies humaines provoquées par les actinomycètes.....	21
10.2.1. Tumeurs.....	21
10.2.2. Nocardiose.....	22
10.2.3. L'actinomycose.....	22
10.3. Les maladies animaux provoquées par les actinomycètes.....	23

## PARTIE II : MATÉRIELS ET METHODES

<b>1. Présentation de la zone d'étude.....</b>	<b>24</b>
<b>2. Prélèvement des échantillons.....</b>	<b>25</b>
<b>3. Analyses physicochimiques des échantillons ..</b>	<b>25</b>
3.1. Détermination du pH dans l'eau.....	25
3.2. Mesure de la conductivité de la extrait aqueux 1 /5.....	25
3.3. Détermination de la teneur en carbonates dans les sols.....	25
3.4. Détermination du calcaire actif.....	25

3.5. Détermination de la matière organique totale.....	26
3.6. Détermination de la teneur en carbone et azote total.....	26
<b>4. Analyse microbiologique des échantillons .....</b>	<b>26</b>
4.1. Preparations des dilution decimals.....	26
4.2. Les milieu d'isolement utilises.....	26
4.2.1. Addition de la solution d' antifongique.....	26
4.2.2. Addition de la solution antibactérienne.....	27
4.3. Ensemencement et incubation.....	27
4.4. Lecture et dénombrement .....	27
4.5. Purification et conservation des souches d'actinomycètes .....	27
4.6. Etude des caractères morphologiques.....	27
4.6.1. Observation macroscopique .....	27
4.6.2. Observation microscopique des souches Purifiées.....	28
4.6.2.1. Coloration de Gram.....	28
4.6.2.2. Technique de culture sur lamelle .....	28
<b>5. Mise en évidence des activités enzymatiques.....</b>	<b>28</b>
5.1. L'hydrolyse de l'amidon.....	28
5.2. Hydrolyse de la caséine.....	28
5.3. Hydrolyse de la gelatin.....	29
5.4. Recherche de la catalase.....	29
5.5. Hydrolyse de la cellulose.....	29
5.6. Recherche des estérases.....	29
5.7. Hydrolyse de la lécithine et les lipoproteins.....	29
5.8. Recherche de l'urèase.....	30
5.9. Recherche de nitrate réductase .....	30
5.10. Hydrolyse de la pectin.....	30

### **PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS**

<b>1. Cractéristiques physico-chimiques des échantillons.....</b>	<b>32</b>
<b>2. Isolement des Actinomycètes.....</b>	<b>33</b>

<b>3. Etude de l'aspect macroscopique et caractères culturaux des actinomycètes isolés .....</b>	<b>35</b>
<b>4. Essai de pré-identification au niveau du genre des isolats d'actinomycètes par Observation du mycelium aérien et de substrat.....</b>	<b>37</b>
<b>5. Mise en évidence de certaines activités enzymatiques des isolats d'actinomycètes.....</b>	<b>39</b>
5.1. Activité amylolytique.....	39
5.2. Activité Catabolisme des lipids.....	41
5.3. Activité pectinolytique.....	42
5.4. Activité cellulolytique.....	42
5.5. Teste de nitrate réductase.....	43
5.6. Activité protéolytique .....	44
5.7. Activité de la catalase.....	45

### **Conclusion Et Perspectives**

### **Références Bibliographiques**

### **Annexes**

### **Résumé**

### **Abstract**

### **Résumé Arabe**

## 1. Propriétés générales des actinomycètes

Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positifs, ils se caractérisent par la formation d'hyphes filamenteux qui ne subissent normalement pas de fragmentation. Le réseau ramifié d'hyphes formé par les actinomycètes se développe à la fois à la surface du substrat et à l'intérieur de ce dernier pour former le mycélium végétatif. Des septums divisent habituellement les hyphes en longues cellules (>20 µm) contenant plusieurs nucléoides. Parfois, il se forme une masse ressemblant à un tissu qui porte le nom de thalle. Cela explique leur dénomination par le mot « actinomycète » qui provient de deux substantifs grecs « action » et « mycète » et signifie « champignons à rayons » ou « champignons rayonnants ». La morphologie ressemble fortement à celle des micro-organismes eucaryotes comme les champignons filamenteux (**Osada, 1998**). Les actinomycètes présentent des similitudes avec les eubactéries et les champignons. Il existe des formes de transition, mycéliennes typiques et unicellulaires, présentant une aptitude peu marquée à former un mycélium ramifié. Le diamètre des filaments des formes mycéliennes est toutefois environ deux fois plus faible (0,5 à 1,2 µm) que celui des mycéliums de champignons (**Mincer et al., 2002**). La structure chimique de leur paroi cellulaire ne renferme ni chitine ni cellulose mais une glycoprotéine contenant de la lysine (formes fermentatives) ou de l'acide diaminopimélique (formes oxydatives) et leur cytologie est celle des bactéries. Ces caractères s'ajoutent à d'autres comme la sensibilité à des actinophages et à des antibiotiques antibactériens, cela confirment le bien-fondé de la classification des Actinomycètes parmi les bactéries (**Larpent, 1989**). Les actinomycètes pour la plupart ne sont pas mobiles. Lorsqu'il y a mobilité, elle est confinée aux spores flagellées permettant leur dispersion dans les habitats aquatiques (**Basilio, 2003**). Les actinomycètes ont une importance pratique considérable. Ce sont, essentiellement, des habitants du sol et ils sont très largement distribués. Ils peuvent dégrader un nombre et une variété énormes de composés organiques et ils sont extrêmement efficaces pour la minéralisation de la matière organique. Les actinomycètes produisent la plupart des antibiotiques naturels utilisés en médecine (**Birch, 1990**). Bien que beaucoup d'actinomycètes soient des micro-organismes vivant librement, quelques uns sont pathogènes chez l'homme, les animaux et certains végétaux.

## 2. Ecologie et distribution dans la nature

Les actinomycètes sont très largement distribués dans la nature et principalement dans les sols de différentes natures (**Tab. 1**). Ils ont été trouvés dans les eaux douces ou salées,

Dans les compostes végétales, et se retrouvent également dans les fumiers au fond des lacs et des rivières, dans les produits alimentaires et l'atmosphère et dans les substrats les plus divers. Dans le sol, ils sont présents depuis la surface jusqu'à plus de 2 mètres de profondeur. Le nombre de ces microorganismes atteint d'après (**Goodfellow et Williams, 1983**) généralement les 106 germes par gramme de sol séché. D'après (**Waksman, 1967**), le rapport Microorganismes totaux / Actinomycètes, diminue au fur et à mesure que la profondeur augmente. Selon ce même auteur, alors que la couche superficielle contient au moins 80 % de bactéries actinomycétales, par rapport au nombre total de microorganismes, la couche située à une profondeur de 80 centimètres ne contient que 40 % ou beaucoup moins jusqu'à seulement 16 %. Les actinomycètes sont généralement plus nombreux que les champignons, mais moins abondants que les autres bactéries.

Les sols sahariens sont caractérisés par une teneur minime en eau avec un degré de pluviométrie souvent inférieur à 100 mm par an, des températures extrêmement élevées et de faibles quantités d'humus. Des travaux anciens ont prouvé définitivement que les sols désertiques ne sont pas stériles, ils sont peuplés d'une flore microbienne très variée (**Killian et Feher, 1939**). Parmi les bactéries isolées, les actinomycètes font partie essentielle de cette microflore, leurs présence est considérable dans ce type d'écosystème extrême (**Killian et Feher, 1939**).

**Tableau N° 1** : Répartition de quelques genres d'actinomycètes par type d'habitat (d'après **Goodfellow et Williams, 1983**).

Genre	Habitat
<b>Actinomadura</b>	<b>Sol</b>
<b>Actinoplane</b>	<b>Sol, eau, litière</b>
<b>Frankia</b>	<b>Nodules des racines</b>
<b>Microbiospora</b>	<b>sol</b>
<b>Micromonospora</b>	<b>Sol, Eau</b>
<b>Rhodococcus</b>	<b>Sol, Eau, litière, Fumier, Matière en décomposition</b>
<b>Saccharomonospora</b>	<b>Sol, Eau, litière</b>
<b>Streptomyces</b>	<b>Sol et Eau</b>
<b>Streptosporangium</b>	<b>Matière en décomposition et fermentation</b>

### 3. Physiologie

Plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, le pH et l'humidité du sol influencent la croissance des actinomycètes. Comme les autres bactéries du sol, la plupart des actinomycètes se comportent comme des bactéries mésophiles avec croissance optimale située entre 25 °C et 30 °C. Toutefois, il existe des souches thermophiles isolées à une température située entre 50 °C et 60 °C (**Edwards, 1993**). Pour ce qui est du pH, la plupart des actinomycètes se comportent comme des bactéries neutrophiles. Leur croissance est meilleure à un pH compris entre 6 et 9, avec un maximum autour de la neutralité. Cependant, certaines souches de streptomycètes ont été isolées à partir des échantillons de sol acide (pH 3,5), (**Nioh et al, 1995**). La croissance du mycélium végétatif des actinomycètes dans le sol est favorisée par un faible taux d'humidité, particulièrement quand les spores sont remplies d'eau. Dans les sols secs où la tension d'humidité est plus grande, la croissance devient très limitée voir même arrêtée. Les actinomycètes peuvent se conserver durant de longues périodes grâce aux spores, ces dernières germent au contact d'éléments nutritifs exogènes dont la nature est déterminante (**Goodfellow & Williams, 1983**). Les actinomycètes sont, en général, hétérotrophes ou chimiotrophes, mais la plupart sont des chimio-hétérotrophes capables d'utiliser une grande variété de sources d'énergie y compris les polymères complexes (**Lechevalier, 1988 ; Zimmerman, 1990**).

Selon le type respiratoire, les actinomycètes sont classés en deux groupes :

\* **La forme fermentative:** Elle est illustrée par le genre *Actinomyces* qui habite les cavités naturelles des animaux et de l'homme. Ces organismes peuvent être anaérobies ou aérobies, mais ils sont souvent micro aérophiles morphologiquement, ces espèces sont peu variées et ne forment pas de spores.

\* **La forme oxydative :** Ils s'agit d'aérobies, tels que les *Streptomyces*, qui sont surtout des espèces telluriques, lesquelles, suivant les groupes, peuvent former des spores et être morphologiquement complexes .

### 4. Colorations et caractéristiques biochimiques

Certains groupes d'actinomycètes tels les nocardio-bactéries ont une paroi cellulaire très riche en lipides et en cires de 60 à 90 carbones appelées acides mycoliques. Ces acides sont des acides gras complexes et leur présence ainsi que celle d'autres lipides à l'extérieur du peptidoglycane rendent les bactéries positives à la coloration de **Ziehl Neelsen (acidoalcoolorésistance)**.

L'acido-alcool-résistance est caractéristique du genre *Mycobacterium*. L'acido-alcool-résistance des *Nocardia* est partielle avec la technique modifiée de **Kinyoun** ou de **Ziehl Neelsen**. A côté de ces colorations, divers tests simples ont été proposés pour distinguer les *Nocardia* des *Rhodococcus*, *Tsukumurella* et *Gordonia*, comme l'analyse de la sensibilité au lysosyme, ainsi que la recherche d'une activité B-galactosidase (enzyme permettant l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose) et d'une nitrate réductase (enzyme qui catalyse la réaction de réduction des nitrates).

## 5. Reproduction, biologie et développement des actinomycètes

La diversité morphologique est un caractère tout à fait remarquable des actinomycètes. Cette diversité morphologique se traduit le plus souvent par une différenciation importante et l'existence d'un cycle biologique semblable à celui de certains eucaryotes. Ainsi, les actinomycètes les plus différenciées développent sur un milieu gélosé une masse d'hyphes mycéliens répartis en deux couches distincts : le mycélium aérien et le mycélium du substrat. Selon les cas, des spores peuvent se former sur le mycélium aérien ou sur le mycélium du substrat ou les deux à la fois, elles permettent la propagation de la souche.

### 5.1. Mycélium du substrat et mycélium aérien

Le mycélium du substrat, également, dénommé mycélium végétatif ou primaire se développe à partir du tube de germination issu de la spore. Chez quelques genres comme *Rhodococcus*, il n'y a pas de véritable mycélium mais seulement croissance d'une propagule originelle formant un filament plus ou moins long se fragmentant ensuite en petites unités et donnant parfois naissance à des ramifications élémentaires. Cette fragmentation des hyphes est présente chez des genres généralement dépourvus de spores ou n'en produisant qu'un petit nombre. Les sporoactinomycètes produisent un véritable mycélium du substrat, ramifié ou non fragmenté. Des parois transversales peuvent être formées pour isoler les parties les plus âgées du mycélium. Des spores sont formées sur le mycélium du substrat chez des genres comme *Micromonospora*, *Micropolyspora*, et parfois *Streptomyces*. La largeur des filaments mycéliens varie de 0,5 à 2 µm. Leur ramification est très souvent monopodiale mais parfois dichotomique ou verticillée. Le mycélium du substrat est ancré dans le support solide ou il puise ses nutriments. Sa croissance, de type apicale, est analogue à celle observée en milieu liquide.

Le mycélium aérien ou mycélium secondaire, est formé d'hyphes dressés sur le mycélium du substrat. Ces hyphes aériens sont plus épais et beaucoup moins ramifiés que les hyphes du substrat. Ils sont en général pigmentés et enfermés dans une enveloppe externe hydrophobe. Divers mutants de *Streptomyces* sans mycélium aérien ou incapables de sporuler ont été décrits (Chater et Merrick, 1979).

## 6. Formation des spores

Les spores d'actinomycètes ont une fonction de dispersion et de survie dans des conditions défavorables de croissance végétative. Les divers types de spores des actinomycètes peuvent être classés en deux groupes principaux selon leur mode de formation :

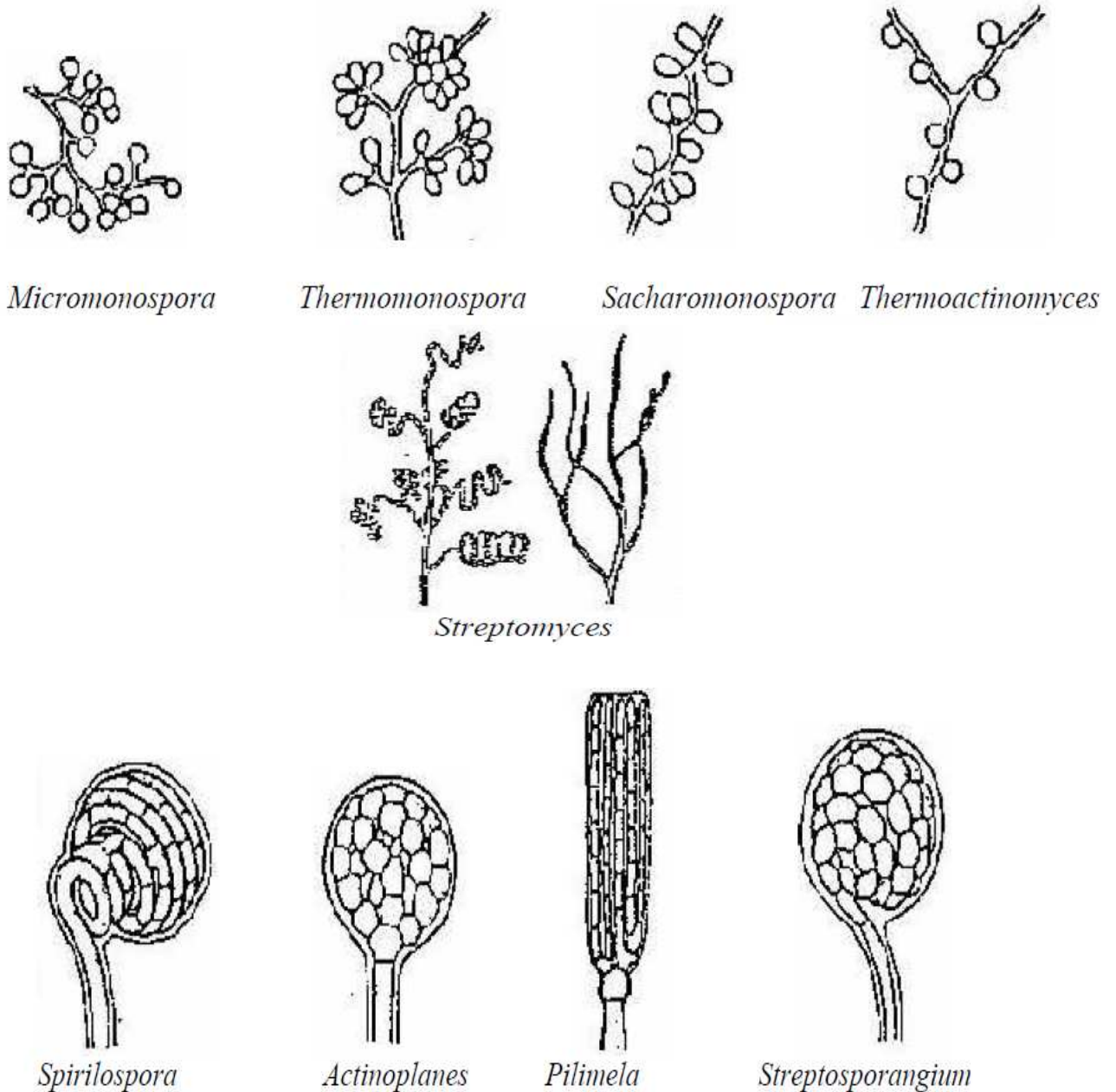
**6.1. Les exospores :** les actinomycètes qui forment généralement des exospores sont le type le plus fréquent, elles sont formées par septation d'hyphes existants et séparation des éléments obtenus.

