



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



**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR –KHENCHELA-**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DEPARTEMENT : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**FILIERE : Biologie**

**OPTION: Microbiologie Appliquée**

**Thème**

**Solubilisation du phosphate, production de  
sidérophores et activité antimicrobiennes de souche  
d'actinobactéries rhizosphérique et de sole de lac**

**Réalisé par**

**Ouahabe Nadjat**

**Djarmoune Manel**

**J Jury de soutenance**

**Présidente: Dr.Merabti Rima**

**M.C.A**

**Université Abbès Laghrou khenchela**

**Examinatrice:Dr.Yakhlef wahiba**

**M.A.A**

**Université Abbès Laghrou khenchela**

**Promotrice: Dr.Leulmi Nassima**

**M.C.B**

**Université Abbès Laghrou khenchela**

**Année Universitaire 2019/ 2020**



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



**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR –KHENCHELA-**  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**FILIERE : Biologie**

**OPTION: Microbiologie Appliquée**

**Thème**

**Solubilisation du phosphate, production de  
sidérophores et activité antimicrobiennes de souche  
d'actinobactéries rhizosphérique et de sole de lac**

**Réalisé par**

**Ouahabe Nadjat**

**Djarmoune Manel**

**J Jury de soutenance**

<b>Présidente: Dr.Merabti Rima</b>	<b>M.C.A</b>	<b>Université Abbès Laghrou khenchela</b>
<b>Examinatrice:Dr.Yakhlef wahiba</b>	<b>M.A.A</b>	<b>Université Abbès Laghrou khenchela</b>
<b>Promotrice: Dr.Leulmi Nassima</b>	<b>M.C.B</b>	<b>Université Abbès Laghrou khenchela</b>

**Année Universitaire 2019/ 2020**

# Remerciement

*Avant tout nous remercions "**ALLAH**" le tout puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné le courage, la volonté, la force, la santé et la persistance pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous adressons nos plus vifs remerciements à Mme **LEULMI,N.** maître assistant à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abbes Laghrour - Khenchela, pour nous avoir proposé ce sujet, pour son encadrement, ses encouragements, ses orientations, pour ses aides, sa patience, ses conseils scientifiques judicieux , sa compétence et sa gentillesse qui m'ont permis de bien mener ce modeste travail.*

*A. Mme **MERABTI RIMA**, nous adressons nos remerciements les plus sincères pour l'honneur qu'il nos fait en acceptante de présider ce jury.*

*A.Mme **YAKHELEF WAHIBA** pour avoir bien voulu siéger dans ce jury afin d'examiner ce mémoire et nous éclairer par ces précieux conseils.*

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

*Nous associons mes remerciements à toutes nos amies pour leur solidarité, leur aide, et leur disponibilité.*

# DédicaceS

*Je dédie ce travail à:*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur; maman que j'adore.*

*A mon adorable frère Mohamed Amin et ma sœur Kenza, la prunelle de mes yeux pour leur soutien, leur encouragement, leur affection et leur patience.*

*A ma cousine Khouloud et sa fille Loujaine pour leur disponibilité et leur soutien moral.*

*À mes chères amies « Lamisse », « Bouthaina », « Nesrin », « Rokia », « Hanen » et « khawla »*

*A mon binôme Nadjet et toute la famille waheb.*

*A mes grand-pères et mon grand mère à qui je souhaite bonne santé et longue vie.*

*La mémoire de mon très cher 'Papa Hassen' que j'aurai tant voulu avoir auprès de moi le dernier jour de mes études comme je l'ai eu a mes cotés la première fois en allant a l'école, j'espère qu'il sera fier de moi.*

*Tout ma famille*

*Tout mes amis.*

**MANEL**

*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*

*moral*

*aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de  
réussite. Que dieu les protège et leur donne la bonne santé et qu'ils*

*trouvent ici la preuve de ma reconnaissance infinie.*

*A mes chers Frère Rafik, Karim, Mouhamed, Youcef et Adame*

*A toute ma belle famille ( Ouahabe).*

*À mon fiancé Nadhir pour son aide et leur soutien moral*

*et pour ses encouragements et à toute sa famille.*

*A toutes mes chères amies, mon binôme Manel et a toutes mes  
adorables copines et mes collègues sur tout Nadia , Hanane et tous*

*ceux qui ont joué un rôle dans ce travail*

*A mon cher professeur Abdellaoui .A qui ma beaucoup donné et m'a*

*encouragé*

*A tous ceux et toutes celles qui m'ont encouragé et m'ont*

*souhaité du bien de près ou de loin.*

**NADJET**

# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	01
<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I. Propriétés générales de la rhizosphère.....	02
I.1. Définition de la rhizosphère.....	02
I.2. Rôle de la rhizosphère.....	03
I.2.1. Effet bénéfique de la communauté microbienne de la rhizosphère sur la croissance et la santé des plantes.....	03
I.2.2. Processus d'exudation racinaire.....	04
I.2.3. Les auxines.....	05
I.3. La diversité microbiennes rhizosphérique.....	09
I.3.1. Les champignons.....	09
I.3.2. Les protozoaires.....	09
I.3.3. Les algues.....	10
I.3.4. Les bactéries.....	10
I.3.5. Les actinobactéries.....	10
II. Les actinobactéries.....	10
II.1. Généralité.....	10
II.2. Habitant.....	11
II.3. Les caractéristiques des actinobactéries.....	13
II.4. Systématique d'Actinobactéries.....	16
II.5. Les type d'Actinobactéries.....	18
✓ II.5.1. Actinobactéries thermophiles.....	18
✓ II.5.2. Actinobactéries acidophiles.....	18
✓ II.5.3. Actinobactéries halophiles.....	18
✓ II.5.4. Actinobactéries endophytes.....	19
✓ II.5.5. Actinobactéries symbiotiques.....	19
✓ II.5.6. Actinobactéries endosymbiotiques.....	19
✓ II.5.7. Actinobactéries intestinales.....	20
II.6. Les applications des actinobactéries.....	21
✓ II.6.1. Les antimicrobiennes et antifongiques.....	22
✓ II.6.2. Les pigments.....	24
✓ II.6.3. Contrôle des maladies des plantes.....	26
<b>REVUE EXPERIMENTALE</b>	
<b>Matériel et méthode</b>	
1- Echantillonnage.....	28
2- Isolement des actinobactéries.....	28
2-1 Prétraitement.....	28
2-2 Enrichissement des échantillons par le bicarbonate de calcium (CaCO <sub>3</sub> ).....	28
2-3 Les milieux de cultures.....	28

2-4 Préparation de la suspension-dilution et ensemencement.....	29
2-4-1 Ensemencement en masse.....	29
2-4-2 Ensemencement en surface.....	30
2-5 Reconnaissance des actinobactéries.....	30
2-6 Dénombrement et sélection des actinobactéries.....	30
2-7 Purification et conservation des actinobactéries.....	30
3- L'activité antimicrobienne des actinobactéries.....	30
3-1 Préparations des inocula bactériens.....	30
3-2 Technique des cylindres d'agar.....	31
4- Activité antifongique des actinobactéries.....	31
5- Solubilisation des phosphates.....	31
5-1 Solubilisation des phosphates sur milieu solide.....	32
5-2 Solubilisation des phosphates en milieu liquide.....	32
6- Production d'Acide Indole Acétique (AIA).....	32
7- Production de sidérophores.....	32
7-1 Production de sidérophores sur milieu liquide.....	33
7-2 Production de sidérophores sur milieu solide.....	33
<b>Resultat et discusion</b>	
I- L'isolement des actinobactéries à partir de sol rhizosphérique.....	38
II- L'activité antibactérienne et antifongique des actinobactéries.....	39
III- Solubilisation des phosphates.....	40
IV- Production d'Acide Indole Acétique (AIA).....	41
V- Production de sidérophore.....	42
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>	43
<b>REFERANCE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>ANNEXES</b>	