**6.2. Les endospores :** les endospores sont produites par des actinomycètes thermophiles, elles sont issues d'une réorganisation cytoplasmique et de la formation d'une nouvelle paroi dans l'hyphe existant.

La viabilité des spores est fonction de leur type : des endospores de *Thermoactinomyces* ont survécu plusieurs centaines d'années dans des sédiments lacustres à 5° C. Comparativement, des exospores sèches de *Streptomyces* survivent 20 à 30 ans comme les conidies de champignons. (Beppu, 1986, 1992 ; Grafe *et al.*, 1984 ; Khokhlov, 1986; Vitalis *et al.*, 1986). La thermorésistance des endospores est nettement supérieure à celle des exospores en milieu sec ou humide (Leveau et Buix, 1993). Les spores d'actinomycètes comme par exemple les *Streptomyces* ne résistent pas à des températures supérieures à 50 °C en chaleur humide et à 70°C en température sèche (Larpent *et al.*, 1989). Il existe cependant plusieurs autres espèces qui résistent à des températures plus élevées (El-Nakeeb et Lechevalier, 1963). C'est le cas de l'espèce *Actinomyces invulnerabilis*, que les spores ne se détruisent qu'à une température de 130°C, le traitement à 120°C inhibe seulement leur germination. Les spores des genres thermophiles tel que *Thermoactinomyces*, *Saccharomonospora*, ou thermotolérants tel que *Pseudonocardia*, *Microbispora*, etc., sont également résistantes à des températures élevées.

### 6.3. La germination des spores

A l'issue d'une dormance dont la durée est fonction du type et des conditions du milieu, les spores germent pour donner naissance à un mycélium. On distingue généralement quatre étapes : l'activation, l'initiation, l'émergence du tube de germination et la croissance.



**Figure N°1** : Différentes chaînes de spores chez les actinomycètes ; spores endogènes et spores exogènes (Breton *et al.*, 1989).

#### 6.4. Structure particulières

Certains actinomycètes forment des structures particulières qui ne correspondent ni au mycélium ni aux spores et dont la fonction n'est pas toujours définie.

-**Sclérotés** que l'on trouve chez espèce du genre *Chainia*, sont forme d'un masse d'hyphes cloisonnes dont les vacuoles sont chargées de triglycérides et d'acide gras ramifiés

- **synnemata ou corémies** correspondent aux assemblages compact d'hyphes dressés qui fusionnent parfois et qui portent de conidies latérales, les corémies définissant aussi des colonnes d'hyphes caractéristiques des genre *Actinosynnema*, ou bien des vésicules différentes des spores chez les *Frankia* et les *Dactylosporangium*

-**Les sporanges** sont des sacs contenant des spores.

-**Les conidies** sont des spores asexuées qui peuvent avoir plusieurs organisations :

\* une seule conidie tel que le genre *Micromonospora*.

\* une paire de conidies chez le genre *Microbispora* .

\* chaînes courtes de conidies formées d'un nombre inférieur ou égale à 20 spores par chaîne.

\* longues chaînes de conidies formées d'un nombre plus de 20 spores par chaîne.

\* conidies rassemblées dans des synnemata (spores mobiles et qui peuvent être libérées).

### 7. L'importance des actinomycètes dans les différentes industries

#### 7.1. Dans la production d'antibiotiques

Les actinomycètes sont le pilier de l'industrie des antibiotiques et jouent un rôle important dans la production de divers médicaments très importants pour la santé humaine (Magarvey et al, 2004). La recherche de nouveaux antibiotiques efficaces contre les bactéries pathogènes résistantes est actuellement un domaine important de recherche sur les antibiotiques. Plus de 80 % des antibiotiques dans le monde proviennent des actinomycètes. Les Streptomycètes sont les premiers organismes producteurs d'antibiotiques exploitées par l'industrie pharmaceutique (Ramesh et al, 2009; Jensen et al. 2007). Les antibiotiques produit par les actinomycètes font partie de plusieurs classes chimiques, telles que des acides glycosides comme la streptomycine et la kanamycine (Nanjawade et al., 2010), les ansamycines comme la rifampicine (Floss et Yu, 1999), les anthracyclines comme la doxorubicine (Kremer et Van Dalen, 2001), les  $\beta$ -lactamines (céphalosporines) (Kollef, 2009), les macrolides (par exemple, l'érythromycine) et la tétracycline (Harvery et Champe, 2009).

Certains actinomycètes, produisent à la fois plus d'une substance antibiotique et que le même antibiotique peut être produit par différentes espèces d'actinomycètes (**Waksman et al, 2010**). Voici quelques exemples d'antibiotiques produit par les actinomycètes :

### 7.1.1. Pénicilline

La pénicilline est connue d'être produite par les champignons. Elle est aussi biosynthétisée par certaines espèces d'actinomycètes. La pénicilline inhibe la synthèse de composants structuraux essentiels de la paroi cellulaire bactérienne plus exactement le peptidoglycane qui est absent dans les cellules de mammifères. Ainsi, le métabolisme de la cellule hôte n'est pas affecté et les pénicillines sont considérées comme un des plus sûrs et le plus efficace parmi toutes les classes d'antibiotiques connus. C'est une molécule également la moins toxique. Elle possède un large spectre d'activité contre les bactéries Gram-positif, mais montre une faible activité contre les aérobies Gram négatif. Il est généralement recommandé pour le traitement des infections causées par des Streptocoques, des Staphylocoques, Les *Pasteurella multocida*, *Neisseria*, *Clostridium* (**Park et Strominger, 1957**). La pénicilline est rapporté être produit en grande quantité par *Streptomyces Lavendulae* (**Torres et al., 1999**).

### 7.1.2. Tétracycline

Les molécules de tétracycline comprennent un noyau tétracyclique pour laquelle une variété de groupes fonctionnels sont attaché. Les tétracyclines sont à large spectre, présentant une activité contre une large gamme de bactéries Gram-positif et des bactéries Gram-négatif, des organismes atypiques tels que les chlamydiae, les mycoplasmes, les rickettsies et les protozoaires sont sensibles. Ils sont aussi largement utilisés comme additifs de croissance des animaux. La première tétracycline, (auréomycine) a été produite par *Streptomyces aureofaciens*. En raison de l'utilisation répandue des tétracyclines, les résistances ont été développés dans de nombreux pathogènes, ce qui limitait leur utilité. Deux nouvelles classes de la tétracycline, les glycylyclines et aminomethylcyclines, représenté par la tigécycline et PTK-0796 sont actuellement utilisées.

### 7.1.3. Fattiviracins

Les fattiviracins sont des diester macrocycliques constitués de quatre unités de D-glucose et de deux acides gras hydroxylés (C24 et C33).

Les fattiviracins ont une activité puissante contre des virus à ADN enveloppés telles que la famille de l'herpès, HSV-1 et VZV et des virus à ARN enveloppé tels que la grippe A et B. Le producteur de ce type d'antibiotique est *Streptomyces microflavus* (Uyeda, 2003). Fattiviracins agissent sur les VIH-1 directement sans lyse des particules, et il permet l'inhibition de l'entrée virale dans le des cellules hôtes (Habib *et al*, 2001).

#### 7.1.4. Céphamycines

Les céphamycines sont des antibiotiques bêta-lactamines avec une structure cephem. Dix étapes enzymatiques sont impliquées dans la formation de céphamycine C (Lires et Demain, 2009). Contrairement à la plupart des céphalosporines, les céphamycines sont des antibiotiques très efficaces contre les microbes anaérobies. L'ornithine carbamoyltransferases (OTCases) qui fait partie de ce groupe, est produite à partir des espèces appartenant aux actinomycètes comme *Streptomyces clauligerus* et *Nocardia lactamdurans* (Miller *et al*, 1972. Fuente *et. al*, 1996). Ces antibiotiques présentent une activité antibactérienne contre un large spectre de bactéries, qui comprend un grand nombre qui sont résistants aux céphalosporines et aux pénicillines (Stapley *et al.*, 1972).

#### 7.1.5. Les aminosides

Dans une molécule aminoglyside, un ou plusieurs sucres aminés sont joints à des liaisons glycosidiques à un cyclitol dibasique (Mingeot-Leclercq *et al.*, 1999). Les aminosides sont la meilleure classe d'antibiotiques qui se lie directement aux ARN ribosomique. La cause aminoglycosides diminue la précision de translation et inhibe la translocation du ribosome (Davies *et al*, 1965; Davies et Davis, 1968). Ils sont utiles dans le traitement de l'infection grave causée par des bactéries Gram-négatives. ils inhibent la synthèse des protéines des microorganismes entraînant une rapide action bactéricide dépendante de la concentration (Bryan *et al.*, 1977). *Streptomyces kanamyceticus*, *Streptomyces spectabilis*, *Streptomyces tenjimariensis* et *Micromonospora sp*, sont les producteurs de ces antibiotiques.

## 7.2. Dans la production d'enzymes

Les actinomycètes sont une très importante source d'enzymes. Ils sont notamment producteurs d'une des plus importantes enzymes industrielles, le glucose isomérase, utilisée

Pour la fabrication d'isoglucose (mélange glucose-fructose) (**Bhosale et al. 1996**). De plus, les actinomycètes ont la capacité de dégrader une grande variété de polymères comme les lignocelluloses (**Adhi et al. 1989, Niladevi et Prema, 2005**) ou encore la chitine (**Gomez et al., 2000**). Ils possèdent ainsi toute une variété d'enzymes intervenant dans ces dégradations: des chitinases, des endo-glucanases, des peroxydases, des cellulases (**Grigorevski de Lima et al., 2005**) ou encore des xylanases et des estérases (**Zimmermann et al., 2006**). Les actinomycètes produisent aussi de multiples protéases (**Patke et Dey 2002, Vonothini et al., 2008**) qui peuvent ensuite trouver des applications dans l'industrie alimentaire ou l'industrie des détergents (**Oestergaard et Sjoeholm 2001, Moreira et al., 2002**). En outre, les enzymes issues d'actinomycètes sont aussi utilisées dans les procédés de bioconversion. Ainsi, la fabrication d'acrylamide à partir d'acrylonitrile fait intervenir la nitrile hydratase de *Rhodococcus rhodochrous* J1 (**Kobayashi et al., 1992**). Enfin, de part leur capacité à dégrader de nombreux xénobiotiques comme les nitriles (**Martinkova et Milerova, 2003**), les dioxines (**Iida et al., 2009**) ou encore les composés halogénés (**Janssen et al., 2005**). Les actinomycètes suscitent l'intérêt pour l'usage de leurs enzymes dans la décontamination des sols pollués (**Martinkova et al., 2008**).

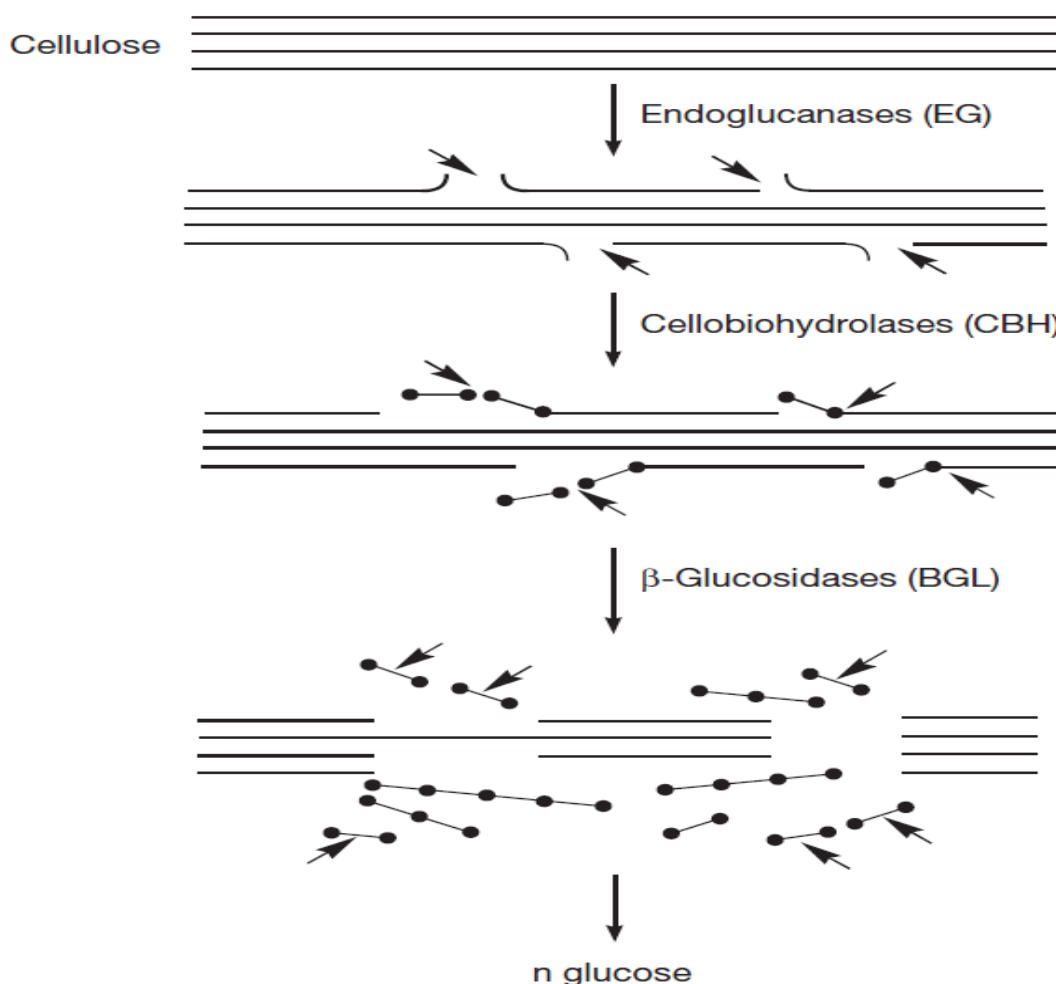
### 7.2.1. Cellulase et cellulolyse

Les enzymes impliquées dans la dégradation de la cellulose, appelées communément cellulases sont produites par les actinomycètes en particulier les espèces thermophiles et les streptomycètes. Ils sont capables de la dégradation de la cellulose soit sécrétées dans le milieu, soit associées à la surface externe des micro-organismes formant des systèmes complexes appelés cellulosomes (cas des bactéries anaérobies).

Les cellulases ont d'abord été classées selon leur mode d'action catalytique. Elles sont maintenant classées selon leur structure, comme toutes les enzymes agissant sur les sucres. Il existe trois types d'activités enzymatiques cellulolytiques complémentaires pour l'hydrolyse totale de la cellulose :

- les endoglucanases (EG) qui coupent la cellulose aléatoirement au niveau des zones amorphes de la cellulose, générant de nouvelles extrémités de chaînes,
- les exoglucanases, comprenant les cellodextrinases et les cellobiohydrolases (CBH), qui agissent de façon processive sur les extrémités libres des chaînes de cellulose, libérant du glucose pour les glucanohydrolases ou du cellobiose pour les cellobiohydrolases,

– les  $\beta$ -glucosidases ou  $\beta$ -glucoside glucohydrolases (EC 3.2.1.21) qui hydrolysent les cellodextrines solubles et le cellobiose en glucose.



**Figure N°2 :** Mode d'action des cellulases sur les fibrilles de cellulose (**Référence électronique1**).

### 7.2.2. Les ligninases

Les autres enzymes qui peuvent être intéressantes sont les ligninases. Celles-ci sont classées en trois catégories : les lignines peroxydases, les peroxydases Mn-dépendantes et les laccases (monophénol oxydases). Elles sont produites essentiellement par des champignons comme les basidiomycètes de la pourriture blanche, et par quelques actinomycètes.

Parmi les principaux des espèces d'Actinomycètes on cite *Streptomyces thermoviolaceus*,

*Streptomyces viridosporus*, *Streptomyces fusca*. Les ligninases peuvent améliorer le rendement d'hydrolyse de la cellulose dans le cas de certaines matières lignocellulosiques et de certains prétraitements. Leur ajout dans le mélange est nécessaire à l'hydrolyse enzymatique pourrait également avoir un impact sur les conditions ou le mode de prétraitement.

### 7.2.3. Les pectinases

La production d'enzymes pectolytiques est élaborée par différents genres d'actinomycètes tel que : *Micromonospora*, *Microbispora*, *Actinoplanes*, *Streptosporangium* et les *Streptomyces* (Demain et Solomon, 1985 ; Sanglier *et al.*, 1993). La dégradation complète des pectines est conduite par l'action combinée de trois activités pectolytiques (pectine lyase, pectinestérase, polygalacturonase).

### 7.2.4. Les xylanases

Elles sont élaborées par des espèces thermophiles du genre *Streptomyces* et des souches du genre *Promicromonospora*, ainsi que par différentes espèces de *Microbispora*, *Micromonospora* et *Thermomonospora* (Demain et Solomon, 1985 ; Rivas *et al.*, 2003 ; Petrosyan *et al.*, 2003).

### 7.2.5. Les amylases

Elles sont produites par la majorité des actinomycètes, les plus intéressantes sont celles produites par les espèces thermophiles comme *Thermoactinomyces vulgaris*, *Thermomonospora curvata*, *Saccharomonospora viridis* et les espèces du genre *Streptomyces*.