## LISTE DES ABREVIATIONS

**AIA:** acide indole -3-acétique.

**ATCC:** American type culture collection

**C°:** Degré Celsius

**Ca:** Calcium

**Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> :** phosphate tricalcique.

**CaCO<sub>3</sub>:** Bicarbonate de calcium

**CAS:** *chrome azurol s.*

**cm:** Centimètre

**DO:** densité optique

**Ech:** échantillons

**Fe:** fer

**G+C:** Contenu en guanine et cytosine

**GAS:** Gibbérelline

**GN:** Gélose Nutritive

**GLM:** Gélose à l'extrait de levure extrait de malt

**g/L:** Gramme par liter

**H:** heur

**ISP2 :** International *Streptomyces* Project 2

**J:** jours

**KCl :**Chlorure de potassium

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:** Phosphate de potassium monobasique

**L :**liter

**MgSO<sub>4</sub>:** Sulfate de magnésium

**min :** minute

**mg/ml:** Milligramme/ millilitre

**mM:** milli Molaire

**mm:** millimètre

**NaCl:** chlorure de sodium.

**PGPR:** *plant growth promoting bacteria*

**P/V:** poids par volume.

**PDA:** *potato dextrose agar.*

**PVK:** *pikovskaia.*

**pH:** Potentiel Hydrogène

**P:** Phosphore

**R:** témoin /distance

**rpm:** rotation par minute

**sp:** Espèces

**UFC:** unité formant colonie.

**nm:** Nano mètre

**µg :** Micro gramme

**µl:** Micro liter

**E.coli:** *Escherichia coli*

## LISTE DES FIGURES

N°	Titre de figure	Page
1	Structure schématique de la rhizosphère	02
2	Interactions entre plantes et les bactéries coopératives (PGPR) dans la rhizosphère.	04
3	Acide indole 3- acétique.	06
4	synthèse de l'acide 3-indolacétique (auxines)	06
5	solubilisation du phosphore par l'action des micro-organismes.	08
6	<i>Actinomyces israelii</i> (photographie au microscope électronique, en fausses couleurs).	11
7	Apparition d'isolats d' <i>Actinobactérie</i> sur un milieu gélosé à la caséine d'amidon. a, c: Des isolats actinobactériens. b, d: Morphologie des colonies individuelles.	13
8	a, Le mycélium aérien montre une différenciation; b, Le mycélium substrat des Actinobactéries.	14
9	Type de structure sporulée chez les <i>Streptomycètes</i> .	15
10	Photographies au microscope électronique d'isolats d'Actinobactéries non mobiles monosporulés.	15
11	Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles dotées d'oligospores.	16
12	Applications biotechnologiques des actinobactéries.	21
13	Antibiotiques des actinobactéries.	22
14	Pigment diffusible produit par diverses Actinobactéries en milieu gélose amidon caséine	25
15	Production de pigments par <i>Streptomyces torulosus</i> en utilisant différents milieu de cultures : A; milieu à extrait de malt, B; milieu de glycerol asparagine, C; milieu à tyrosine, control; milieu non inoculé et échantillon; production d'un pigment.	25
16	Photos (a) et (b) représents des echantillons de sol rhizosphérique.	28
17	Préparation de la solution mère et la série de dilution.	29
18	Densité des actinombactéries (Log10 UFC.g-1) de sol rhizosphérique d' <i>Ononis angustissima</i> , <i>Astragalus gombo</i> et <i>Calobota saharea</i>	38
19	Boite de pétri représentant un isolement d'actinobactéries a partir d'un échantillon de sol rhizosphérique.	38
20	boite de pétri représentant l'activité antimicrobiennes des actinobactéries de sol rhizosphérique.	39
21	boite de pétri représentant l'activité antifongique des actinobactéries de sol rhizosphérique.	40
22	photographies de la solubilisation du phosphate (halo) par quelques souches de d'actinobactéries.	41
23	photographies de la production des sidérophores (halo rouge/orangé) par quelques souches d'actinobactéries	42

## LISTE DES TABLEAUX

N <sup>o</sup>	TABLEAU	Page
1	Nombres des microorganismes de rhizosphère.	09
2	Répartition des Actinobactéries dans la nature.	11
3	Fréquence des divers genres d'Actinobactéries dans le sol.	12
4	Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries.	17
5	Quelques exemples d'antibiotiques et antifongique produits par les actinobactéries.	24
6	fournit une liste de pigments de différentes actinobactéries.	26
7	Suppression des maladies des plantes par les antibiotiques produits par les actinobactéries.	27

## Résumé

Le sol est un réservoir important de microorganismes, il renferme une microflore complexe et variée qui joue des rôles essentiels pour l'écosystème tellurique et les organismes pluricellulaires qui y vivent. Parmi les organismes supérieurs du sol, les plantes bénéficient des effets directs et/ou indirects des microorganismes en particulier ceux de la flore rhizosphérique. Celle-ci comprend, d'une part, les mycètes filamenteux qui exercent des effets bénéfiques sur la croissance des plantes via des relations symbiotiques étroites: les mycorhizes. D'autre part, une flore bactérienne rhizosphérique hétérogène influence favorablement la croissance des plantes, et connue sous l'acronyme PGPR: plant growth promoting rhizobacteria, ou rhizobactéries stimulatrices de la croissance des plantes.

En effet, les PGPR interviennent sur la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes. Ces bactéries sont capables de faciliter la croissance des plantes directement en aidant à l'acquisition des ressources (azote, phosphore et minéraux essentiels) ou par modulation des niveaux d'hormones végétales, ou indirecte par production des antibiotiques ou par induction de système de résistance et production des sidérophores phytoprotectrices.

Selon la littérature, les actinobactéries, d'une part, sont les meilleures candidates à appliquer sous forme de cellules vivantes. Elles peuvent affecter directement ou indirectement la croissance des plantes, les effets indirects comprennent principalement la protection contre les organismes phytopathogènes par la production de composés antimicrobiens telle que la production des sidérophores. Le mécanisme direct est lié à la production de substances diverses stimuler l'allongement des plantes et favoriser la croissance des plantes, à titre d'exemple, les phytohormones telles que les auxines ou les gibbérellines, de même ces bactéries peuvent augmenter la biodisponibilité de certains nutriments pour la plante tels que le fer et le phosphate.

**Mots clés:** rhizosphère, la (PGPR), sidérophores, les phytohormones, solubilisation du phosphate, actinobactérie.

## **Abstract**

Soil is an important reservoir for microorganisms, it contains a complex and varied microflora that plays essential roles for the telluric ecosystem and the multi-cellular organisms that live there. Among the higher soil organisms, plants benefit from the direct and/or indirect effects of microorganisms, in particular those of the rhizospheric flora. This includes, on the one hand, the filamentous fungi that exert beneficial effects on the growth of plants through close symbiotic relationships: mycorrhizae. On the other hand, a heterogeneous rhizospheric bacterial flora favorably influences plant growth, and known by the acronym PGPR: plant growth promoting rhizobacteria, or plant growth stimulator rhizobacteria.