### 7.2.6. Les dextrinases

Elles sont excrétées par de nombreuses souches d'*Oerskovia Xanthineolytica* et *Actinomyces Israeli* (Demain et Solomon, 1985).

### 7.2.7. Les chitinases

Elles sont produites par de nombreux genres d'actinomycètes tel que les genres *Microbispora*, *Micromonospora*, *Nocardiopsis*, *Planobispora*, *Planomonospora*, *Thermoactinomyces*, *Thermomonospora* et par les espèces *Nocardia mediterranei*,

*Actinomadura pelletierii* (Hsu et Lockwood, 1975 ; Demain et Solomon, 1985).

Les chitinases (EC 3.2.1.14) sont des enzymes responsables de l'hydrolyse de la chitine au niveau de la liaison glucosidique  $\beta$  (1-4) N-acétyl glucosamine. Ainsi, les bactéries chitinolytiques marines, d'eau douce ou du sol produisent des chitinases qui participent à la biodégradation et au recyclage des chitines produites annuellement dans leur écosystème respectif. Les chitinases bactériennes sont également impliquées dans des processus digestifs. En effet, les bactéries du genre *Streptomyces* produisent des enzymes chitinolytiques qui, en modifiant la composition des structures chitineuses, favorisent leur adhésion au substrat et leur pénétration au niveau des lésions formées sur l'exosquelette de leurs hôtes.

**Tableau N°2** : Exemples d'enzymes employées dans différents secteurs industriels (Kirk et al, 2005).

Secteur industriel ou Classe d'utilisation	enzyme	application
Industriel des détergents	-Cellulase -Amylase -Protéase -lipase	-Nettoyage, clarification des couleurs -Enlèvement des tâches d'amidon -Enlèvement des tâches protéiques -Enlèvement des tâches des graisses
Industriel des boissons	-Pectinase -Amylase	-dépectinisation, clarification des jus, broyage. - Traitement des jus.
Produits laitiers	-Pectine méthyl estérase -Protéase -lipase	-Affermissement de produit à base de fruits. -Lait caillé. -Aromes des fromages.
Industriel textile	-cellulase -Pectate lyase	-Assouplissement du coton -Lessivage
Pâte à papier	-Cellulase -Xylanase	-Désencrage, améliorant de drainage. -Modification de la fibre -Augmentation du blanchiment

## 8. Importance des actinomycètes dans l'agriculture

Les principaux organismes capables de transformer l'azote gazeux de l'air ( $N_2$ ) en azote combiné puis, à partir de l'ammoniac ( $NH_3$ ), ainsi formé, en acides aminés et en protéines, sont des microorganismes procaryotes (bactéries, actinomycètes, algues bleues). Certains d'entre eux peuvent fixer l'azote en vivant librement dans le sol; d'autres, pour le faire, ont besoin de vivre en symbiose avec une plante, autrement dit de céder leurs composés azotés à une plante-hôte, en échange des substances énergétiques que leur procurent celles-ci. Les microorganismes libres fixateurs d'azote sont assez nombreux; on en connaît plusieurs dizaines d'espèces. En revanche, les microorganismes fixateurs d'azote qui vivent en symbiose avec des plantes supérieures sont en nombre limité. Il s'agit de: algues bleues, des *Rhizobium*, bactéries principalement associées aux plantes de la famille des légumineuses et des *Frankia*, actinomycètes associés à des espèces végétales réparties dans plusieurs familles de plantes à fleurs, bien que le résultat final de la symbiose soit le même.

Les plantes dites actinorhiziennes (*actino* pour actinomycètes et *rhizos* racine) établissent de la même manière une symbiose fixatrice d'azote avec des bactéries filamenteuses appartenant à un genre particulier d'actinomycètes, le genre *Frankia*. Ces plantes, toutes pérennes et ligneuses, appartiennent à environ 200 espèces réparties dans 24 genres appartenant à huit familles d'angiospermes phylogénétiquement très diversifiées (Franche *et al.*, 2009). La plupart des genres de *Casuarinaceae*, *Coriariaceae*, *Eleagnaceae*, *Datisceae* et *Myricaceae* sont nodules, alors que seulement quelques espèces des genres *Betulaceae*, *Rhamnaceae* et *Rosaceae* le sont. Ces espèces vivaces sont distribuées sur toutes les surfaces terrestres du globe, aussi bien en zones froides avec de fortes variations saisonnières qu'en zones tropicales sans différence marquée entre les saisons. Des exemples de genres bien connus incluent *Alnus* (aulne), *Eleagnus*, *Hippophae* et *Casuarina*.

Les *Frankia* induisent une courbure de l'extrémité des poils absorbants dans laquelle ils pénètrent. Une fois les *Frankia* à l'intérieur du poil absorbant, au lieu d'un cordon d'infection, il se développe des filaments, appelés hyphes infectieux, qui s'allongent et atteignent les cellules de l'écorce racinaire. Les hyphes sont entourés d'une gaine de nature pectique synthétisée par la plante. En dehors de ces hyphes, il existe, en général, dans les cellules infectées par les *Frankia* un autre type de structure, les vésicules, de formes sphériques ou ovoïdes, qui sont le siège de la fixation de l'azote.

Dans ce cas comme dans celui des *Rhizobium*, les formes des nodules varient avec la plante-hôte et avec l'âge des nodules. Lorsque les bactéries symbiotiques sont installées dans les cellules des nodules, l'azote gazeux atmosphérique se transforme en azote combiné  $\text{NH}_3$ . Cette transformation, qui est chimiquement une réduction, est catalysée par une enzyme spécifique, appelé nitrogénase, (**Kennedy et al., 1966**). Ces dernières opèrent chez toutes les bactéries fixatrices d'azote, qu'il s'agisse de bactéries vivant librement dans le sol ou de bactéries symbiotiques comme *Rhizobium* ou *Frankia*.

## **9. Les actinomycètes en tant qu'agents employés dans les processus de biodégradation**

Une des propriétés les plus significatives des actinomycètes est leur capacité à se développer sur les substrats les plus divers en synthétisant les enzymes extra ou intracellulaires (**Lopes et al. 1999**). L'action des enzymes du catabolisme conduit à la dégradation des nutriments les plus variés.

### **9.1. La biodégradation des composés organiques naturels**

Les actinomycètes sont des microorganismes saprophytes, qui jouent un rôle dans la dégradation de la matière organique naturelle et donc un rôle dans le recyclage des biopolymères complexes comme la cellulose, la lignocellulose, la pectine et le xylane par la production d'enzymes extracellulaires qui sont d'une importance majeure dans l'industrie. La dégradation de ces biopolymères par les enzymes peut être le résultat d'un mécanisme Radicalaire (oxydation biologique) ou d'un changement chimique (hydrolyse biologique). Dans le cas de l'oxydation biologique, les enzymes réagissent directement avec l' $\text{O}_2$ . Comme les **cytochromoxidases** qui sont des enzymes actives dans la chaîne respiratoire. La plupart du temps, l'oxygène est incorporé directement au substrat (cas des **oxygénases**). Parfois, il joue le rôle d'un accepteur d'hydrogène (cas des **oxydases**) (**Chandra et Rustgi, 1998**).

### **9.2. La biodégradation des composés organiques de synthèse**

Les capacités biodégradatrices des actinomycètes ne se limitent pas seulement aux composés organiques naturels mais concernent également des substrats organiques plus difficiles à dégrader car peu solubles dans l'eau. Il s'agit des hydrocarbures (chaînes Hydrocarbonées), de phénols et d'autres composés récalcitrants (**Kimura et Urushigawa, 2001 ; Lin et al., 2005**).

Le principal mécanisme enzymatique pour l'assimilation et/ou la détoxification de substrats organiques peu dégradables est l'oxydation enzymatique par les **monoxygénases** ou **dioxygénases**: il y a formation de groupes polaires qui permettent d'augmenter la solubilité de nombreux substrats organiques peu soluble dans l'eau (hydrocarbures ou hydrocarbures aromatiques polycycliques) et de faciliter ainsi leur assimilation (**Cerniglia, 1992 ; Pelmont, 1993 ; Bossert et Kosson, 1997**). C'est également, le mécanisme de biodégradation des Composés nitroaromatiques (**Nishino and Spain, 1997**) et des substrats organochlorés tels que les chlorobiphényles (**PCB**) (**Focht, 1997**). Pour ces derniers, la déchlorination bactérienne a été démontrée en condition anaérobie avec formation de métabolites facilement biodégradables en aérobiose. de la biodégradabilité à partir des réactions connues de biodégradation (**Bollag, 1974 ; Niemi and Veith, 1989 ; SEFA, 1990**).

### **9.3. Exemples de composés organiques qui peuvent être dégradés par les genres d'actinomycètes**

#### **\*Pouvoir dégradant des *corynébactéries***

Parmi les actinomycètes le sous-ordre *Corynebacterineae* héberge la majorité de microorganismes dégradants les xénobiotiques. Les espèces des genres *Gordonia*, *Rhodococcus* et *Mycobacterium* sont les mieux connues pour leur versatilité métabolique et leur capacité de dégrader les xénobiotiques rencontrées au hasard dans l'environnement (**Bell et al., 1998 ; Arenskotter et al., 2004 ; Larkin et al., 2005**).

#### **\*Pouvoir dégradant du genre *Gordonia***

Dans les dernières années plusieurs rapports sont publiés sur les souches *Gordonia* ayant un pouvoir dégradant des composés xénobiotiques. Plusieurs isolats de ce genre utilisent le benzène, le toluène, le xylène, le pyrène et le diester de phthalate comme seule source de carbone et d'énergie. Deux espèces du genre *Gordonia* sont capables de métaboliser plusieurs diesters de phthalate : la souche *Gordonia* sp.MTCC 4818, croit sur le dibutyle-, le butyle benzyle- et le diphényle phthalates et la souche *Gordonia* sp.P8219 qui croit sur le diéthyle-, le dinonyl-, le dihexyle- et le di-2-éthyle hexyle phthalate (**Chatterjee et Dutta, 2003 ; Nishioka et al., 2006**). Les voies de dégradations du butyle benzyle phthalates par la souche MTCC 4818 sont bien étudiées.

La première réaction est l'hydroxylation qui donne les monoesters de phthalate, l'acide phthalique, l'alcool de benzyle et le butanol ; l'acide phthalique est le produit final de la réaction (**Rose et Steinbuchel, 2005**).

#### **\*Pouvoir dégradant du genre *Rhodococcus***

Plusieurs espèces du genre *Rhodococcus* sont isolées des sols pollués. Ceci est dû à leur versatilité métabolique, les voies métaboliques de plusieurs isolats sont étudiées en détails. Les mono- et dioxygénases sont caractérisés biochimiquement et génétiquement chez beaucoup d'espèces de ce genre (**Gurtler et al., 2004**).

Les hydrocarbures aromatiques et aliphatiques halogénés sont des produits toxiques et résistants à la dégradation biologique. Bien que beaucoup de microorganismes sont capables de dégrader le benzène monochloré, seulement quelques espèces du genre *Rhodococcus* peuvent utiliser ce substrat (**Zaitsev et al., 1993 ; Reh fuss and Urban, 2005**). La dégradation des esters de phthalates par *Rhodococcus* est devenue très documenté. Quelques organismes sont isolés à partir des sols lourdement contaminés par les phthalates et les tétraphthalates (**Aleshchenkova et al., 1996**). De nombreuses espèces isolées du genre *Rhodococcus* dégradent un large spectre de composés récalcitrant. Par exemple, *R.opacus* SAO101 est capable de croître sur le phénol, le benzène, le 4-nitrophénol, le biphényle, le naphthalène, le dibenzofurane et le dibenzo-pdioxine (**Kimura et Urushigawa, 2001**).

La dégradation versatile du genre *Rhodococcus* est due à la présence de larges plasmides linéaires portant des gènes codant pour la dégradation de différents composés (**Van der Geize et Dijkhuizen, 2004 ; Konig et al., 2004**). Un exemple de ces organismes est *Rhodococcus* sp.RHA1, qui utilise de multiples systèmes enzymatiques pour dégrader le biphényle et contenant des gènes codant pour la dégradation des phthalates (**Patrauchan et al., 2005**).

#### **\*Pouvoir dégradant du genre *Mycobacterium***

Les Mycobactéries sont présentes en nombre élevé dans les sols contaminés par une faible concentration de PAHs par rapport aux sols contaminé par une concentration élevée de ceux-ci. Plusieurs espèces du genre *Mycobacterium* sont aussi capable de dégrader les tri-, tétra- et penta-chlorophénols (**Apajalahti et Salkinoja-Salonen, 1987 ; Haggblom et al. 1988**). D'autres études ont montré le rôle important de ce genre dans la dégradation du toluène (**Tay et al 2001**).

**Tableau N°3:** Exemples de composés organiques synthétiques métabolisés par les actinomycètes.

composé	microorganisme	bibliographie	Type de dégradation
Hydrocarbures Monoaromatiques : Benzène, toluène,xylène ,phénols,crésols.	<i>G.alkanivorans</i> CC-J39 <i>Mycobacterium sp.</i> TI03, TI04 <i>R.opacus</i> M213 <i>R.phenolicus</i> G2P <i>Rhodococcus sp</i> .DK17 <i>Rhodococcus sp</i> .MS11	Lin et al ., 2005 Uz et al ., 2000 Kimura and urushigawa , 2001 Rechfuss and Urban, 2005 Kim et al . , 2002 Rapp and Gabriel-jugens, 2003	SCE* SCE SCE SCE SCE SCE
Hydrocarbures Polyaromatiques (PAH)	<i>Gordonia-like Strain</i> BP9	Mutnuri et al ., 2005	SCE
Acide phtalique	<i>Rhodococcus sp</i> .RHAI <i>Rhodococcus sp</i> .YU6 <i>M .vanbaalenii</i> PYR-1	Navarro-Liorens et al . , 2005 Patrochan et al . , 2005 Jang et al . , 2005 Stingley et al . , 2005	SCE SCE SCE
Esters d'Acide phtalique	<i>Rhodococcus ATCC21766</i>	Nalli et al . , 2002	Cométabolisme avec l'hexadécane
Monochlorobenzène Dichlorobenzène Mono-et dichlorpphenol Tri-et tetrachlorobenzènes  pentachlorophénol	<i>R.phenolicus</i> G2P <i>Rhodococcus sp</i> .MS11 <i>R.opacus</i> ICP <i>R.percolatus</i> MBSI <i>Rhodococcus sp</i> .MS11  <i>M.chlorophenicum</i> CP-2	Rehfuss and urban,2005 Rapp and Gabriel-jugens, 2003 Gurther et al .,2004 Brigilia et al .,1996 Rapp and Gabriel-jugens, 2003  Haggbloom et al .,1988	SCE SCE SCE SCE SCE  Mineralisation en présence de 0 ,1% de glucose
Gomme isoprène	<i>G .westfalica</i> Kb2 <i>G .polyisoprenivorans</i> Kd2	Linos et al . , 2002 Linos et al . , 2002	SCE SCE

## 10. Pouvoir pathogène des actinomycètes

Quelques actinomycètes sont pathogènes pour les êtres vivants. Ils sont responsables de plusieurs maladies humaines et animales. Les plus sérieuses sont l'actinomycose, les tumeurs (mycétomes), les Nocardioses, les tuberculoses (**Boiron et al., 2005 ; Provost et al., 1997; Lemriss et al., 2003**). Ils provoquent également des maladies des plantes comme la gale commune de la pomme de terre qui est causée par plusieurs micro-organismes du sol dont le plus important est *streptomyces scabies*.

### 10.1. Les maladies des plantes provoquées par les actinomycètes

Peu de maladies des plantes sont provoquées par les actinomycètes. Notons une gale de la patate douce provoquée par (*Streptomyces ipomoeae*). Des *Streptomyces* peuvent aussi s'attaquer à la betterave à sucre et à de jeunes plants de pommiers et d'érables à sucre. De plus, *Nocardia vaccinii* est la cause d'une gale des myrtilliers. De nombreux actinomycètes peuvent profiter de blessures des arbres pour s'introduire dans leurs vaisseaux et les boucher. Certaines espèces dont *Streptomyces flavovirens* peuvent dégrader la lignocellulose et jouer un rôle secondaire dans la carie des bois.

### 10.2. Les maladies humaines provoquées par les actinomycètes

#### 10.2.1. Tumeurs

Les mycétomes sont des infections granulomateuses chroniques de la peau et des tissus sous-cutanés, qui libèrent, par des fistules, des grains filamenteux de couleur variable selon l'agent pathogène en cause (**Palestine et al., 1982**). Ce dernier est un organisme saprophyte du sol ou des végétaux, de nature fongique ou bactérienne (d'origine actinomycétome dans l'agent pathogène étant *Actinomadura madurae*, *A. pelletieri*, *Nocardia asteroides*, *Streptomyces somaliensis*). La pénétration de l'agent se fait par inoculation traumatique (piqûre par un épineux, arête de poisson, blessure par un outil, voire même piquûre d'insecte ou morsure de serpent...). (**Mariat et Destombes et Segretain, 1977**).

Les mycétomes se présentent comme une tuméfaction indurée qui infiltre progressivement les tissus mous avoisinants. Cette infiltration est typiquement parsemée de multiples fistules qui émettent par intermittence du pus contenant des grains (**Palma et al., 2006**).

Selon la revue de la littérature, trois formes cliniques sont décrites :

\*une forme inflammatoire réalisant des placards inflammatoires parsemés d'innombrables fistules avec émission de grains.

\*une forme tumorale caractérisée par une véritable masse tumorale.

\*une forme enkystée (**Welsh et Vera-Cabrera, 2007**). La forme majoritaire dans notre série était la forme inflammatoire polyfistulisée. L'émission des grains n'est pas toujours rapportée, bien que cette particularité soit pathognomonique des mycétomes et constitue un élément majeur d'orientation diagnostique et étiologique. Ainsi, les grains rouges sont toujours actinomycosiques, les grains noirs sont toujours fongiques alors que les grains jaunes et blancs peuvent révéler un mycétome actinomycosique (**Kallel et Belhadj, 2005**). Les localisations au niveau de la main, la cuisse, le genou et D'autres localisations dans paroi abdominale, nuque, cou, région dorsolombaire. Le caractère multiple des mycétomes n'est pas habituel. Il révèle une dissémination par voie lymphatique de l'agent pathogène à partir d'un foyer initial. Le recours à l'imagerie est indispensable au bilan d'extension préthérapeutique et au suivi évolutif de l'atteinte osseuse, mais également des parties molles, conditionnant l'indication du traitement médical, chirurgical ou combiné et le type de geste chirurgical à réaliser.

### 10.2.2. Nocardiose

La nocardiose est une maladie infectieuse provoquée par les espèces appartenant au genre *Nocardia*. L'infection peut être pulmonaire, cérébrale, cutanée ou disséminée (**Beaman et Beman, 1994; Conville et al., 2004**). Ces infections sont surtout contractées par inhalation, plus rarement par voie digestive ou cutanée (**Avril et al., 1992; Saubolle et Sussland, 2003**). C'est une infection opportuniste observée chez des patients immunodéprimés. Elle peut être associée à d'autres pathologies opportunistes comme l'aspergillose, la pneumocystose (**Perschak et al., 1991**). Une corticothérapie au long cours est le facteur prédisposant majeur, mais aussi, les traitements immunosuppresseurs lors de transplantation d'organes, les cancers et les collagénoses (**Filice, 1993**).

### 10.2.3. L'actinomycose

L'actinomycose est une infection chronique rare, d'évolution lente. Le germe responsable est un bacille gram positif anaérobie : *l'actinomyète Israelii*. L'actinomycose est le plus souvent cervico-faciale (60%). La localisation abdominale se voit dans 20% des cas.

L'atteinte hépatique est rare et représente 15% des localisations abdominales et 5% toutes localisations confondues. L'actinomyose hépatique peut simuler un cancer hépatique primitif ou secondaire.

Nous rapportons l'observation d'une patiente qui a présenté une actinomyose hépatique pseudo tumorale. **(Référence Electronique 2)**

### **10.3. Les maladies animales provoquées par les actinomycètes**

Des Actinomycètes thermophiles, surtout les *Faenia* et les *Thermoactinomyces*, sont responsables de pneumonies allergiques dont la plus connue est le poumon de fermier (*farmers' lung*). *Dermatophilus congolensis* pousse dans la peau de nombreux animaux, exceptionnellement dans la peau de l'homme, causant une streptothricose capable de grands ravages chez les moutons dont il ruine la laine. Parmi les infections animales, il ne faut pas oublier le farcin de bœuf provoqué par *Mycobacterium farcinogenes* et une diarrhée chronique des bovins et des moutons (la maladie de Johne) causée par *Mycobacterium paratuberculosis* et autre *Actinomyces bovis*, actinomyose et infections de la mâchoire des bovins. **(Référence Electronique 3)**

## INTRODUCTION

Divers microorganismes, notamment différentes espèces d'**actinomycètes** présentent des capacités de biodégradation des molécules organiques aussi variées que récalcitrantes (non biodégradables). Cette fonction de biodégradation des actinomycètes est due à la variété d'enzymes. Qu'elles peuvent synthétiser. En effet, les enzymes sont après les antibiotiques les plus importants produits des actinomycètes (**Lopes *et al.*, 1999**). L'action de ces enzymes conduits à la dégradation des nutriments et sources d'énergie plus ou moins complexes. Elles sont utilisées dans la dégradation des biomasses végétales et animales, dans l'industrie alimentaire et en biologie moléculaire (**William *et a l.*, 1993**).

D'autres recherches ont montré que certaines espèces d'actinomycètes dégradent des composés organiques de synthèse qui sont en principe non biodégradable (**Moody *et al.*, 2001**)

**Les actinomycètes** constituent un groupe de microorganismes procaryotes sont des bactéries filamenteuses à Gram-positif. Elles constituent l'un des groupes bactériens les plus versatiles et les plus importants de point de vue les actinomycètes colonisent une large variété d'habitats naturels. Ils sont capables de se développer sur une large gamme de substrats. Elles sont présentes dans les sols polaires gelés en permanence tout comme les sols désertiques chauds et secs. Dans le pétrole brut, les sols hautement contaminés avec les métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins et les lacs salés. Par contre, ils semblent être absents des eaux minières très acides ( $\text{pH} < 1$ ) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique. En effet, ces microorganismes ont une grande capacité à produire de nombreux métabolites secondaires ayant des structures chimiques et des activités biologiques très diverses tels que des antibiotiques, des antifongiques, des enzymes, des stimulateurs et/ou des inhibiteurs de la croissance etc....De fait de ces aptitudes, les actinomycètes peuvent représenter un moyen de lutte efficace, persistant et sans effets négatifs vis à vis de l'environnement en comparaison avec les traitements chimiques et remplacer ainsi l'utilisation des antifongiques systémiques.

Les actinomycètes peuvent agir également par compétition nutritionnelle et spatiale Contre les microorganismes phytopathogènes. Leur faculté d'adaptation à différents milieux rhizosphériques leur permet d'être un bon compétiteur. Certaines espèces sont symbiotiques

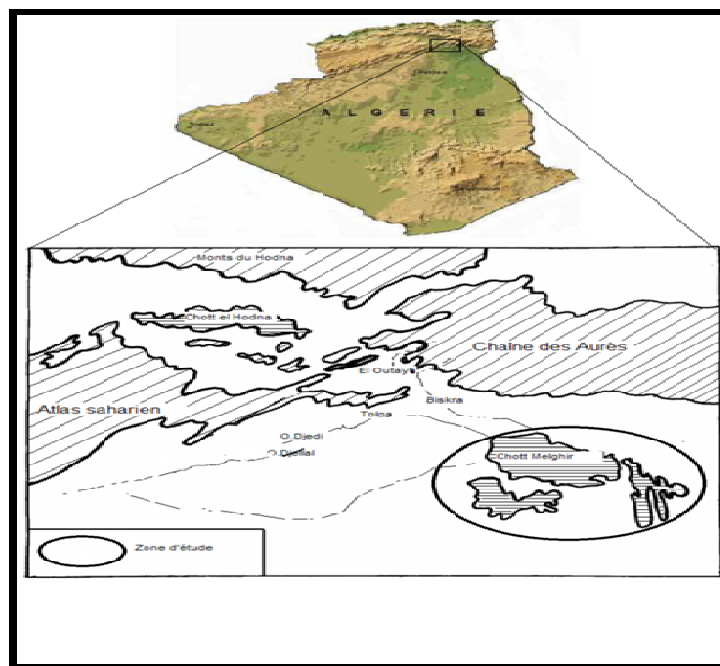
Des plantes supérieures, ces bactéries endophytiques forment des associations appelées actinorhizes permettant la fixation d'azote (**Davidson, 1988**). Le genre *Frankia* établit une association symbiotique avec plusieurs phanérogames. L'exemple le plus connu est l'aulne(*Alnus*) où ces actinomycètes forment au niveau des racines, des nodules où l'azote gazeux est fixé grâce à une nitrogénase (**Baker, 1988**).

**Les principaux objectifs de ce travail** sont d'étudier la biodiversité des actinomycètes dans les sols désertiques du nord-est de l'Algérien « chott Melghir », de tester leurs aptitudes enzymatiques et d'étudier leurs rôles dans certaines biodégradations. Pour cela nous nous sommes assignés les principales étapes suivantes :

- La première phase consiste en l'isolement des actinomycètes. Dans cette partie, il est important d'étudier les milieux sélectifs pour un isolement optimal de ce genre de bactéries à partir de ce type de sol. Il est également question d'établir les conditions physico-chimiques les plus appropriées pour un bon isolement.
- La deuxième phase de nos investigations, concerne l'étude des capacités de biodégradation de ces isolats. Les actinomycètes isolés, sont testés pour leurs aptitudes à dégrader plusieurs composés naturels ou de synthèses (cellulose, substances pectiques) .
- La troisième phase est consacré à l'identification des différents genres bactériens présentant une activité de dégradation importante.

## 1. Présentation de la zone d'étude

Deux échantillons de sol ont été prélevés à partir de deux écosystèmes sahariens. Le premier est prélevé du sol de chott Melghir, le deuxième provient d'un sol loin du même chott. Chott Melghir (Longitude 34°00'00'' et 34°30'01'' Nord, Latitude : 6°07'30'' et 6°30'02'' Est) est un lac salé du Nord-est de l'Algérie. Le Chott est situé au Sud-est de la ville de Biskra. Il est limité au Nord par la Daïra de Zeribet El Oued et Sidi Okba, à l'Est par les Wilaya d'El Oued et de Khenchela et à l'Ouest par la Commune d'El Haouch. Au point de vue administratif, il fait partie de la wilaya d'El Oued, daïra de Reguiba et commune de Hamraïa (**Figure N°1**). Chott Melghir s'étend sur une superficie 551.500 hectares km<sup>2</sup> et est situé à environ 300 km de la mer. Il est le point le plus bas de la géographie algérienne (-24 maximale: -9 m minimale: -35 m d'altitude). Dû à une forte évaporation, il devient régulièrement un désert de sel. Les sols, soit peu évolués ou halomorphes, sont représentés le plus souvent par des hyperhalophiles ou gypso-psammophiles sur cryptosolontchaks.



**Figure N ° 3** : Localisation de la région de chott Melghir.

## 2. Prélèvement des échantillons

Les prélèvements ont été effectués à une profondeur de 15 centimètres en dessous de la surface du sol. Après avoir écarté les 15 centimètres de la couche superficielle du sol, environ 100 grammes de sol sont prélevés puis déposés à l'aide d'une cuillère sur une feuille d'aluminium. Les pierres, les racines et autres débris sont éliminés de l'échantillon prélevé qui est immédiatement transporté au laboratoire d'analyse. **(Pochon et Tradieux 1962)**.

## 3. Analyses physico-chimiques des échantillons

La qualité physico-chimique du sol est importante à connaître car elle conditionne la diversité de la microflore tellurique. Les caractères physico-chimiques étudiés ont été réalisés dans un laboratoire privé d'analyses microbiologiques et physico-chimiques (Sid-Lab, Khenchela). Ils concernent le pH, la conductivité électrique, la salinité, le taux de matière organique, la teneur en calcaire actif, la teneur en carbone et en azote.

### 3.1. Détermination du pH

Des suspensions de sols sont préparées, en déposant 5 grammes de sol dans 12.5 millilitres d'eau distillée. Le pH est alors mesuré à l'aide d'un pH-mètre selon la technique de (NF ISO 10390).

### 3.2. Mesure de la conductivité de l'extrait aqueux 1/5

La  $C_E$  permet de déterminer la salinité d'un sol. Vingt grammes (20 g) de sol tamisée dans un tamis de 2 mm sont mis en suspension dans 100 ml d'eau distillée. Après une heure d'agitation dans un agitateur rotatif suivie d'une demi-heure de repos, la suspension est ensuite décantée dans un bêcher et la conductivité est mesurée à l'aide d'un conductimètre. Les résultats sont exprimés en mS/cm.

### 3.3. Mesure de la salinité

La salinité est une mesure de la concentration des minéraux dissous dans le sol. Si la valeur est trop basse, les plantes seront sous alimentées; trop haute, les plantes dépériront. Cette mesure se prend en mesurant la conductivité électrique du sol entre 2 électrodes. Plus le courant passe, plus la mesure est élevée plus le sol est considéré riche en sel; l'inverse est vrai aussi.

### 3.4. Détermination du carbone organique (C.O)

Le carbone organique est dosé par la méthode Anne, dont le C.O est oxydé par du bichromate de potassium en milieu sulfurique. Le bichromate doit être en excès, la quantité réduite est en principe proportionnelle à la teneur en carbone organique. L'excès de bichromates de potassium est titré par une solution de sel de Mohr en présence de diphenylamine dont la couleur passe du bleu foncé au bleu vert (Aubert, 1978).

### 3.5. Détermination de la matière organique

La matière organique joue un rôle important dans les fonctionnements physique, chimique et biologiques du sol. Elle améliore la cohérence des éléments structuraux, favorise la rétention en eau utile, participe au stockage réversible des éléments nutritionnels, limite le développement de certains parasites, augmente l'aération du sol. La détermination du taux de matière organique est réalisée indirectement, à partir du dosage de la teneur en carbone organique, suivant la méthode normalisée internationale NF ISO 14235. Le taux de matière organique est calculé en multipliant la teneur en carbone par un coefficient stable dans les sols cultivés régionaux, fixé à 1,72 ( $MO = C \times 1,72$ ).

### 3.6. Dosage de l'azote organique

L'azote organique est dosé par la méthode kjeldahl où on transforme l'azote des composés organiques en azote ammoniacal par l'acide sulfurique concentrés, à l'ébullition, qui agit comme oxydant et détruit la matière organique. Le carbone et l'hydrogène se dégagent à l'état de gaz carbonique et l'eau. L'azote transformé en ammoniacque est fixé par l'acide sulfurique à l'état de sulfate d'ammonium. Puis l'ammoniacque est distillée dans une solution d'acide borique. On titre avec une solution d'acide sulfurique à 0.02 N.

### 3.7. Détermination de la teneur en calcaire actif

La terre est mise en contact avec un réactif spécifique (oxalate d'ammonium), qui attaque une fraction du calcaire total seulement. Le calcium extrait est ensuite dosé. Cette méthode d'analyse courante est décrite dans la norme AFNOR NF X31-106.

## 4. Analyses microbiologiques des échantillons

### 4.1. Préparations des dilutions décimales

Pour chaque échantillon, 1g de sol et de sel est introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, les tubes sont ensuite agités au vortex 4 à 5 minutes, à vitesse maximale. Cette suspension est considérée comme étant la solution mère. Une série de dilutions décimales est ensuite effectuée pour l'échantillon de sol de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-6}$ , pour l'échantillon de sel de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-4}$ .

### 4.2. Les milieux d'isolement utilisés

Les milieux d'isolement des actinomycètes utilisés dans cette étude sont les milieux (ISP 5) et (ISP 2). La composition de chaque milieu est indiquée dans l'annexe 1. Pour inhiber la croissance des bactéries Gram négatif qui représentent une concurrence pour les actinomycètes, la polymixine a été ajoutée dans les deux milieux à une concentration de 10 µg/ml (**Larpent et Sanglier, 1989**). La nystatine est utilisée comme un agent antifongique pour éliminer la flore fongique envahissante qui perturbe et empêche les actinomycètes de se développer. Elle est additionnée aux deux milieux de culture à une concentration de 50 µg/ml (**Larpent et Sanglier, 1989**). Les solutions antibactérienne et antifongique ont été stérilisées par filtration à travers une membrane de type millipore de 0.22 µm de porosité et sont ajoutées stérilement aux différents milieux en surfusion refroidis à 45°C. Pour favoriser les halophiles, les milieux d'isolement ont été additionnés de 14% de NaCl.

### 4.3. Ensemencement et incubation

0,1ml de chaque dilution est ensemencé à la surface des boîtes de pétri contenant l'un des trois milieux de cultures, les boîtes sont ensuite incubées à 28° C pendant 21 jours.

### 4.4. Lecture et dénombrement

Des observations quotidiennes sont effectuées après la deuxième semaine d'incubation, afin de déterminer l'aspect macroscopique, la couleur, la taille, la forme et le nombre de colonies qui ont été répertoriées. Une observation sous microscope optique grossissement  $\times 10$  est également effectuée pour déterminer l'aspect filamenteux et poudreux caractéristique des actinomycètes. Le dénombrement des colonies d'actinomycètes est ensuite réalisé par un appareil de comptage des colonies.

#### **4.5. Purification et conservation des souches d'actinomycètes**

Les bactéries actinomycétales sont repiquées dans les milieux (ISP 5) par la méthode des stries jusqu'à purification. Les boîtes sont ensuite incubées à 28° C pendant 7 jours. Le but de se repiquage est d'avoir des colonies pures (**Henri et al., 1995**).

Les souches purifiées sont conservées sur milieu gélose nutritive incliné, après incubation à 28° C pendant 4 à 5 jours. Les cultures sont conservées à 4° C un repiquage est réalisé tout les deux mois (**Suzuki, 2001**).

#### **4.6. Etude des caractères morphologiques**

##### **4.6.1. Observation macroscopique**

L'observation des colonies au microscope optique (grossissement x 10) est effectuée après 7, 14, 21 jours d'incubation à 28°C. La présence ou l'absence des chaînes des spores la disposition des hyphes la couleur des spores de surface sont notées.

##### **4.6.2. Observation microscopique des souches purifiées**

###### **3.6.2.1. Coloration de Gram**

L'observation microscopique est effectuée après une coloration de Gram. Cette coloration permet de mettre en évidence une organisation structurale de la paroi bactérienne qui partage les bactéries en deux groupes distincts : Gram<sup>+</sup> et les Gram- (**Annexe 2**)

###### **4.6.2.2. Technique de culture sur lamelle (Cross, 1989).**

L'observation de la morphologie des chaînes de spores, du mycélium aérien et du mycélium du substrat est effectuée selon la technique de culture sur lamelle. Cette technique consiste à insérer délicatement une lamelle stérile dans un milieu de gélose nutritive, de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° avec la surface de Celui-ci. Une goutte de l'inoculum est déposée contre la lamelle en contact avec le milieu.