In fact, PGPRs intervene in plant growth according to several mechanisms. These bacteria are able to facilitate the growth of plants directly by helping to acquire resources (nitrogen, phosphorus and essential minerals) or by modulating plant hormone levels, or indirectly by producing antibiotics or by inducing resistance systems and production of phytoprotective siderophores.

According to the literature, actinobacteria, on the one hand, are the best candidates for apply in the form of living cells. They can directly affect or indirectly plant growth, indirect effects mainly include protection against phytopathogenic organisms through the production of antimicrobial compounds such as the production of siderophores. The direct mechanism is linked to the production of various substances stimulating the elongation of plants and promoting plant growth, for example, phytohormones such as auxins or gibberellins, similarly these bacteria can increase the bioavailability of certain nutrients for plant such as iron and phosphate.

**Key words:** rhizosphere, PGPR, siderophores, phytohormones, phosphate solubilization, actinobacteria.

## ملخص

تعتبر التربة مستودعًا مهمًا للكائنات الحية الدقيقة ، فهي تحتوي على نباتات دقيقة معقدة ومتنوعة تلعب أدوارًا أساسية للنظام البيئي التليوري والكائنات متعددة الخلايا التي تعيش هناك. من بين كائنات التربة الأعلى ، تستفيد النباتات من التأثيرات المباشرة و / أو غير المباشرة للكائنات الدقيقة ، ولا سيما تلك الموجودة في نباتات الجذور. وهذا يشمل ، من ناحية ، الفطريات الخيطية التي لها آثار مفيدة على نمو النبات من خلال العلاقات التكافلية الوثيقة: الفطريات الفطرية. من ناحية أخرى ، تؤثر النباتات البكتيرية الجذرية غير المتجانسة بشكل إيجابي على نمو النبات ، والمعروف بالاختصار: PGPR: نمو النبات الذي يعزز الجذور ، أو محفز نمو النبات.

في الواقع ، تتدخل PGPRs في نمو النبات وفقًا لعدة آليات. هذه البكتيريا قادرة على تسهيل نمو النباتات بشكل مباشر عن طريق المساعدة في الحصول على الموارد (النيتروجين والفوسفور والمعادن الأساسية) أو عن طريق تعديل مستويات الهرمونات النباتية ، أو بشكل غير مباشر عن طريق إنتاج المضادات الحيوية أو عن طريق تحريض أنظمة المقاومة و إنتاج حامض الحديد النباتي.

وفقًا للأدبيات ، فإن البكتيريا الشعاعية ، من ناحية ، هي أفضل المرشحين يطبق في شكل خلايا حية. يمكن أن تؤثر بشكل مباشر أو نمو النبات بشكل غير مباشر ، تشمل التأثيرات غير المباشرة بشكل أساسي الدوران ضد الكائنات المسببة للأمراض النباتية من خلال إنتاج مركبات مضادة للميكروبات مثل إنتاج حوامل الحديد. ترتبط الآلية المباشرة بإنتاج مواد مختلفة تحفز استطالة النباتات وتعزز نمو النباتات ، على سبيل المثال الهرمونات النباتية مثل الأكسينات أو الجبرلينات ، وبالمثل يمكن لهذه البكتيريا أن تزيد من التوافر البيولوجي لبعض العناصر الغذائية من أجل نبات مثل الحديد والفوسفات.

**الكلمات الأساسية:** ريزوسفير ، (PGPR)، حامض الحديد، الهرمونات النباتية، إذابة الفوسفات، البكتيريا الشعاعية.

# *Introduction*

## INTRODUCTION

Les plantes, comme la plupart des êtres vivants, vivent au contact de nombreux microorganismes. Le contact entre les plantes et les micro-organismes est permanent, il s'établit dès que la graine tombe au sol, se poursuit et se développe lors de la germination et de la croissance du végétal, et se termine à la mort de celle-ci (**Braghta et al., 2014**).

La rhizosphère, ou le lieu de contact entre les racines de la plante et les microorganismes, représente une niche biologique unique avec une microflore diversifiée comprenant les bactéries, les champignons, les actinobactéries, les protozoaires et même les algues. Cette communauté génère une entrée élevée de matières organiques provenant des racines et des exsudats racinaires. Ces exsudats sont riches en nutriments, y compris des sucres, des acides aminés, des acides organiques, des minéraux et d'autres composés divers qui sont nécessaires pour la croissance microbienne. De ce fait, la composition et la quantité des exsudats représente un facteur de variation qualitative et quantitative de la flore microbienne (**Kerbab., 2012**).

Les actinobactéries représentent un groupe très important qui vit majoritairement dans le sol et aussi dans la rhizosphère (**Meyer., 2008**). Ces micro-organismes peuvent affecter directement ou indirectement la croissance des plantes, les effets indirects comprennent principalement la protection contre les organismes phytopathogènes, cela peut être achevé par la production de composés antimicrobiens, des enzymes qui dégradent la paroi cellulaire des pathogènes, par la production de cyanure d'hydrogène (HCN), ou par la production des sidérophores (**Grondin.,2004; Adegboye et al., 2012; Medouakh et al.,2010**). Le mécanisme direct de l'influence de la croissance des plantes est lié à la production de substances diverses promotrices de la croissance des plantes, à titre d'exemple, les phytohormones telles que les auxines ou les gibbérellines, de même ces bactéries peuvent augmenter la biodisponibilité de certains nutriments pour la plante tels que le fer et le phosphate (**Boudemagh., 2007**).

Pour toutes ces raisons, nous avons divisé notre travail en trois parties:

Une première partie présente une revue bibliographique, dans laquelle nous allons décrire les souches d'actinobactéries, leur rôle dans le sol, leur interaction avec les plantes, les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), leurs mécanismes de la capacité à solubiliser le phosphate et à produire des sidérophores et également quelques activités biologiques.

Une deuxième partie porte une description des techniques expérimentales, citées par la littérature, qui ont une relation étroite avec notre sujet.

Une troisième partie porte sur les différents résultats discutés par la littérature.

Enfin, une conclusion.

*Revue*

*Bibliographique*

## I. La rhizosphère

### I.1. Définition

La rhizosphère est un environnement créé par des interactions entre les exsudats racinaires et les microorganismes (**Bell-Perkins *et al.*, 2002**). Le terme "rhizosphère" tire son origine du grec "rhizo" ou "rhiza" signifiant "racine" et "sphère", le champ d'action ou d'influence. (**Hiltne., 1904**) a décrit la rhizosphère comme le lieu d'activités microbiennes autour des racines des légumineuses.

Cette zone d'interaction s'étend de quelques micromètres à plus de 2 mm en dehors de la surface racinaire (**Valencia., 2008**). Par rapport aux racines, la rhizosphère peut être divisée en trois zones distinctes :

**L'endorhizosphère:** comprend des parties du cortex et de l'endoderme dans lesquelles les microbes et les cations peuvent occuper l'espace libre entre les cellules (espace apoplastique), de ce fait, le contact entre la plante et les microorganismes aura lieu à l'intérieur des racines (**David *et al.*, 2013**).