Après 14 jours d'incubation à 28°C, la lamelle est retirée soigneusement de la gélose, Entraînant avec elle des fragments du mycélium du substrat et aérien, elle est ensuite déposée sur une lame puis examinée au microscope optique (G x 100).

## 5. Mise en évidence des activités enzymatiques

### 5.1. L'hydrolyse de l'amidon

Ce test enzymatique est réalisé selon la méthode de Gordon et Smith (1953). Sur le milieu nutritif gélosé contenant 1% de l'amidon soluble, les souches à tester sont ensemencées en points par pipettes Pasteur stériles, puis incubées à 45° C pendant 1 à 5 jours. L'hydrolyse de l'amidon s'exprime par l'absence de coloration autour des colonies (halo d'éclaircissement) à l'inverse des zones contenant de l'amidon qui se colorent en brun. L'observation est plus claire en inondant la surface de la gélose avec une solution de lugol.

### 5.2. La recherche des protéinases

#### 5.2.1. Hydrolyse de la caséine

L'hydrolyse de la caséine est étudiée selon la méthode de Williams et cross (1971) sur le milieu caséine-extrait de levure eu au glucose (Annexe). L'apparition de toute zone claire autour des colonies après 14 jours D'incubation à 45° C témoigne de l'hydrolyse de la caséine.

#### 5.2.2. Hydrolyse de la gélatine

Prendre des tubes de la gélatine solidifiée, ayant séjourné préalablement dans de l'eau froide. Ensemencer par piqueur centrale dans le culot par les souches à tester puis incubé à 45° C pendant 21 jours. Les tubes sont ensuite placés une heure au réfrigérateur à +4° C, si la gélatine devient solide cela implique qu'elle n'a pas attaqué, si elle reste liquide, une enzyme extracellulaire la gélatinase l'a hydrolysé (**Larpen et Larpen-Ghourgoud, 1985**).

### 5.3. Recherche de la catalase

Elle est mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraîche d'eau oxygénée. Pour chaque souche une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame stérile sur laquelle quelques colonies sont réparties. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles d'air traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase.

### 5.4. Hydrolyse de la cellulose

Pour chaque isolat d'actinomycètes, 2 tubes à essai contenant chacun 9 ml du milieu liquide ISP9 (**Annexe 1**) sont utilisés. Une bandelette de 0,5 x 10 cm de papier filtre

whatman n°1 stérile sont préparées. L'ensemencement par 1 ml d'inoculum bactérien est réalisé, les tubes sont ensuite incubés à 45° C pendant 21 jours. Un tube non ensemencé sert de témoin. L'activité cellulolytique est mise en évidence par la digestion du papier filtre whatman n°1.

## **5.5. Recherche des lipases**

### **5.5.1. Recherche des estérases**

La recherche de l'estérase est réalisée sur le milieu sierra ajouté de tween 80 (**Annexe**). Après 14 jours d'incubation à 37° C et 45° C, l'apparition d'un halo opaque autour des colonies traduit la présence d'une estérase (**Camille, 2007**).

### **5.5.2. Hydrolyse de la lécithine et les lipoprotéines**

La lécithine est recherchée sur une gélose au jaune d'œuf coulée en boîtes de pétri, ensemencées avec les souches à tester par des touches ou par des stries, puis incubées pendant 1 à 5 jours à 37° C et 45° C. Le jaune d'œuf est un substrat composé de lécithine, triglycérides et d'une lipoprotéine, il permet donc de rechercher trois enzymes : La lécithine : l'apparition d'un halo opaque, blanc jaunâtre, à bord net sous la colonie ou à la limite, indique la présence d'une lécithinase. Si la lécithinase est absente, toute l'opacité floue à la surface de la colonie indique la présence d'une lipase. La lipoprotéinase est révélée par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie.

## **5.6. Recherche de nitrate réductase**

Le test nitrate réductase est réalisé sur le milieu mannitol mobilité, après ensemencement par pique centrale du culot et par des stries sur la pente, les tubes sont incubés à 37°c et 45°C pendant 1 à 5 jours. L'observation s'effectue après l'introduction dans le tube de quelques gouttes de deux réactifs : Nitrate réductase 1 et nitrate réductase 2. Si la pente du milieu se colore en rouge, cela indique la réduction du nitrate par l'enzyme nitrate réductase. En cas d'absence de cette coloration, l'ajout de poudre de zinc dans le tube et l'apparition d'une coloration rose indique la présence du nitrite par réduction chimique du nitrate en zinc. Si la pente est incolore, cela indique que le nitrate est réduit complètement au-delà du stade nitrite en azote gazeux (**Camille, 2007**).

### 5.7. Hydrolyse de la pectine

Les souches sontensemencées sur le milieu pectine-agar (**Annexe 1**) par des touches ou stries, puis incubées pendant 1 à 5 jours à 37°C et 45°C. Les boîtes sont recouvertes par une solution acétate de cuivre et laissés à température ambiante pendant quelques minutes, puis lavées à l'eau distillée stérile. L'activité pectinolytique est mise en évidence par l'apparition de zone claire autour des colonies (**Camille, 2007**).

### 1. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons

Les échantillons étudiés dans ces investigations proviennent du Chott Melghir et du Sol d'El Oued, ils présentent tous des caractéristiques physico-chimiques différentes (**tableau N°4**). En effet, les facteurs physico-chimiques peuvent jouer un rôle important dans la sélection des microorganismes.

**Tableau N°4** : Résultats d'analyses physicochimiques des deux échantillons du sol d'El Oued et sel du Chott Melghir

Echantillons	pH	Conductivité électrique 210000	Salinité (g/L)	Calcaire Actif	Carbone Organique (%)	Matière Organique (%)	Azote (%)
Le Sol d'El Oued	6.98	210000	90	11.70	0.31	0.55	0.027
Le Sel du Chott Melghir	7.82	420000	180	12.60	0.14	0.25	0.012

Les résultats d'analyses nous ont permis de constater que l'échantillon de sel est alcalin, modérément calcaire et très salé selon la norme internationale NF ISO 10693. Il est très pauvre en matière organique et en azote. Quand à l'échantillon de sol, il tend vers la neutralité, faiblement calcaire et salé selon les mêmes normes. Il est également pauvre en matière organique et en azote. A partir des résultats présentés dans le tableau ci-dessus, nous remarquons aussi que le pH diminue au fur et à mesure qu'augmente la dose de la matière organique, ce qui montre l'effet très hautement significatif de la matière organique sur la valeur du pH. L'accumulation calcaire et l'aridité du climat font augmenter le pH. Dans beaucoup de cas, les carences en oligo-éléments sont dues à un pH du sol trop faible (sol acide) ou plus fréquemment un pH trop élevé (sol alcalin). Ce dernier entraîne la formation d'hydroxydes insolubles (**Rogers et al., 2005**)

La conductivité électrique permet d'obtenir une estimation de la teneur globale en sels dissous (**Aubert, 1978**). D'après les résultats obtenus, la conductivité électrique de l'échantillon de sel est le double de celle du sol d'El Oued, avec des taux respectifs de 420000 (uS /Cm) et 210000 (uS /Cm). Ces valeurs confirment la grande différence entre le taux de salinité des deux échantillons et qui est de 180 g/l pour le sel et de 90 g/l pour le sol. La

conductivité électrique varie avec le taux de la matière organique. Elle est élevée avec 0.25% de matière organique, par ailleurs elle décroît avec 0.55% de MO.

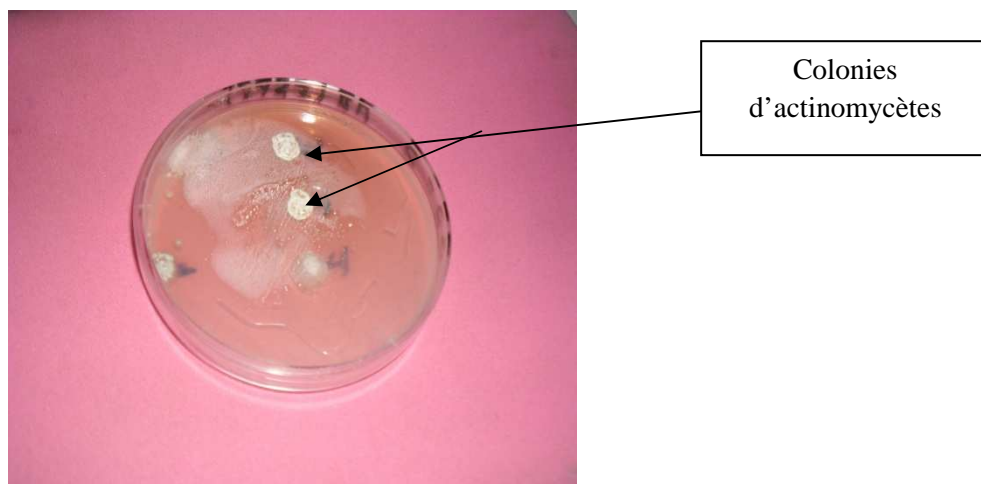
Le taux de matière organique (%) dans un sol est considéré comme : faible (4.0-7.0) ; modéré (7.1-9.0) et élevé (9.1-11.0) d'après **Lee et Hwang (2002)**. Le taux très bas de la matière organique de nos deux échantillons (0.55%) pour le sol et (0.25%) pour le sel, nous permet de conclure que la matière organique dans ces échantillons n'existe que sous forme de traces, il est clair que les sols situés en régions arides sont pauvres en matière organique tandis que la conductivité électrique est élevée pour les sols de ces régions.

## 2. Isolement des Actinomycètes

Après 21 jours d'incubation, les actinomycètes isolés sont représentés dans le **tableau N°5**. Les actinomycètes sont reconnues par leur aspect macroscopique caractéristique, celle-ci sont généralement des colonies d'aspect poudreux ou filamenteux, qui adhèrent fortement à la gélose, les colonies ne dépassent jamais 5 mm de diamètre (**Photographie N°2**).

**Tableau N°5** : Nombre des actinomycètes isolés à partir des deux échantillons.

Echantillons	Nombre de colonies	
	ISP5	ISP2
Milieux		
Sol d'El Oued	9	18
Sel du Chott Melghir	7	9
<b>Total</b>	18	25



**Photographie N°2** : Aspect macroscopique de colonies actinomycétales.

À partir des deux milieux sélectifs utilisés, **43** colonies d'actinomycètes ont été prélevées, elles sont repérées d'après leur aspect macroscopique (colonies dures incrustées dans la gélose et présentent un mycélium végétatif et aérien). Selon les résultats rassemblés dans le **tableau N°6**, on constate que pour les deux milieux utilisés, nous observons une différence importante de la taille de la flore actinomycétale isolée entre les différents échantillons de sols. Le nombre de colonies isolées est de **36** pour l'échantillon **de sol** contre **16** pour l'échantillon **de sel**. Ceci peut s'expliquer par le fait que d'une part l'échantillon de sol est plus riche en matière organique que l'échantillon de sel malgré que le degré de salinité de l'échantillon du sel soit plus élevé que celui du Sol. Ceci est corroboré par la bibliographie des actinomycètes est corrélé positivement avec le taux de la matière organique quelque soit le taux de la salinité du sol (**Lee et Hwang, 2002**). A partir de ce même tableau, il apparaît qu'un nombre plus élevé d'actinomycètes est obtenu avec le milieu ISP2, **25** colonies d'actinomycètes contre **18** colonies pour le milieu ISP5.

Le plus grande nombre de colonies d'actinomycètes est obtenu sur les milieux sans NaCl, en effet le milieu ISP2 sans NaCl s'est montré plus efficace en permettant une bonne récupération d'actinomycètes soit 18 colonies contre 9 pour le milieu ISP2 avec le NaCl. Ceci est vérifié pour le deuxième milieu. En effet, 18 colonies ont été isolées pour le milieu ISP5 sans NaCl contre 7 avec le NaCl avec le même milieu.

### 3. Etude de l'aspect macroscopique et caractères cultureux des actinomycètes isolés

A partir des 43 souches actinomycètes isolées et purifiées, 13 souches ont été sélectionnées sur la base de leurs caractères morphologiques. Les caractères macroscopiques de ces souches d'actinomycètes présentent des formes des couleurs et des textures différentes (Tableaux N°6).

**Tableau N°6:** Caractères macroscopiques des souches isolées à partir du sel et du sol.

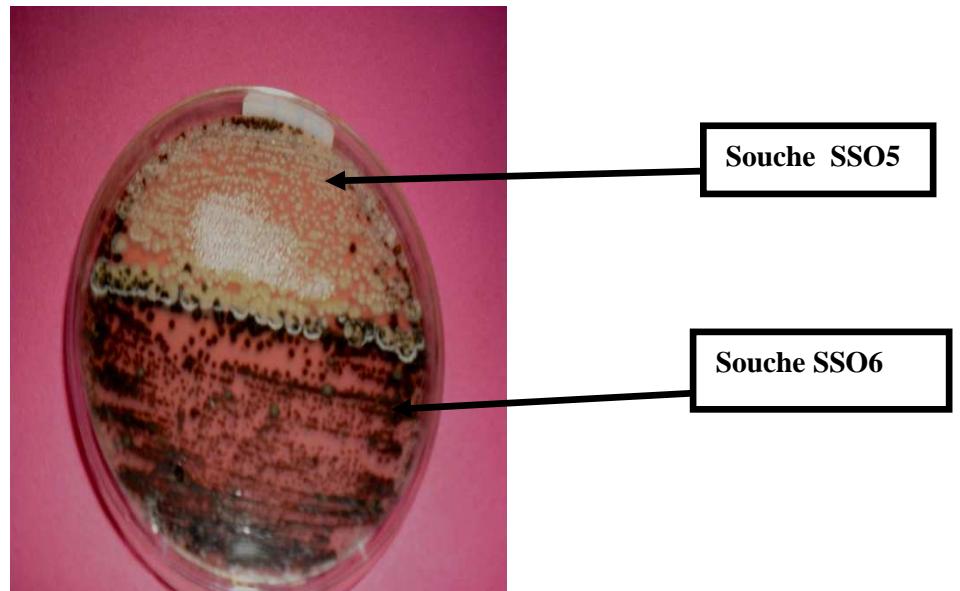
Isolats	Forme	Couleur	Taille	Texture	Elévation	Contour
SSO1	Ronde	Blanche	2 mm	Poudreuse	Bombée	Irrégulier
SSO2	Ronde	Blanche	5 mm	Poudreuse	Plate	Régulier
SSO3	Lobée	Blanche	4 mm	Poudreuse	Plate	Régulier
SSO4	Ronde	Blanche	3 mm	Poudreuse	Plate	Irrégulier
SSO5	Lobée	blanche	2 mm	Poudreuse	Bombée	Irrégulier
SSO6	Lobée	Noir	5 mm	Poudreuse	Bombée	Régulier
SSO7	Lobée	Gris	4 mm	Poudreuse	Bombée	Régulier
SSO8	Lobée	Gris	5 mm	Poudreuse	Bombée	Irrégulier
SSO9	Ronde	Blanche	3 mm	Poudreuse	Plate	Irrégulier
SSO10	Lobée	Gris	4 mm	Poudreuse	Plate	Irrégulier
SSE11	Dentelé	Marron	5 mm	Rugueuse	Bombée	Incrusté sèche
SSE12	Dentelé	Beige	5 mm	Rugueuse	Bombée	Incrusté sèche
SSE13	Dentelé	Beige	5 mm	Rugueuse	Bombée	Incrusté sèche

SSO : Souche Sol

SSE : Souche Sel

Pour toutes les souches, les premiers signes de croissance consistent en l'apparition de colonies épaisses. Après 14 jours, d'incubation la majorité des souches donnent des colonies poudreuses ou granuleuses de différentes couleurs (blanc, noir, gris) (**photographie N° 3**).

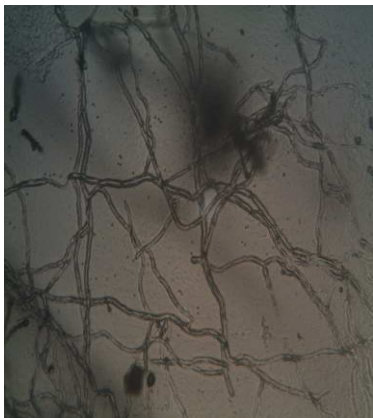
Cet aspect est particulier pour toutes les souches développant un mycélium aérien et de substrat.



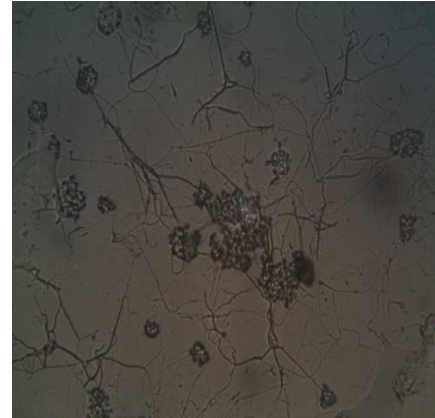
**Photographie N° 3** : Bactéries actinomycèteales purifiées.