**Le rhizoplan :** représente la zone médiane directement adjacente à la racine, y compris l'épiderme racinaire et le mucilage (**David *et al.*, 2013**).

**L'ectorhizosphère :** représente la zone extérieure qui se trouve directement après le rhizoplan (**David *et al.*, 2013**).

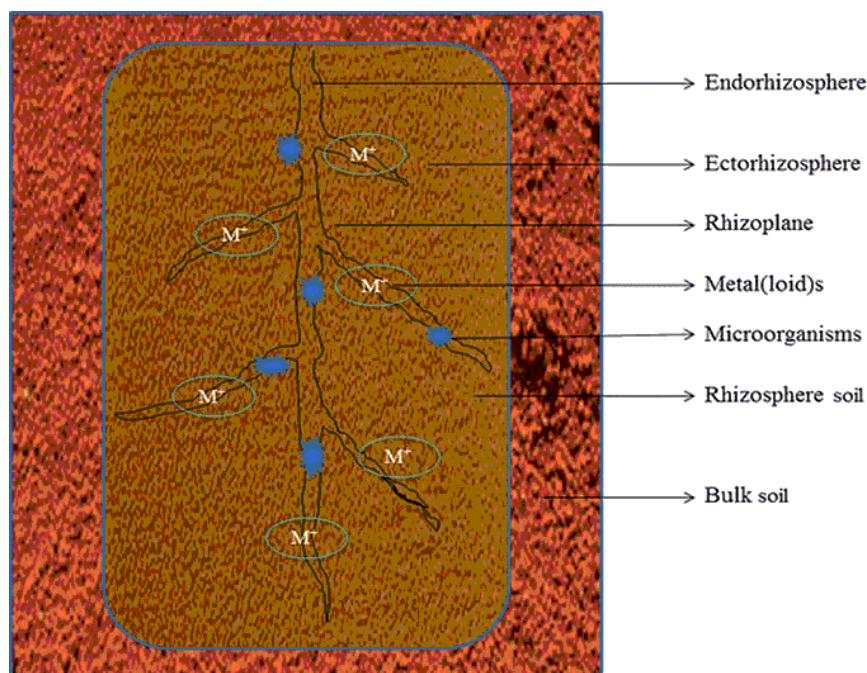


Figure N° 01: Structure schématique de la rhizosphère (**Hinsinger *et al.*, 2005**).

## I.2. Rôle

La rhizosphère joue un rôle actif dans la régulation des interactions entre plantes et microorganismes (**Hirsch et al., 2003**). De ce fait, il a été suggéré que la plante favorise celles qui lui sont bénéfiques (**Lynch., 1990; Cook et al., 1995**). C'est une zone de vie, où les exsudats racinaires, d'une part, permettent le développement d'une faune et d'une flore spécifiques et d'autre part, permettent le développement d'une flore symbiotique qui assure une bonne croissance aux plantes, en produisant de substances bénéfiques à la croissance comme les phytohormones et les antibiotiques assurant la protection contre des phytopathogènes.

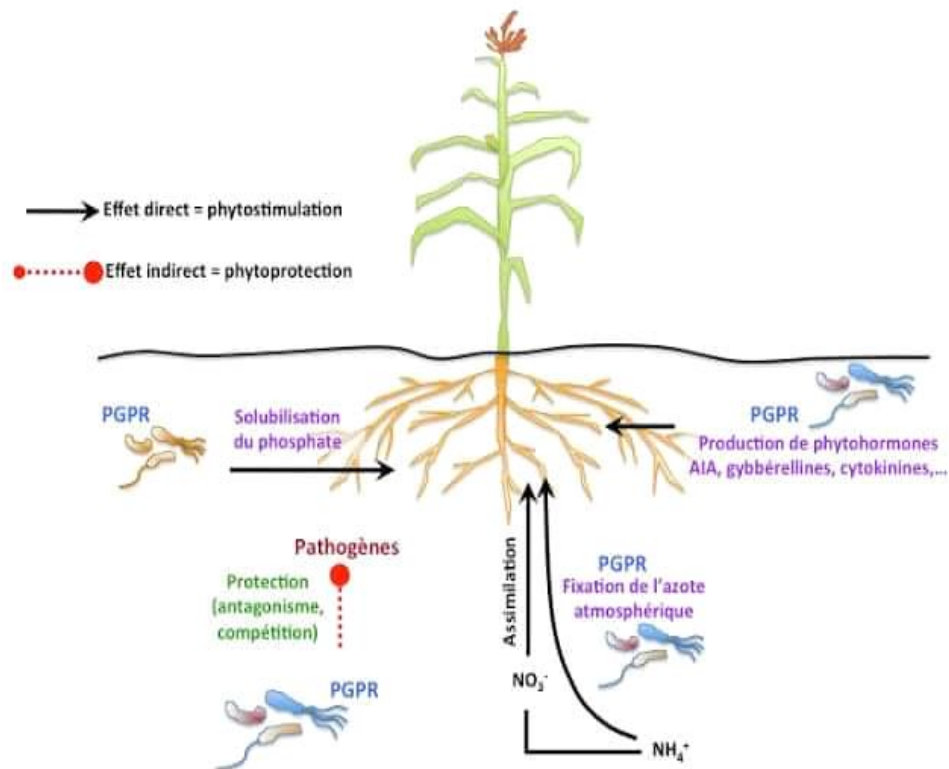
La rhizosphère une niche écologique qui éveille et stimule diverses activités microbiennes, en participant ainsi, au fonctionnement des cycles des nutriments majeurs et des oligoéléments comme le carbone, l'azote, le phosphore, le fer, etc (**De Carne., 2010**).

### I.2.1. Effet bénéfique de la communauté microbienne de la rhizosphère sur la croissance et la santé des plantes

La rhizosphère est le volume du sol situé au voisinage immédiat des racines des plantes et qui se caractérise par la présence d'exsudats racinaires (rhizodépôts). Ces exsudats sont utilisés par la microflore endémique en tant que signaux chimiques en plus d'être un substrat nutritif disponible pour la croissance et le développement de ces microorganismes dans la rhizosphère.

Certaines de ces bactéries du sol, appelées PGPRs (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), sont capables de coloniser les racines ou bien encore la rhizosphère, mais à la différence des autres bactéries rhizosphériques elles ont, en retour, un effet bénéfique sur la plante (**Yilmaz et al., 2008**).

- **La promotion directe** se produit par la sécrétion d'hormones (auxines, gibberellines, cytokinines, etc.) ou en facilitant l'absorption de nutriments (fixation d'azote, solubilisation de phosphate ou de potassium et synthèse de sidérophore).
- **La promotion indirecte** se produit lorsque ces bactéries empêchent ou diminuent les effets nocifs des microorganismes phytopathogènes par colonisation et production d'antibiotiques (**Aouar., 2012**).



**Figure N° 02** : Interactions entre plantes et les bactéries coopératives (PGPR) dans la rhizosphère (**Bidi et al ., 2015** ).