#### 4. Essai de pré-identification au niveau du genre des isolats d'actinomycètes par observation du mycélium aérien et de substrat

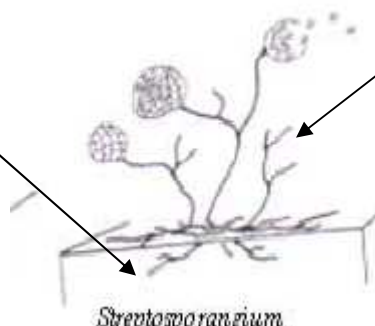
La technique de culture sur lamelle a été utilisée avec succès par plusieurs auteurs pour l'identification des actinomycètes au niveau du genre *Zaitlin et al., 2003*. Elle a été même proposée et figure dans le Bergey's manuel 9<sup>ème</sup> édition. Grace à cette technique nous avons pu malheureusement identifier au niveau du genre uniquement un seul isolat : (le SSO1) (**Photographies 4 et 5**). Les autres actinomycètes ont montré des aspects microscopiques soit pas claire soit incomplet. En effet, cette technique est très délicate et nécessite des répétitions multiples pour avoir une bonne photographie. En plus, les conditions du laboratoire et l'état des microscopes ne permettent toujours pas d'avoir de bon résultats surtout s'il s'agit de souche présentant des filaments très fins.



**Photographie 4:** Mycélium de substrat de la souche SSO1



**Photographie 5:** Mycélium aérien de la souche SSO1



L'observation microscopique de la souche SSO1 montre que le mycélium du substrat est de nature ramifiée et cloisonnée (**Photographie 4**) alors que le mycélium aérien est bien développé et se forme de longs filaments qui se terminent par de nombreux globules ou sporanges (**Photographie 5**). En comparaison avec les clefs d'identification apparues dans la 9<sup>ème</sup> édition du bergey's manual, nous pouvons assigner l'isolat au genre *Streptosporangium*.

### 5. Mise en évidence de certaines activités enzymatiques des isolats d'actinomycètes

Les résultats des activités enzymatiques des 13 souches sélectionnées sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau N°7** : Résultats des activités enzymatiques des 13 souches sélectionnées

Isolats	SSO1	SSO2	SSO3	SSO4	SSO5	SSO6	SSO7	SSO8	SSO9	SSO10	SSE11	SSE12	SSE13
Enzymes													
catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
amylase	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pectinase	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Gelatinase	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Caseinase	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Esterase	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Cellulase	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Lécithinase	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Lipoproteinase	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
Nitrate reductase	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+

#### 5.1. Activité amylolytique

A partir du **Tableau N°7** on remarque que 7 souches sur 13 présentent une activité amylolytique sur le milieu à base d'amidon. Après addition du Lugol, l'apparition d'un halo clair autour de la colonie traduit la dégradation de l'amidon (**Photographie N°6**), cela montre que les souches testées possèdent une amylase. Ces résultats ressemblent à ceux présentées par **Kuo et Hartman (1966)**, qui ont montré la production des amylases thermophiles par les souches de *Thermoactinomyces vulgaris*. Nos résultats montrent que cette enzyme est produite par des actinomycètes thermophiles à une température de 45°C comme il a été démontré que cette dernière est produite par une espèce thermophile (*Thermobifid* NTU22) vivant à une température optimale de 60°C (**Chao et Wen, 2007**).



**Photographie N° 6:** Test de l'hydrolyse de l'amidon par les souches d'actinomycètes.



### 5.3. Activité pectinolytique

D'après les résultats obtenus, 8 isolats parmi les 13 souches présentent une bonne activité pectinolytique. Les autres souches ne possèdent pas cette aptitude (**photographie N°9**). la production d'enzymes pectinolytiques est élaborée par différents genres d'actinomycètes tel que : *Micromonospora*, *Microbispora*, *Actinoplanes*, *Streptosporangium* et *Streptomyces* (Demain et Solomon, 1985 ; Sanglier *et al.*, 1993).



**Photographie N°9:** Résultat de l'hydrolyse de la pectine sur les souches d'actinomycètes sur le milieu pectine-agar.

### 5.4 . Activité cellulolytique

Les résultats de l'utilisation de la cellulose par les 13 souches d'actinomycètes testées figurent dans le **tableau N°8**, 10 souches présentent une activité cellulolytique sur le milieu ISP9 liquide contenant de la cellulose comme seule source de carbone et d'énergie. Cela se traduit par une digestion du papier Whatman N°1 (**photographie N°10**) indiquant que les souches testés possèdent l'enzyme responsable de l'hydrolyse de la cellulose (cellulase). Ces enzymes sont généralement produites par les actinomycètes, en particulier les espèces thermophiles et les streptomycètes (Sanglier, 1993) ce qui explique leur utilisation en industrie en industrie du textile (Ando *et al.*, 2002), la bioconversion des déchets cellulosiques, l'industrie du papier, des additifs dans l'alimentation animale, des aides digestives dans le domaine thérapeutique et plus récemment pour la production de biocarburant (Sukumaran *et al.*, 2005).

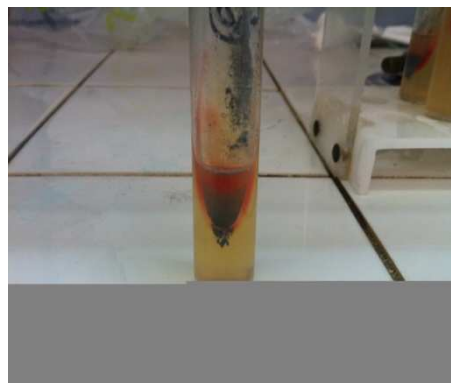


**Photographie N° 10:** Résultat de l'activité cellulolytique des souches d'actinomycètes sur milieu liquide ISP9 contenant une bandelette de papier Whatman N°1.

### 5.5. Teste de nitrate réductase

Les résultats de la réduction du nitrate par les souches d'actinomycètes testé figure dans le **Tableau N°8** on constate que parmi les 13 souches testé seulement 4 présentent une réduction du nitrate sur le milieu mannitol-mobilité-nitrate. Cette activité est traduite par une réaction colorée en rouge après l'ajout des deux réactifs qui sont le nitrate reductase 1 et le nitrate reductase 2 (**photographie N°11**). Cela expliqué par la présence de nitrite et les 4 souches ont réduit le nitrate en nitrite par l'utilisation des nitrates réductases.

La présence de nitrate dans le sol est issue des rejets des collectivités locale, de l'industrie et principalement de l'agriculture suite à l'épandage des doses massives d'engrais azotés et de lisier (effluents d'élevage). Les nitrates constituent aujourd'hui la cause majeure de pollution des grands réservoirs d'eau souterraine et du sol dans le globe.



**Photographie N° 11:** Mise en évidence du nitrate réductase sur le milieu mannitol-mobilité-nitrate par les isolats.

### 5.6. Activité protéolytique

Le **Tableau N°8** nous montre 8 résultats positifs sur les 13 souches testées, elles ont une croissance modérée sur le milieu caséine à extrait de levure et au glucose ainsi l'apparition de toute zone claire autour des colonies témoigne de l'hydrolyse de la caséine (**photographie N°12**) Ces résultats sont en accord avec ceux présentés par **Gulve et Deshmukh (2011)** pour l'étude des activités enzymatiques des actinomycètes isolés à partir des sédiments marins, ou ils ont montrés que les genres *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia*, *Saccharopolypora* possèdent une activité protéolytique. Ainsi que les travaux de **Kurup et al., (1975)** qui montrent la capacité d'une nouvelle souche d'actinomycètes thermophile *Thermophilus Thermoactinomyces candidus* à dégrader la caséine. Pour l'hydrolyse de la gélatine, on constate que 17 sur 20 sont positifs, ce qui se traduit par la liquéfaction de la gélatine par une enzyme extracellulaire qui est la gélatinase après l'emplacement des tubes environ une heure à +4°C (figure). Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **Djaballah (2010)** dont il a assigné la liquéfaction de la gélatine par des souches halophiles et halotolérants isolés de la sebkha d'Ain M'Lila qui sont proches des genres *Actinopolyspora*, *Streptoaloteichus*, *Streptosporagium*, *Kitasatospora*, les travaux de **Iwasaki et al., (1981)** ont montrés également que *Streptomyces sannanensis* liquéfie la gélatine à 4°C pendant 1 heure.



**Photographie N°12:** Résultats des tests sur les souches protéolytiques, (à gauche dégradation de la gélatine et à droite la dégradation de la caséine)

### 5.7. Activité de la catalase

Le test de la catalase montre un résultat positif pour toutes les souches (**tableau N°8**). La présence de la catalase est détectée par la production de bulles d'air lors d'un contact de la culture avec l'eau oxygénée (**photographie N°13**). Les actinomycètes sont aérobies et ont normalement toute une catalase. S'il avait eu des résultats négatives, cela mériterait plus d'attention.



**Photographie N°13** : Résultat positif de la catalase d'une souche actinomycétale

## Conclusion

L'utilisation des actinomycètes dans l'élimination des différents déchets industriels, agricoles, pharmaceutiques... sont des sujets d'actualité. Ces bactéries sont dotées d'un grand pouvoir de dégradation de molécules organiques naturelles et xénobiotiques à cause de la présence d'une variété d'enzymes dans leur métabolisme.

13 actinomycètes ont été isolés et purifiés à partir de deux écosystèmes sahariens, le sol de la région d'El-Oued et le sel du chott Melghir de la même région. Ces bactéries sont considérées comme étant des organismes extrêmophiles du fait des caractéristiques physico-chimiques des écosystèmes d'où elles proviennent.

L'emploi de plusieurs milieux sélectifs pour l'isolement des actinomycètes est nécessaire afin d'isoler le maximum de ces bactéries. En effet, les 13 isolats obtenus dans cette étude, ont été isolés à partir du milieu ISP2 et du milieu ISP5

Les 13 actinomycètes isolés, présentent tous des activités enzymatiques très variées. La totalité des isolats présente une action positive pour les tests de nitrate réductase. Plusieurs de nos isolats ont des activités positives contre la pectine, l'amidon, la gélatine, les caséines, etc. Ces résultats sont intéressants et ouvrent des perspectives certaines dans le domaine des enzymes thermostables très recherchés dans l'industrie des biotechnologies bactériennes.

Un seul isolat a fait l'objet d'une pré-identification morphologique. Il s'agit de SSO1, isolé à partir du sol d'El Oued, il est assigné au genre *Streptosporangium*.

Considérant les résultats très satisfaisants, Nous espérons poursuivre nos investigations par identification des isolats au niveau de l'espèce. L'extraction et la purification de ces enzymes et l'optimisation de leurs utilisations dans les domaines de biotechnologie sont également envisageables. Nous espérons aussi, continuer nos travaux en explorant d'autres extrêmes inexploités.

- ADHI, T.P., KORUS, R.A. AND CRAWFORD, D.L. (1989)** Production of major extracellular enzymes during lignocellulose degradation by two streptomycetes in agitated submerged culture. *Appl Environ Microbiol* **55**, 1165-1168.
- ALESHCHENKOVA Z. M., SAMSONOVA AS., BAIKOVA SV., KUKULIANSKAIA TA. (1996).** the degradation of plasticizers by *Rhodococcus erythropolis* 40F. *Mikrobiol. Z.* **58**, 34-38.
- APAJALAHTI J. H., SALKINOJA-SALONEN M. S. (1987).** Dechlorination and para-hydroxylation of polychlorinated phenols by *Rhodococcus chlorophenicus*. *J. Bacteriol.* **169**, 675–681.
- AVRIL J.L., DABERNA H., DENIS F. AND MONTEIL H. (1992).** Bactériologie Clinique. Seconde Édition, Marketing, Paris. 490-498.
- ARENSKÖTTER M., BROKER D., STEINBUHEL A. (2004).** Biology of the metabolically diverse genus *Gordonia*. *Appl. Environm. Microbiol.* **70**, 3195-3204
- BASILIO, A. (2003).** Patterns of antimicrobial from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *J.Appl. Microbiol.*, 95: 814-823.
- BEAMAN B.L. AND BEAMAN L. (1994).** *Nocardia* species: host parasit relationships. *Clin. Microbiol. Rev.* **7 (2)**, 13-264.
- BELL K. S., PHILP J. C., AW DWJ., CHRISTOFI N. (1998).** The genus *Rhodococcus*. *J. Appl. Microbiol.* **85**, 195–210.
- BEPPU T. (1986).** Regulatory substances and genes for differentiation and antibiotic synthesis in actinomycetes. In: *Biological, Biochemical and Biomedical Aspects of actinomycetes.* Eds: G. Szabo, S.Biro, M. Goodfellow. Akademiai kiado, Budapest. 15-23.
- BEPPU T. (1992).** Secondary metabolites as chemical signals for cellular differentiation. *Genes.* **115**, 159-165.
- Birch, A. (1990)** Genome rearrangement and genetic instability in *Streptomyces* sp. *J Bacteriol* **27**: 4138-4142.
- BHOSALE, S.H., RAO, M.B. AND DESHPANDE, V.V. (1996)** Molecular and industrial aspects of glucose isomerase. *Microbiol Rev* **60**, 280-300.
- BOLLAG J. M. (1974).** Microbial Transformation of Pesticides. *Adv. Appl. Microbiol.* **18**, 75-130.

- BOULAHROUF A., FONTY G. ET GOUET P. (1986).** Study of plant cell wall polysaccharides degrading bacteria in the digestive tract of rabbit and mice. In: "Proceeding of International Seminary on biology of anaerobic bacteria." Eds : Dubourguier H.C. Edition Elsevier-Amsterdam.
- BOSSERT I. D. AND KOSSON D.S. (1997).** Methods for Mesuring Hydrocarbon Biodegradation in Soils. In *Manual of Environmental Microbiology.* Eds : Hurst C.J. *et al.* ASM Press 1997.
- BRETON A., THEILLEUX J., SANGLIER J.J., VIOBIS G. (1989).** Organismes producteurs: biologie, taxonomie et écologie. In "Biotechnologie des Antibiotiques". Larpent J.P. et Sanglier J.J., Masson, Paris, pp: 33-70
- BRYAN LE, VAN DEN ELZEN HM.** Effect of membrane energy mutations and cations on streptomycin and gentamicin accumulation by bacteria: a model for entry of Streptomycin and gentamicin in susceptible and resistant bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 1977;12:163-77.
- CERNIGLIA C.E. (1992).** Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Biodegradation.* **3**, 351-368
- CHATER K.F., MERRICK M.J. (1979).** Streptomycètes, in: Developmental Biology of prokaryotes. Ed : J.H. PARISH. University of California press, Berkeley and Los Angeles. 93-114 .
- Chatterjee S. and Dutta T.K. (2003).** Metabolism of butyl benzyl phthalate by *Gordonia* sp. strain MTCC 4818. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **309**, 36-43.
- CHAUN J., SEONG C. N., BAE S. K., LEE K. J., KANG S. O., GOODFELLOW M. AND HAH Y. C. (1998).** *Nocardia flavospora* sp. nov. *Inter. J. Syst. Bacteriol.* **48**, 901-905.
- CONVILLE P.S., BROWN J M., STEIGERWALT A. G., LEE J. W., ANDERSON V.L., FISHBAIN J. T, HOLLAND S. M. AND WITEBSKY F.G. (2004).** *Nocardia kruczakiae* sp. nov., a pathogen in immunocompromised patients and a member of the "N. nova Complex" *J. Clin. Microbiol.* **42 (11)**, 5139-5145.
- CURRY W. (1980).** Human nocardiosis. A clinical review with selected case reports. *Arch. Intern. Med.* **140**, 818-8
- DAVIES J, DAVIS BD.** Misreading of ribonucleic acid code words induced by aminoglycoside antibiotics. *J Biol Chem.* 1968;243:3312-6.
- DAVIES J, GORINI L, DAVIS BD.** Misreading of RNA codewords induced by aminoglycoside antibiotics. *Mol Pharmacol.* 1965;1:93-106.
- DEMAIN A.L. AND SOLOMON N.A. (1985).** Biology of industrial microorganisms. The

Benjamin/Cummings publishing company, Inc. 291-357.

- EDWARDS C. (1993)** Isolation properties and potential application of thermophilic actinomycetes. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 42, 161-179.
- EL-NAKEEB M.A., LECHEVALIER HA., (1963).** Selective isolation of aerobic actinomycetes. *Appl Microbiol.* 75-7.
- FILICE G.A. (1993).** Nocardiosis. *In: Fungal diseases of the lung.* Sarosi G.A., Davies S.F. (Eds). Raven Press, New York. 191-204.
- **FOCHT D.D. (1997).** Aerobic Biotransformation of Polychlorinated Biphenyls. *In Manual of Environm Microbiol.* Eds : Hurst, C.J., et al. ASM Press.
- FRANCHE, C., K. LINDSTROM, C. ELMERICH (2009).** « Nitrogen-fi xing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. » *Plant and Soil* 321(1-2): 35-59
- FUENTE JL, MARTIN JF, LIRAS P.** New type of hexameric ornithine carbamoyltransferase with arginase activity in the cephamycin producers *Streptomyces clavuligerus* and *Nocardia lactamdurans*. *Biochem J.* 1996; 320:173-9.
- GOODFELLOW M., WILLIAMS S.T. (1983)** Ecology of actinomycetes, *Annu. Rev. Microbiol.* 37, 189-216.
- GRAFE U., ERITT I., FLECK W.F. (1984).** On the role of A-factor in cytodifferentiation of anthracycline producing strains of *streptomyces griseus*. *Actinom.* 18, 220-246.
- GRIGOREVSKI DE LIMA, A.L., PIRES DO NASCIMENTO, R., DA SILVA BON, E.P. AND COEHLO, R.R.R. (2005)** *Streptomyces drozdowiczii* cellulase production using agro-industrial by-products and its potential use in the detergent and textile industries. *Enzyme Microb Technol,* 37, 272-277.
- GURTLER V., MAYALL B.C., SEVIOUR R. (2004).** Can whole genome analysis refine the taxonomy of the genus *Rhodococcus*. *FEMS. Microbiol. Rev.* 28, 377-403.
- HABIB ES, YOKOMIZO K, NAGAO K, HARADA S, UYEDA M.** Antiviral activity of fattiviracin FV-8 against human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). *Biosci Biotechnol Biochem.* 2001;65:683-5.
- HÄGGBLUM MM., NOHYNEK L. J., SALKINOJA-SALONEN MS. (1988).** Degradation and O-methylation of chlorinated phenolic compounds by *Rhodococcus* and *Mycobacterium* strains. *Appl. Environm. Microbiol.* 54, 3043-3052
- HANKIN L., ZUCKER M. AND SANDS D. C. (1971).** Improved solid medium for the detection and enumeration of pectolytic bacteria. *Appl. Microbiol.* 22, 205-209
- HARVERY RA, CHAMPE PC.** *In: Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology.* 4th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins 2009.