### I.2.2.Principales caractéristiques du processus d'exsudation racinaire

L'exsudation racinaire est la libération de composés organiques des racines des plantes vivantes dans le sol environnant; c'est un phénomène omniprésent (**Jones et al., 1995**). Les racines libèrent des composés via au moins deux mécanismes potentiels, et les taux d'exsudation varient considérablement selon les espèces et les conditions environnementales (**Kochian et al., 2005**). Les exsudats sont transportés à travers la membrane cellulaire et sécrétés dans la rhizosphère environnante. Les produits végétaux sont également libérés par les cellules des racines et les cellules ressemblant aux frontières des racines qui se séparent des frontières au fur et à mesure de leur croissance (**Bais et al., 2006**). Cependant, il est important de noter qu'il est très difficile d'identifier les exsudats racinaires en ce qui concerne la composition chimique et la concentration dans le sol en raison de difficultés méthodologiques (**Stolp., 1988**).

Au moment de l'exsudation et par la suite, les matières organiques sont soumises à une attaque microbienne et ne peuvent donc pas être enrichies et séparées des racines dans les milieux naturels. Des données sur la nature et la quantité d'exsudats racinaires ont été obtenues à partir de cultures hydroponiques stériles; mais les résultats, cependant, sont difficiles à extrapoler aux conditions naturelles (**Stolp., 1988**).

Les exsudats racinaires sont principalement également des hormones, des vitamines, des composés aminés, des composés phénoliques et des esters de phosphate de sucre (**Uren., 2001**). La libération de ces composés de faible poids moléculaire est un processus passif le long du gradient de concentration abrupte qui existe généralement entre le cytoplasme des cellules racinaires intactes (plage millimolaire) et la solution externe (sol) (plage micromolaire).

### **I.2.3. Les auxines**

#### **a. Définition**

C'est une hormone végétale stimulatrice qui induit ou stimule un phénomène physiologique. Le terme d'auxines ou AIA a ensuite été élargi à un ensemble de substances (Acide Indole Butyrique, Acide Naphtalène Acétique et l'Acide Phényl Acétique) (**Meyer et al., 2008**).

#### **b. Structure chimique des auxines**

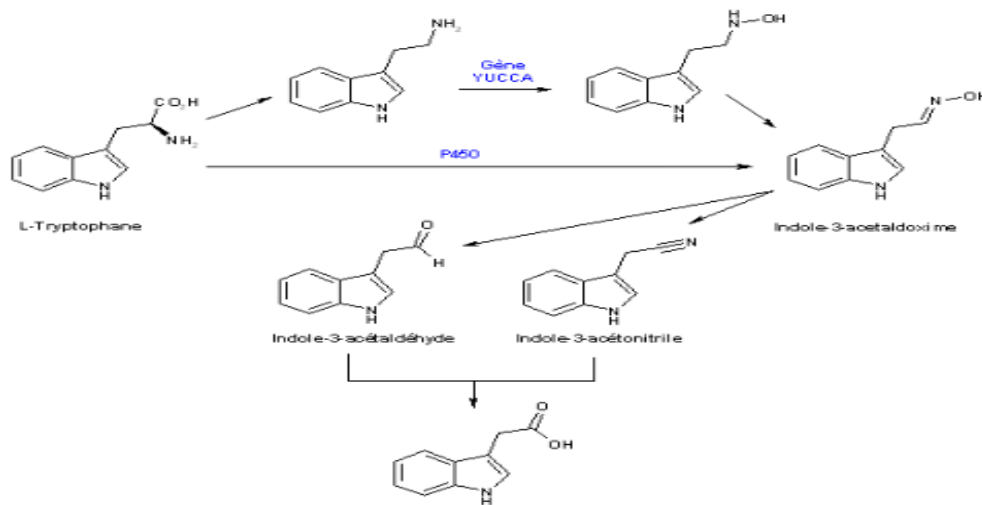
L'acide indole-3-acétique (AIA) est la principale auxine connue chez les plantes et même la première hormone végétale découverte (**Meyer et al., 2008**).

L'acide indole-3-acétique est un acide faible avec un pKa d'environ 4,85. Sa formule brute est  $C_{10}H_9NO_2$ , il est formé d'un noyau indole et d'une courte chaîne latérale carbonée portant le groupement carboxyle (**figure 3**) (**Kerbab., 2012**).



**Figure N° 03:** Acide indole 3- acétique (Bentaleb et al., 2015)

La biosynthèse de l'acide -3-indole acétique par les plantes s'effectue dans les apex des tiges, dans les méristèmes et jeunes feuilles des bourgeons terminaux. Ceux-ci reçoivent le précurseur, comme le tryptophane (**figure 04**) (Thierry et al., 2017)



**Figure N° 04:** synthèse de l'acide 3-indolacétique (auxines) (Bentaleb et al., 2015)

### c. Les propriétés physiologiques des auxines

#### ➤ Stimulation de la croissance des organes végétatifs

L'auxine contribue à la croissance des tiges et des rameaux, à partir des bourgeons apicaux ou axillaires. Son action sur la croissance en longueur dans la zone d'élongation subapicale est maximale pour de concentrations en auxine relativement élevées. Par contre, l'élongation des entre-noeuds n'est pas le fait de l'auxine.

Au niveau des feuilles, les pétioles et les gaines ont leur élongation stimulée par l'auxine. La croissance des limbes des feuilles de Monocotylédones est stimulée par l'auxine, tandis que celle des limbes de Dicotylédones est inhibée par l'auxine. L'action de l'auxine sur l'élongation des racines est toute différente de son action sur les tiges. Elle se ramène à un effet inhibiteur aux concentrations moyennes (**Thierry et al., 2017**).

➤ **Stimulation de l'élongation cellulaire**

L'auxine est la principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules. Cet effet, qui dépend des concentrations intracellulaires d'auxine et de la nature des organes, s'exerce sur des cellules jeunes en cours d'élongation, au moment où la paroi est extensible. On sait que l'élongation cellulaire est un processus complexe qui fait intervenir une absorption d'eau, l'extension de la paroi sous l'effet de la turgescence, et l'incorporation de nouveaux composés entre les mailles de fibrilles de cellulose ainsi distendues (**Pikovskaya., 1948**).

➤ **Régulation de la division et de la différenciation cellulaire**

L'auxine joue le rôle de stimulateur des mitoses (division cellulaire), mais cette action ne s'exerce pas indistinctement sur tous les méristèmes, l'auxine n'agit pas sur la prolifération au niveau des méristèmes primaires. En revanche, elle a une action très marquée sur la prolifération des cambiums

➤ **Stimulation de rhizogène adventive**

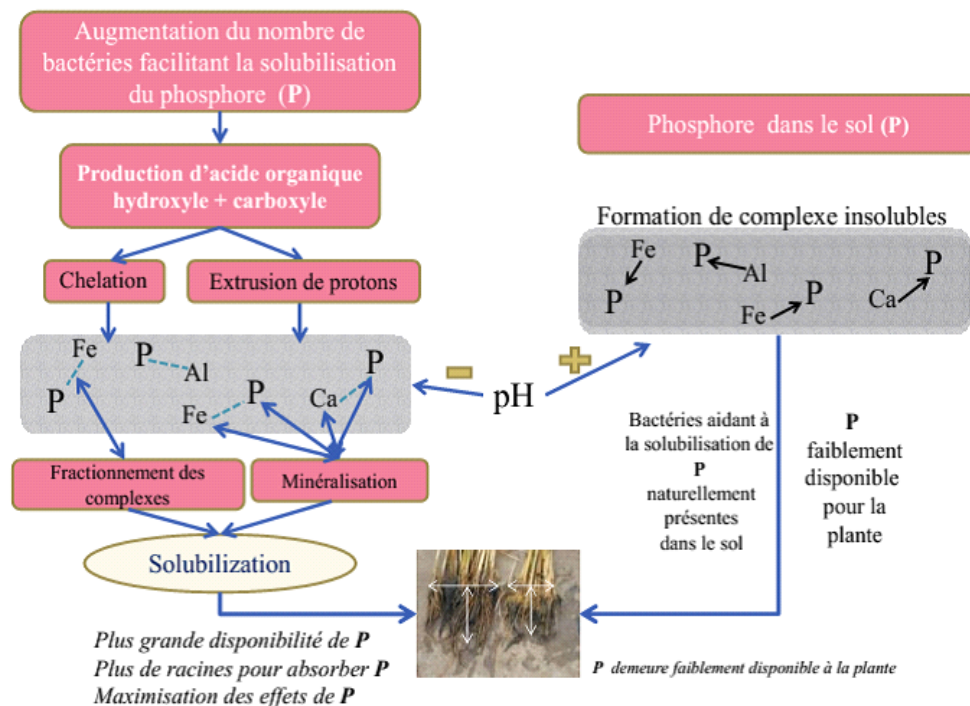
On désigne par le terme rhizogenèse, la différenciation de racines soit directement sur les explants soit indirectement sur les cals produits au cours de la phase d'induction. Ce processus morphologique est dépendant à la fois, de la composition hormonale du milieu, de l'explant et du génotype. La rhizogenèse adventive est un mécanisme essentiel pour la propagation d'espèces ligneuses mais également pour l'adaptation à des conditions environnementales particulières. C'est un processus complexe affecté par de multiples facteurs (**Menteuuis., 2016**)

La néoformation (ou différenciation) des bourgeons est induite par les cytokinines, sous réserve de la présence de faibles doses d'auxine. Pour des concentrations plus fortes, l'auxine inhibe la différenciation des bourgeons. À forte dose, l'auxine inhibe également le débourrement des bourgeons. L'un des effets organogènes le plus marquant de l'auxine est son pouvoir rhizogène: appliquée à de concentrations assez fortes, l'auxine provoque l'apparition de racines (**Thierry et al., 2017**)

### a) La solubilisation du phosphates

Généralement, le contenu de phosphore dans le sol est de 0,05% (p/p), cependant seule une très faible proportion des phosphates est disponible aux plantes, la majeure partie est complexée par l'aluminium, le calcium et le magnésium (**Kumar et al., 1999**). Homogénéiser les références. Il n'est pas requis en grandes quantités mais peut être un important facteur limitant de la croissance.

Dans les champs, ce substrat est susceptible d'être solubilisé par l'action de microorganismes (**Arcand et al., 2006**). La littérature décrit ces microorganismes solubilisant les phosphate (PSM) comme appartenant à des genres d' *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aereobacter*, *Erwinia* et *Actinomyces* (**Mba., 1997 ; Rudresh et al., 2005**) .À titre d'exemple, nous illustrons ici, de manière schématique, l'action des micro-organismes sur la solubilisation du phosphore (P) (**figure 05**) .



**Figure N° 05:** solubilisation du phosphore par l'action des micro-organismes (**Lemanceau et al., 2006**).

### b) Production des sidérophores

Le fer est un élément nutritif essentiel aussi bien pour les bactéries que les champignons et les plantes. Les microorganismes ont développé un mécanisme hautement

spécifique de captation des ions ferriques basé sur la production de sidérophores dans des conditions de carence en fer. Ce sont des molécules organiques de faible poids moléculaire, chélatrices du  $\text{Fe}^{3+}$  et servant de transporteur de l'ion ferrique à l'intérieur de la cellule microbienne, présents chez nombreux microorganismes. Il y a donc dans le sol une compétition pour le  $\text{Fe}^{3+}$ , élément indispensable à tout organisme vivant.

Les sidérophores sont des molécules dont les masses moléculaires sont comprises entre 300 et 1300 Da et qui présentent une très forte affinité pour le fer. Ils sont produits par une grande variété de microorganismes (bactéries et champignons) et par certaines plantes (phytosidérophores des graminées) (Ahmed et al., 2014).

### I.3. La diversité microbienne rhizosphérique

La microflore tellurique est principalement dominée par les bactéries dont les actinomycètes, les champignons, les algues et les protozoaires. Les bactéries, les actinobactéries et les champignons sont les organismes dominants (Tab1) (Hoorman et al., 2010).

Tableau N° 01: Nombres des microorganismes de rhizosphère

Microorganismes	Nombre (g/sol)	Biomasse (g/m <sup>2</sup> )
Bactéries	$10^8$ - $10^9$	40-500
Actinobactéries	$10^7$ - $10^8$	40-500
champignons	$10^5$ - $10^6$	100-1500
Algues	$10^4$ - $10^5$	1-50
Protozoaires	$10^3$ - $10^4$	variée

#### I.3.1. Champignons

La densité des champignons est estimée à  $10^6$  par gramme de sol (Djabalah., 2010). Parmi les genres les plus fréquents dans la rhizosphère, on citera *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Phoma*. Certaines espèces sont antagonistes de champignons pathogènes, d'autres s'associent aux racines des plantes cultivées comme les mycorhizes (Tokiniaina., 2010). Leur rôle dans la décomposition de la matière organique est très important, Ils dégradent la cellulose et la lignine des végétaux (Kerbab., 2012).

#### I.3.2. Protozoaires

Les protozoaires sont les moins nombreux, leur densité est de l'ordre de  $10^3$  par gramme de sol (Tokiniaina., 2010). Les espèces les plus communes sont: *Heteromita globosa*, *Colpoda cucullus* et *Hartmanella hyalina*. Ce sont des consommateurs de bactéries, de

levures et de champignons, ils sont impliqués aussi dans la décomposition de la matière organique (Kerbab., 2012).

### I.3.3. Algues

Les algues sont peu abondantes, soit  $10^5$  par gramme de sol, mais fournissent néanmoins de la matière organique, certaines sont fixatrices d'azote. Elles sont représentées par des espèces de *Chlorophyceae*, *Cyanophyceae* et les Diatomées (Tokiniaina., 2010).

### I.3.4. Bactéries

Dans la rhizosphère, les bactéries sont les organismes les plus nombreux, leur densité est de l'ordre de  $10^9$  par gramme de sol. On y trouve des bactéries pathogènes qui peuvent causer des dégâts aux cultures comme *Erwinia carotovora* sur les carottes, *Xanthomonas fragariae* sur les fraisiers. D'autres bactéries protègent les plantes contre des agents pathogènes: *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, d'autres aussi sont capables de fixer l'azote atmosphérique comme les Azotobacters. On y trouve aussi des espèces symbiotiques comme les souches de *rhizobia sp* s'associant aux légumineuses (Tokiniaina., 2010). En général, les bactéries de la rhizosphère jouent des rôles essentiels dans la nutrition et la promotion de la croissance des plantes (Kerbab., 2012).