- HOLLAND S. M. AND WITEBSKY F.G. (2004).** *Nocardia kruczakiae* sp. nov., a pathogen in immunocompromised patients and a member of the "N. nova Complex" J. Clin. Microbiol. **42** (11), 5139-5145.
- HOLT RIG, KWAN J.T.C., SEFTON A.M. AND CUNNINGHAM J. (1993).** Successful treatment of concomitant pulmonary nocardiosis and aspergillosis in an immunocompromised renal patient. Euro. J. Clin. Microbiol. Infect Dis. **12**, 110-112.
- HOLTZ H.A., LAVERY D.P., KAPILA R. (1985).** Actinomycetales infection in the acquired immunodeficiency syndrome. Ann. Intern.Med. **102** (2), 203-205.
- HSU S. C. AND LOCKWOOD J.L. (1975).** Powdred chitin agar as a selective medium for enumeration of Actinomycetes in water and soil. Appl. Microbiol. **29**(3), 422-426.
- I. R. KENNEDY .**Biochimie, Biopys, Acta130 ,517 ,1966.
- IIDA, T., MOTEKI, Y., NAKAMURA, K., TAGUSHI, K., OTAGIRI, M., ASANUMA, M., DOHMAE, N., USAMI, R. AND KUDO, T. (2009)** Functional expression of three rieske non-heme iron oxygenases derived from actinomycetes in *Rhodococcus* species for investigation of their degradation capabilities of dibenzofuran and chlorinated dioxins. Biosci Biotechnol Biochem **73**, 822-827.
- JANSSEN, D.B., DINKLA, I.J.T., POELARENDS, G.J. AND TERPSTRA, P. (2005)** Bacterial degradation of xenobiotic compounds: evolution and distribution of novel enzyme activities. Environ Microbiol **7**, 1868-1882.
- JENSEN PR, WILLIAMS PG, OH DC, ZEIGLER L, FENICAL W.** Species-specific secondary metabolite production in marine actinomycetes of the genus *Salinispora*. Appl Environ Microbiol. 2007.
- KALLEL K, BELHADJ S, KARABAKA A, KAOUECH A, BEN OSMAN DHAHRI A, BEN CHAABANET.** Qu'en-est-il des mycétomes en Tunisie ? A propos de 13 cas colligés en 13 ans. J Mycol Med 2005 ; 15 : 56-60.
- KILLIAN CH.ET FEHER D., (1939).** Microbiology of desert soils. pp: 21-127.
- KIMURA N. AND URUSHIGAWA Y. (2001).** Metabolism of dibenzo-p-dioxin and chlorinated dibenzop- dioxin by a gram-positive bacterium, *Rhodococcus opacus* SAO 101. J. Biosci. Bioeng. **92**, 138-143.
- KIRK O., DMHUS T., BORCHERT TV., FUGLSANG CC. (2005).** Enzyme applications industrial in: seldel A(Ed)-Kirk-Othmer. encyclopedia of chemical technology. 5th edition, New-York.Wilet-Interscience. 248(10), 317-898.

- KHOKHLOV A.S. (1986).** Actinomycete autoregulators. In : Biological, biochemical and biomedical aspects of actinomycetes. Eds : G. Szabo S. Biro M. Goodfellow. Akademiai kiado, Budapest. 791-798.
- KOBAYASHI, M., NAGASAWA, T. AND YAMADA, H. (1992)** Enzymatic synthesis of acrylamide: a success not yet over. *Trends Biotechnol* 10, 402-408.
- KOLLEF MH.** New antimicrobial agents for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Crit Care Resusc.* 2009;11:282-6.
- KONIG C., EULBERG D., GRONING J., LAKNER S., SEIBERT V., KASCHABEK SR. AND SCHLOMANN M. (2004).** A linear megaplasmid, p1CP, carrying the genes for chlorocatechol catabolism of *Rhodococcus opacus* 1CP. *Microbiol.* **150**, 3075-87.
- KREMER LC, VAN DALEN EC, OFFRINGA M.** Anthracyclineinduced clinical heart failure in a cohort of 607 children: long-term followup study. *J Clin Oncol.* 2001.
- LARKIN M.J., KULAKOV L.A. AND ALLEN C.C. (2005).** Biodegradation and *Rhodococcus* masters of catabolic versatility. *Curr. Opin. Biotechnol.* 16, 282-290.
- LARPENT J.P. ET LARPENT-GOURGAUD M. (1985).** Manuel pratique de microbiologie. Hermann. Paris. 157-162.
- LARPENT J.P. ET SANGLIER J.J., (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Ed. Masson, Paris 481 p.
- LECHEVALIER M.P. (1988)** Actinomycetes in agriculture and forestry. In“Actinomycetes in Biotechnology”. Goodfellow M.G., Williams S.T. & Modarski M. Ed., Academic Press London, New-York, pp: 327-358.
- LECHEVALIER M.P. AND LECHEVALIER H.A. (1994).** *Nocardia amarae* sp. nov. an actinomycète common in foaming activated sludge .
- LERNER P.I. (1996).** Nocardiosis. *Clin. Infect. Dis.* **22**, 891-905.
- LEVEAU J.Y. ET BUIX M. (1993).** Les Actinomycètes. In. : Les microorganismes d'intérêt industriel. Ed : Florent J. Edition Tec et Doc. Lavoisier Apria. 424-480.
- LIRAS P, DEMAÏN AL.** Chapter 16. Enzymology of beta-lactam compounds with cephem structure produced by actinomycete. *Methods Enzymol.* 2009;458:401-29.
- MAGARVEY NA, KELLER JM, BERMAN V, DWORKIN M, SHERMAN DH.** Isolation and characterization of novel marine-derived actinomycete taxa rich in bioactive metabolites. *Appl environ microbial.* 2004;70:7520.
- MARIAT F, DESTOMBES P, SEGRETAÏN G.** The mycetomas: clinical features, pathology, etiology and epidemiology. *Contrib Microbiol Immunol* 1977 ; 4 : 1-39.

- MARTINKOVA, L. AND MILEROVA,V. (2003)** Synthetic applications of nitrile-converting enzymes. *Curr Org Chem* **7**, 1279-1295.
- MILLER TW, GOEGELMAN RT, WESTON RG, PUTTER I, WOLF FJ.** Cephameycins, a new family of beta-lactam antibiotics. Isolation and chemical characterization. *Antimicrob Agents Chemother.* 1972;2:132-5.
- MINCER, T. L., P. R. JENSEN, C. A. KAUFFMAN ET W. FENICAL. 2002.** Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *App. Environ. Microbiol.* 68: 5005-5011.
- MINGEOT-LECLERCQ MP, GLUPCZYNSKI Y, TULKENS PM.** Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:727-37 .
- MOREIRA, K.A., ALBUQUERQUE, B.F., TEIXEIRA, M.F.S., PORTO, A.L.F. AND LIMA, J.L. (2002)** Application of protease from *Nocardiosis* sp. as a laundry detergent additive. *World J Microbiol Biotechnol* **18**, 307-312.
- NICEMOL JACOB K.N., NILADEVI G.S. AND ANISHA, P. (2006).**Hydrolysis of pectin: An enzymatic approach and its application in banana fiber processing. *Microbiological Research, (article in press) .*
- NIEMI G.J. AND VEITH G.D. (1989).** An Approach for Development of Structure-Biodegradation Relationships of Organic Chemicals. *Aquat. Toxicol. Environm. Fate.* **11**, 459-467.
- NILADEVI, K.N.AND PREMA, P. (2005)** Mangrove actinomycetes as the source of ligninolytic enzymes. *Nippon Hosenkin Gakkaishi* **19**, 40-47.
- NOWAK J., ASIEDU S.K., LAZAROVITS G., PILLAY V., STEWART A., SMITH C. AND LIU Z. (1995)** Enhancement of *in vitro* growth and transplant stress tolerance of potato and vegetable plantlets co-cultured with a plant growth-promoting rhizobacterium. In: *Proceedings of the International Symposium on Ecophysiology and Photosynthetic In Vitro Cultures* (Carré F. and Chagvardieff P., eds), CEA, Aix-en-Provence, France, pp. 173-180.
- OESTERGAARD, P.R. AND SJOEHOLM, C.** Use of acid-stable proteases in animal feed. Patent WO2001058276. 16th August 2001.
- OSADA H.** Actinomycetes, how fascinating microorganisms. *Actinomycetologica.* 1998;12:85-8.
- PALESTINE RF, ROGERS RS 3RD.** Diagnosis and treatment of mycetoma. *J Am Acad Dermatol* 1982 ; 6 : 107-11.
- PALMA L, MARINELLI M, PAVAN M, MANSO E, RANALDI R.** A rare European case of Madura foot due to actinomycetes. *Joint Bone Spine* 2006 ; 73 : 321-4.

- PATKE, D. AND DEY, S. (1998)** Proteolytic activity from a thermophilic *Streptomyces megasporus* strain SDP4. *Lett Appl Microbiol* **26**, 171-174.
- PATRAUCHAN M.A., FLORIZONE C., DOSANJH M., MOHN W.W., DAVIES J. AND ELTIS LD. (2005).** Catabolism of benzoate and phthalate in *Rhodococcus* sp. strain RHA1: redundancies and convergence. *J. Bacteriol.* **187**, 4050-4063.
- PERSCHAK H., GUBLER J., SPEICH R., RUSSI E. (1991).** Pulmonary nocardiosis concurrent with *Pneumocystis carinii* pneumonia in two patients undergoing immunosuppressive therapy. *J. Infec.* **23**, 183-185.
- PETROSYAN P., GACIA-VARELA M., MADRIGAL A., HUITRON C. AND FLORES M.E. (2003).** *Streptomyces mexicanus* sp. nov., a xylanolytic microorganism isolated from soil. *Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**, 269-273.
- PRESANT C.A., WIERNIK P.H. AND SERPICK A.A. (1973).** Factors affecting survival in nocardiosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* **108**, 1444-1448.
- RIVAS R., SANCHEZ M., TRUJILLO M. E., ZURDO-PINEIRO J.L., MATEOS P.F., MARTINEZ-MOLINA E. AND VELAZQUEZ E. (2003).** *Xylanimonas cellulosityca* gen. Nov., sp. Nov., a xylanolytic bacterium isolated from a decayed tree (*Ulmus nigra*). *Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**, 99-103.
- ROSE K. AND STEINBUCHER A. (2005).** Biodegradation of natural rubber and related compounds: Recent insights into a hardly understood catabolic capability of microorganisms. *Appl. Environm. Microbiol.* **71**, 2803-2812.
- SANGLIER J.J., WELLINGTON E.M.H., KAMOUN A., KELLY C., MERCER D.K., PRINZIS S. AND TRIGO C. (1993).** Novel bioactive compounds from Actinomycetes. *Res. Microbiol.* **144**,661-663.
- SAUBOLLE M. A. AND SUSSLAND D. (2003).** Nocardiosis: Review of Clinical and Laboratory Experience. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 4497–4501
- SINGLETON P., (1999),** Bactériologie, Edition Duonod 4ème édition Paris. P.415
- STAPLEY EO, JACKSON M, HERNANDEZ S, ZIMMERMAN SB, CURRIE SA, MOCHALES S.** Cephamycins, a new family of betalactam antibiotics. I. Production by actinomycetes, including *Streptomyces lactamdurans* sp. n. *Antimicrob Agents Chemother.* **1972**;2:122-31.
- SUZUKI S.I. (2001).** Establishment and use of gellan gun media for selective isolation and survey of specific rare Actinomycetes. *Actinomy.* **15 (2)**, 55-60.

- TORRES R, RAMON F, DE LA MATA I, ACEBAL C, CASTILLON MP.** Enhanced production of penicillin V acylase from *Streptomyces lavendulae*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1999;53:81-4.
- TORTORA G .J., FUNKE B.R. et CASE C. L., (2003).** Introduction à la microbiologie. *Ed. de Renouveau pédagogique Inc*. pp : 157- 355
- VITALIS S., VALLU G., BEKESI I., SZESZAK F. AND SZABO G. (1986).** Effect of factor C on the differentiation of *streptomyces griseus*. In: *Biological, Biochemical and Biomedical Aspects of Actinomycetes*. Eds : G.Szabo, S. Biro, M. Goodfellow. Akademiai kiad, Budapest. 799-806.
- VONOTHINI, G., MURIGAN, M., SIVAKUMAR, K. AND SUDHA, S. (2008)** Optimization of protease production by an actinomycete strain, PS-18A isolated from an estuarine shrimp pond. *Afr J Biotechnol* **7**, 3225-3230.
- **WAKSMAN S.A., (1967).** Distribution, isolation and methods of study. In : *The actinomycetes- a summary of current knowledge*. The ronald Press Company. New york. pp: 9-21.
- **WAKSMAN SA, SCHATZ A, REYNOLDS DM.** Production of antibiotic substances by actinomycetes. *Ann NY Acad Sci*. 2010;1213:112–24.
- **WELSH O, VERA-CABRERA L, SALINAS-CARMONA MC.** Mycetoma. *Clin Dermatol* 2007; 25 : 195-202.
- **ZAITSEV G.M., TSITKO I.V., LOBANOK A.G., VAZHINSKAJA I.S. AND CHECHENIN V.P. (1993).** Utilization of halogenated benzenes by *Rhodococcus rhodochromus*. *Dokl. Akad. Nauk Beloruss. SSR*. **37**, 65–68.
- ZIMMERMANN, W., WINTER, B. AND BRODA, P. (1988)** Xylanolytic enzyme activities produced by mesophilic and thermophilic actinomycetes grown on graminaceous xylan and lignocelluloses. *FEMS Microbiol Lett* **55**, 181-185.
- ZIMMERMAN W. (1990)** Degradation of lignin by bacteria. *J. Biotechnol*. **13**, 129-130.