### I.3.5. Actinobactéries

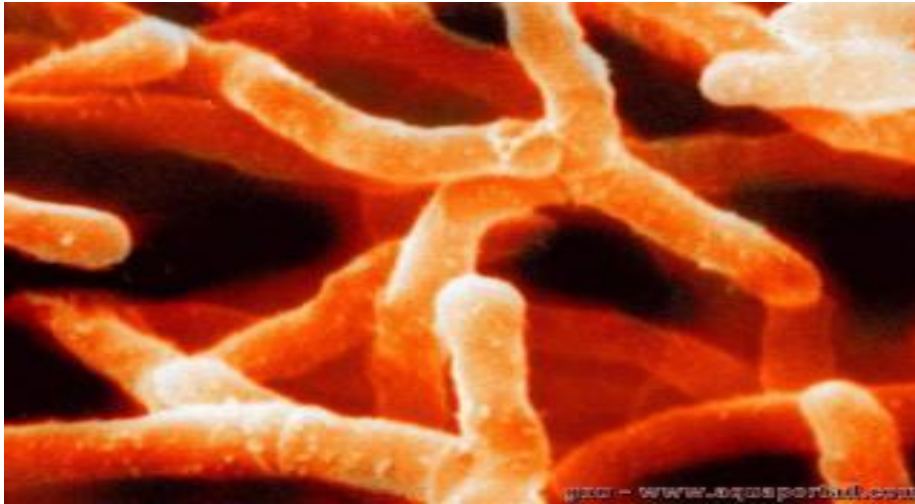
Les actinobactéries ou bactéries filamenteuses sont moins nombreux que les bactéries mais plus nombreux que les champignons dans le sol et dans la rhizosphère. Ils peuvent atteindre jusqu'à  $10^7$  unités par gramme de sol et ils manifestent souvent un antagonisme vis-à-vis des bactéries et des champignons voisins; cet antagonisme résulte de la sécrétion de substances antibiotiques. Certaines espèces d'actinobactéries fixent l'azote de l'air comme le genre *Frankia* (Tokiniaina., 2010). Les Actinobactéries jouent principalement un rôle de protection des racines de la plante. (Harir., 2010).

## II. Les Actinobactéries

### II.1. Généralité

Les actinobactéries sont un groupe d'eubactéries filamenteuses (figure 06), Gram positives. La majorité de ces espèces ont évolué pour devenir commensales et/ou symbiotes de plantes, champignons, insectes, éponges et d'autres organismes ...ou elles sont saprophytes et principalement telluriques; quelques unes (exp *Mycobactirium*) peuvent être pathogènes chez des individus à résistance affaiblie. Certaines actinobactéries vivent à l'intérieur de plantes

pour lesquelles elles fixent l'azote de l'air et produisent des antibiotiques naturels. (van et al., 2017).



**Figure N° 06 :** *Actinomyces israelii* (photographie au microscope électronique, en fausses couleurs) (Lemou., 2019)

## II.2. Habitat des actinobactéries

Les Actinobactéries colonisent une large variété d'habitats naturels comme le montre le tableau 02 .Ils sont capable de se développer sur une large gamme de substrats, elles sont présente dans les sols, les milieux aquatique, l'air et dans autre habitats (Boudemagh., 2007 ).

**Tableau N° 02:** Répartition des Actinobactéries dans la nature (Boudemagh., 2007 ).

<i>Genre</i>	<i>Habitat</i>
<i>Actinomadura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, Eau et Litière.
<i>Frankia</i>	Nodules des racines.
<i>Microbispora</i>	Sol.
<i>Micromonospora</i>	Sol et Eau.
<i>Nocardia</i>	Sol et Eau.
<i>Rhodococcus</i>	Sol, Eau, Fumier et Litière.
<i>Sacharomonospora</i>	Matière en décomposition.
<i>Streptomyces</i>	Sol, Eau et Litière.
<i>Streptosporangium</i>	Sol.
<i>Thermoonospora</i>	Matière en décomposition et en fermentation.

### ❖ Le sol

Les Actinobactéries sont largement répandus dans tous les sols .Ils sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol et jusqu'à 2m de profondeur c'est-à-dire dans la rhizosphère. Le genre *Streptomyces* est le plus fréquent dans le sol, il couvre à lui seul 95% des souches d'Actinobactéries isolées. Le tableau 03 montre la fréquence des divers genres d'Actinobactéries dans le sol (**Tokiniaina., 2010**).

**Tableau N° 03 : Fréquence des divers genres d'Actinobactéries dans le sol (Tokiniaina., 2010).**

Genres	Pourcentage (%)
<i>Streptomyces</i>	95,34
<i>Nocardia</i>	1,98
<i>Micromonospora</i>	1,40
<i>Thermomonospora</i>	0,22
<i>Actinoplanes</i>	0,20
<i>Microbispora</i>	0,18
<i>Mycobacterium</i>	0,14
<i>Streptosporagium</i>	0,10
<i>Actinomadura</i>	0,10
<i>Microspolyspora</i>	0,10
<i>Pseudonocardia</i>	0,06
<i>Microellobosporia</i>	0,04

### ❖ Eaux douces et marines

Les Actinobactéries sont bien représentés dans ces milieux d'où l'on peut facilement isoler des souches de *Microspora*, d'*Actinoplanes* et de *Streptosporangium*. C'est essentiellement dans les sédiments des fonds fluviaux ou lacustres que ceux-ci sont présents où ils jouent un rôle important dans la décomposition des débris végétaux et donnent à l'eau son odeur de terre et sa saveur. ils sont absents dans les eaux minières très acides (pH<1) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique (**Xu et al., 1996 ; Hwang et al., 2001**).

### ❖ Air

L'air constitue pour les actinomycètes, non pas un habitat, mais un moyen de transport. Les spores des actinobactéries sont des contaminants importants de notre environnement. Les spores de certains actinomycètes se développent dans des matériaux détériorés provoquant, lorsqu'elles sont inhalées, des maladies respiratoires. Les spores d'actinobactéries

thermophiles sont produites en grande quantité et sont facilement mises en suspension dans l'air (Mazodier., 1974).

#### ❖ Composts

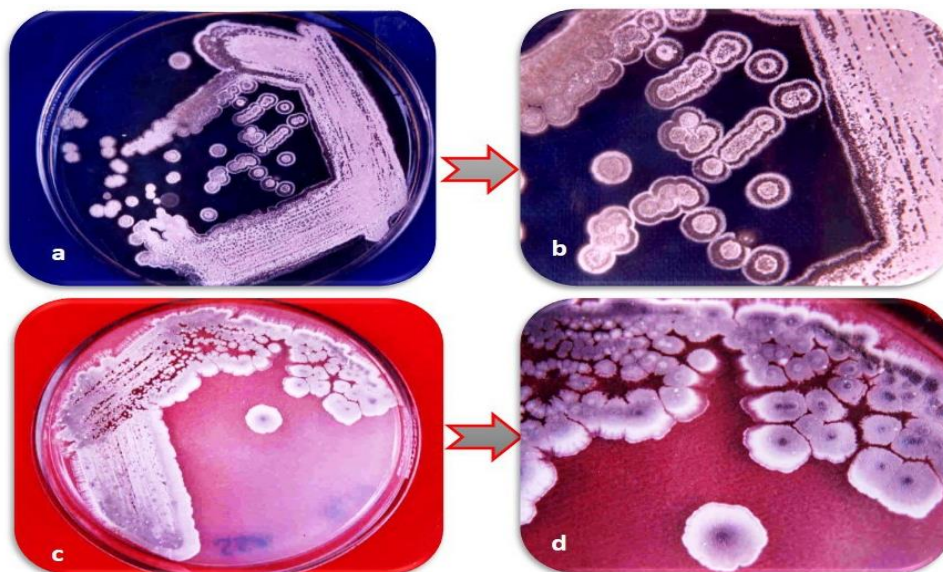
Des actinobactéries sont isolés des composts, il s'agit de genres thermophiles tels que *Thermoactinomyces*, *Sacharomonospora* et d'autre thermotolérants tel que *Microbispora*, *Micropolyspora*, *Pseudonocadia* (Ensign *et al.*, 1993 ; Lacey, 1997 ; Song *et al.*, 2001). Les actinomycètes sont actifs dans les derniers stades du compostage. Ils se sont spécialisés dans l'attaque des structures plus résistantes comme la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (Zermane., 2007).