### Référence électroniques

- 1- <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/25961/ch02.html>
- 2- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10864706>
- 3- <http://www.universalis.fr/encyclopedie/poumon-des-fermiers/>

**Annexe 1 :****Milieux de cultures**➤ **composition de milieux de culture****1. Gélose nutritive :**

Ingrédients	Quantité
Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0g
Peptone	5,0g
Chlorure de sodium	5,0g
Agar	20,0g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,4

**2. Milieu International Streptomyce Project 2 (ISP2) :**

Ingrédients	Quantité
Extrait de levure	4,0g
Extrait de malt	10,0 g
D-Glucose	20 ,0g
Agar	20 ,0g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,3

**3. Milieu International Streptomyce Project 5 (ISP 5) :**

Ingrédients	Quantité
Glycérol	10,0g
L-asparagine	1,0g
Solution d'oligo-élément <sup>1</sup>	1 ,0g
Eau distillée	1000 ml
Agar	20 ,0g
pH	7,0-7,4

\* Solution d'oligo-éléments <sup>1</sup>

Ingrédients	Quantité
<b>Fe SO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O</b>	<b>0,1g</b>
<b>Mncl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O</b>	<b>0,1g</b>
<b>Zn SO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O</b>	<b>0,1g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>100ml</b>

## 4. Milieu Caséine à Extrait de levure et Glucose :

Ingrédients	Quantité
<b>Glucose</b>	<b>5g</b>
Caséine	5g
<b>Extrait de levure</b>	<b>5 g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000 ml</b>
<b>pH</b>	<b>7,0</b>

## 5. Milieu Gélatine nutritive :

Ingrédients	Quantité
<b>peptone</b>	<b>5g</b>
<b>Extrait de viande</b>	<b>3g</b>
<b>Gélatine</b>	<b>120g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000 ml</b>
<b>pH</b>	<b>7,0</b>

## 6. Milieu International Streptomyce Project 9 (ISP 9) :

Ingrédients	Quantité
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2,64g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2,38g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	5,65g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,0g
Solution saline <sup>2</sup>	1,0ml
Agar	20,0g
Eau distillée	1000 ml
pH	6,8-7,0

\*Solution saline<sup>2</sup>

Ingrédients	Quantité
$\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,64g
$\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,11g
$\text{Mn Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,79g
$\text{Zn SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,15g
Eau distillée	100ml

## 7. Milieu Sierra au Tween 80 :

Ingrédients	Quantité
peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
$\text{CaCl}_2$	0,1g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,0

**8. Milieu Mannitol-Mobilité :**

Ingrédients	Quantité
Peptone	20,0g
Nitrate de potassium	1g
Mannitol	2 ,0g
Rouge de phénol	40mg
Agar	4,0g
Eau distillée	1000 ml
pH	8,1

**9. Milieu Pectine Agar :**

Ingrédients	Quantité
Pectine	5,0g
Extrait de levure	5,0g
Agar	20,0g
Eau distillée	1000 ml
pH	7 ,0

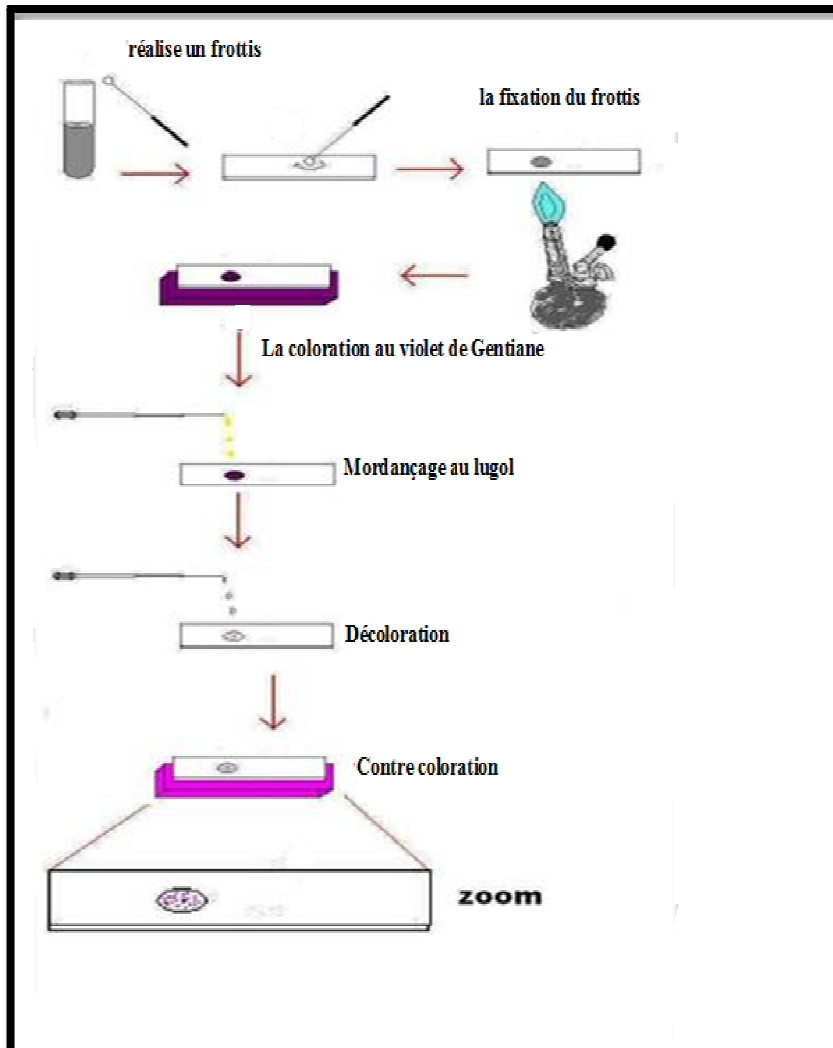
Annexe 2 :

**Coloration de Gram**

**Protocole technique :**

D'après **SINGLETON(1999)**, la coloration de Gram s'effectue selon les étapes suivantes :

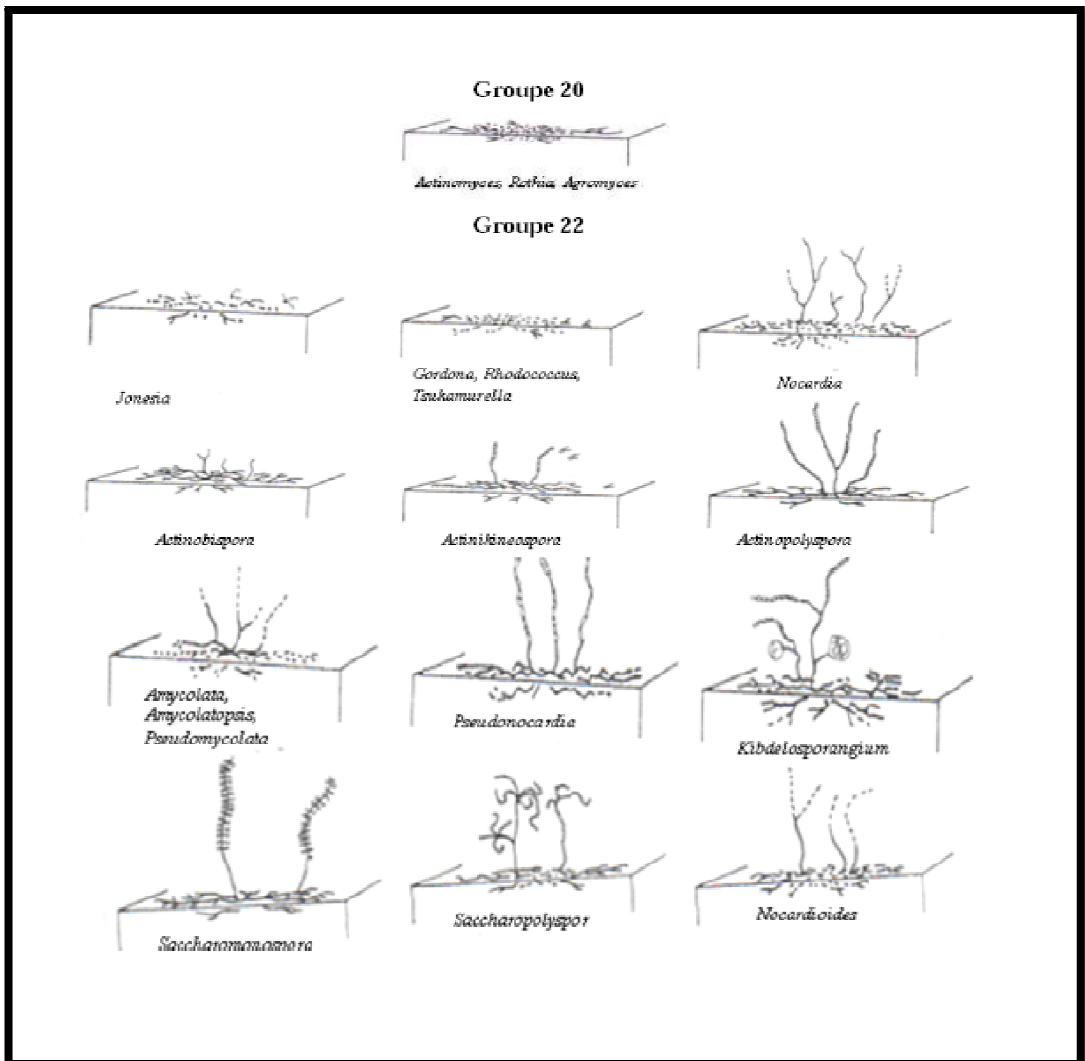
- **Etalement et fixation des frottis** : de la suspension bactérienne par séchage à la chaleur sur un lame porte en verre, l'aide de la boucle d'une anse de platine;
- **Coloration** : Au violet de gentiane par la couverture totale de la lame pendent 1min ;
- **Lavage** à l'eau distille;
- **Ajout** : du lugol par la couverture totale de la lame pendent 1min ;
- **Lavage** à l'eau distille;
- **Décoloration** à l'alcool 95° avec une légère agitation, jusqu' à l'élimination du colorant (environ 30 s) ;
- **Lavage** à l'eau distille;
- **Contre coloration** pendant 1à 2 minutes par couverture totale de la lame avec une solution de fushine diluée 10‰ ;
- **Lavage** à l'eau distille puis séchage;
- **L'observation** se fait en ajoutant de l'huile à immersion ; les bactéries Gram positif se Colorent en violet alors que les Gram négatif se colorent en rose.



**Schéma** : explique les étapes de la coloration des Grams

**Annexe 3**

Schémas représentatifs des mycéliums aériens et de substrat de Quelques genres d'actinomycètes (Lechevalier, 1994).

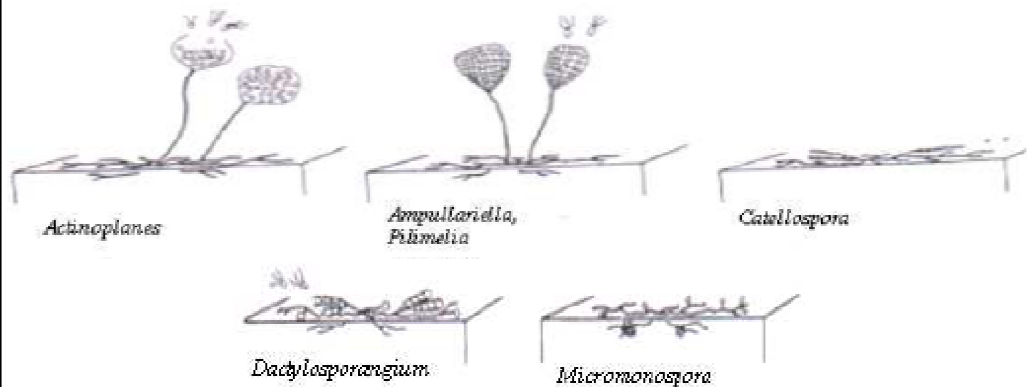




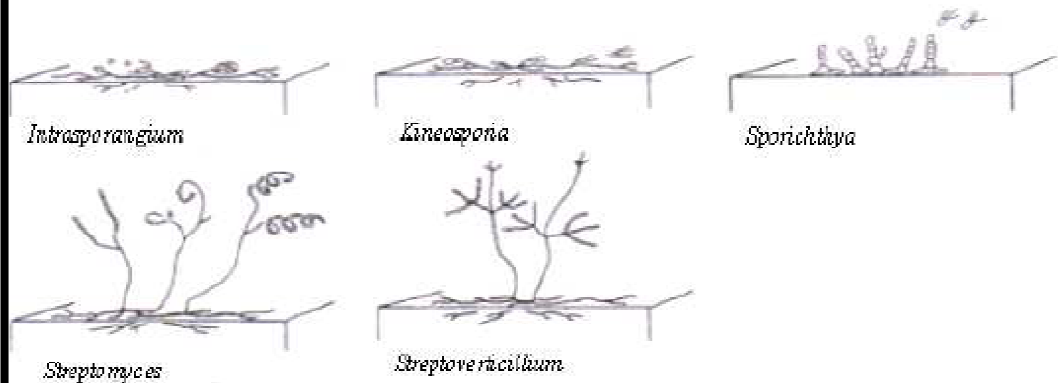
**Groupe 23**



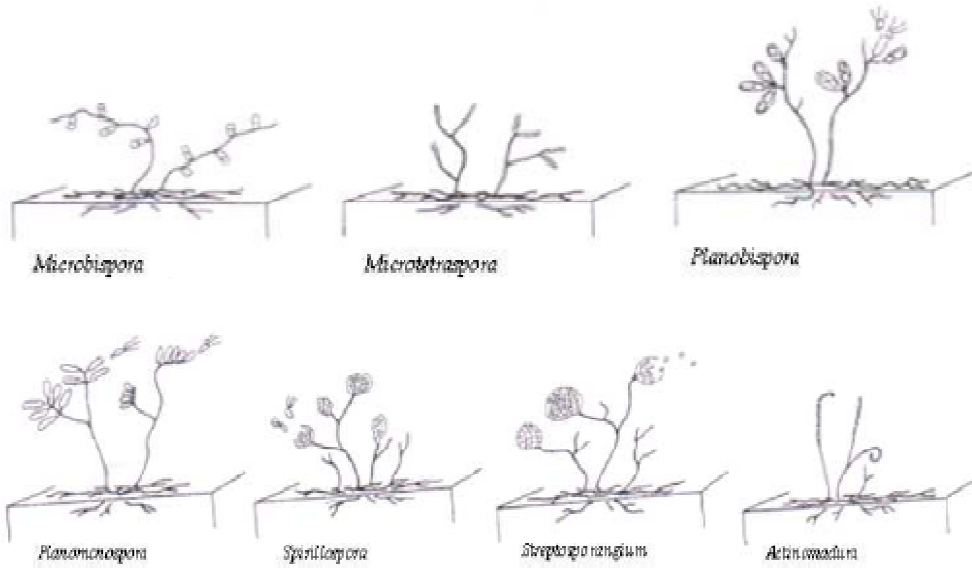
**Groupe 24**



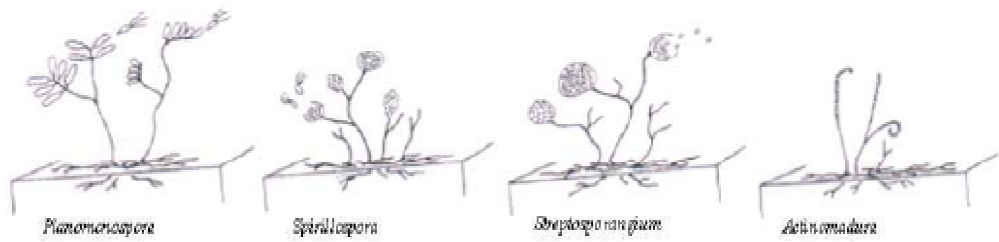
**Groupe 25**



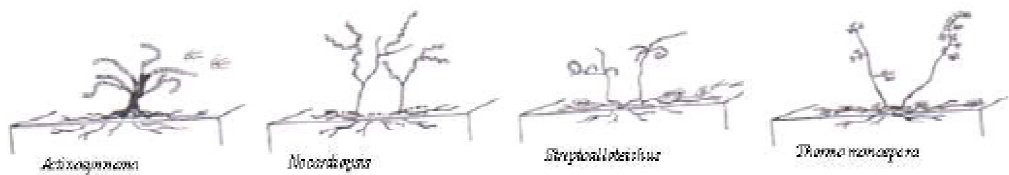
Groupe 26



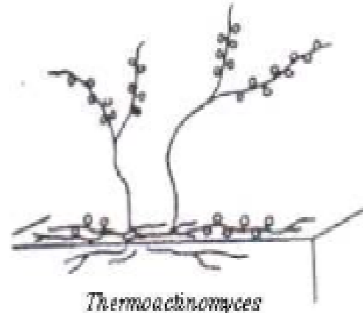
Groupe 26 (suite)



Groupe 27

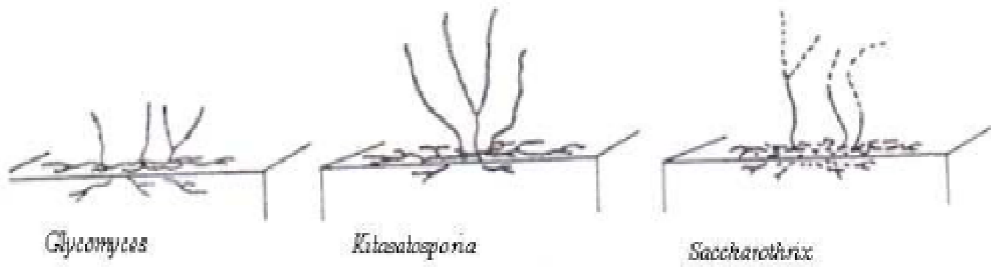


Groupe 28



*Thermoactinomyces*

Groupe 29



*Glycomyces*

*Kistatospora*

*Saccharothrix*

## **Abstract**

Work **actinomycetes** isolated from arid ecosystems are very rare. In this respect two Saharan soils (soil of El-Oued region and salt **Chott Melghir** the same region) were tested in this study. Thus, 13 colonies were isolated and Actinomycetales purified from two selective media (**ISP2, ISP5**) added with an antibacterial, antifungal and NaCl. The study of morphological characteristics of the isolates and microscopic examinations helped by comparison with the classification criteria of Lechevalier published in Bergey's Manual of bacterial classification, assign SSO1 strain isolated from soil known in El Oued Streptosporangium kind. The 13 strains were tested for Actinomycetales certain enzymatic activity (cellulolytic, pectolytic, amylolytic...). All isolates have at least one enzymatic activity and are therefore of a biotechnological interest.

**Keywords:** Sol El Oued salt Chott Melghir, Actinomycetes, enzymatic activities

## ملخص

ان العمل علي الفطريات الشعاعية المعزولة من النظم الإيكولوجية القاحلة نادرة جدا. في هذا الصدد تم اختبار اثنين من التربة الصحراوية (التربة من منطقة الواد والملح شط Melghir نفس المنطقة). وبالتالي في هذه الدراسة ، تم عزل 13 من المستعمرات وتنقيتها انطلاقا من وسطين غذائيين (ISP2، ISP5) مع اضافة مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات وكلوريد الصوديوم. دراسة الخصائص المورفولوجية و المجهرية للعزلة، بالمقارنة مع معايير تصنيف Lechevalier نشرت في دليل Bergey للتصنيف البكتيرية، تم تعيين سلالة SSO1 معزولة عن التربة المعروفة في الواد من نوع *Streptosporangium*. تم اختبار 13 سلالة للشعاوات لإكتسابها القدرة الأنزيمية (cellulolytic، حال للبكتين، محلل النشا....). جميع العزلات يكون لديها نشاط انزيمي واحد على الأقل، وبالتالي فهي من مصلحة البيوتكنولوجية.

الكلمات الرئيسية: تربة الواد الملح شط Melghir، Actinomycetes، الأنشطة الأنزيمية.