#### ❖ Végétaux, animaux et l'homme

Dans la distribution naturelle des actinobactéries, il faut ajouter les végétaux, les animaux et l'homme. Parmi les exemples les mieux connus, il faut citer : *Streptomyces scabies*, *Actinomyces bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Nocardia asteroides* et *Micropolyspora faeni* (Zermane., 2007).

### II. 3. Caractéristiques des Actinobactéries

Les actinobactéries comprennent un groupe de micro-organismes unicellulaires ramifiés, dont la plupart sont des mycéliums aérobie appelés substrat et aérien. Ils se reproduisent par fission binaire ou en produisant des spores ou des conidies, et la sporulation des Actinobactéries se fait par fragmentation et segmentation ou formation de conidies. L'aspect morphologique des actinobactéries (figure 07) est compact, souvent coriacé, donnant un aspect conique avec une surface sèche sur les milieux de culture et sont souvent recouverts de mycélium aérien (Anandan.,2016).



**Figure N° 07 :** Apparition d'isolats d'Actinobactérie sur un milieu gélosé à la caséine d'amidon. **a, c:** Des isolats actinobactériens. **b, d:** Morphologie des colonies individuelles (Anandan., 2016).

### A. Mycélium aérien

Le mycélium aérien est généralement plus épais que le mycélium du substrat (**figure 7a**). Le mycélium aérien montre une différenciation suffisante pour qu'un assortiment d'isolats puisse être séparé en un certain nombre de groupes ayant des caractéristiques morphologiques similaires dans des conditions déterminées. Ceci est désigné comme l'un des critères les plus importants pour la classification du genre *Streptomyces* en espèces, comprenant la structure (cotonneuse, veloutée ou poudreuse), la formation d'anneaux ou de zones concentriques et la pigmentation.

### B. Mycelium de substrat

Le mycélium substrat des actinobactéries varie en taille, en forme et en épaisseur (**figure 08**). Sa couleur varie du blanc ou pratiquement incolore au jaune, brun, rouge, rose, orange, vert ou noir.

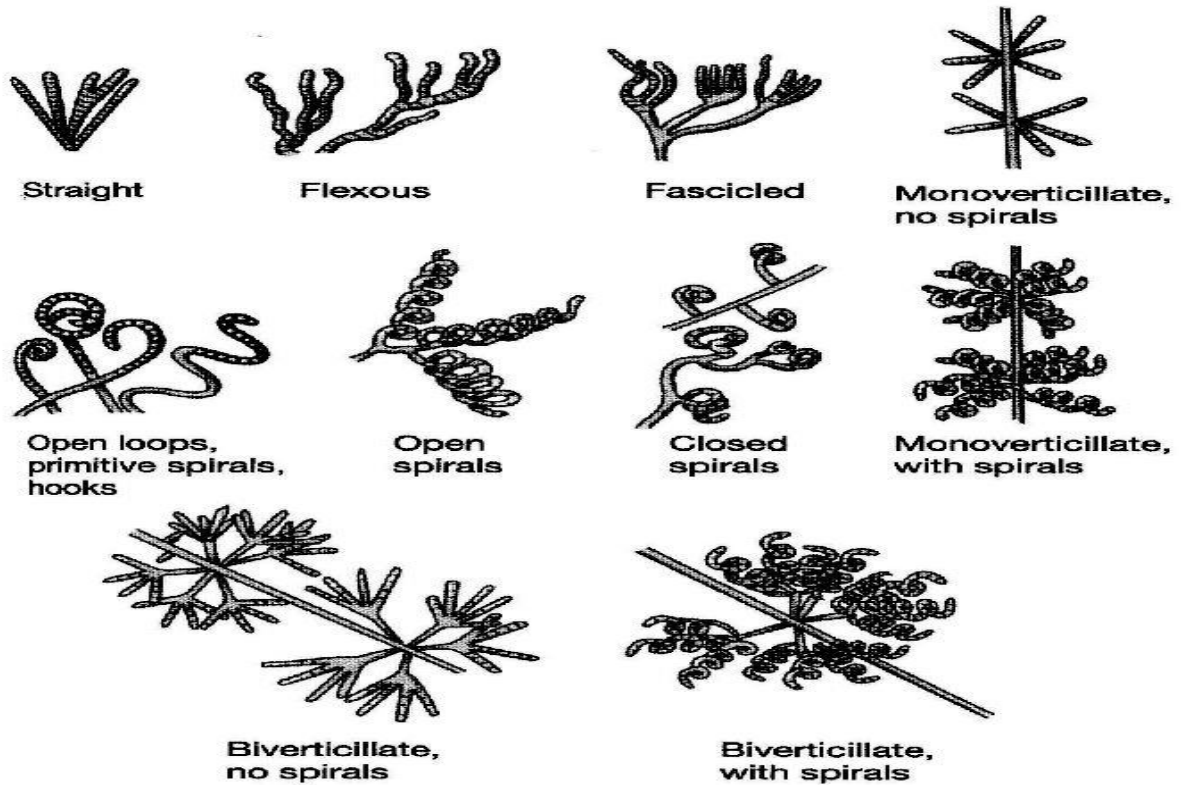


**Figure N° 08 : a**, Le mycélium aérien montre une différenciation; **b**, Le mycélium substrat des Actinobactéries (Anandan., 2016).

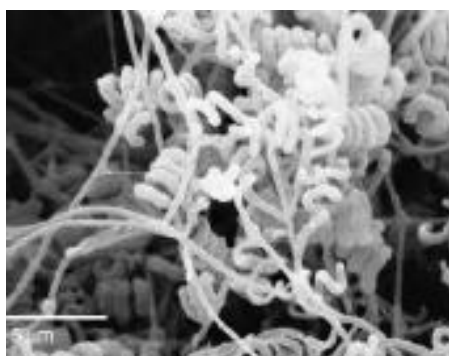
La morphologie est une caractéristique importante pour identifier les isolats d'Actinobactérie qui a été utilisé dans les premières descriptions des espèces de *Streptomyces* (figure: 8). Ceci est fait en utilisant divers milieux de culture standard, y compris International *Streptomyces* Project (ISP) (Holt *et al.* , 1994).

Diverses observations morphologiques, y compris la germination des spores, l'allongement et la ramification du mycélium végétatif, la formation de mycélium aérien, la couleur du mycélium aérien et le substrat et la production de pigments, ont été utilisées pour identifier les actinobactéries (Holt *et al.*, 1994).

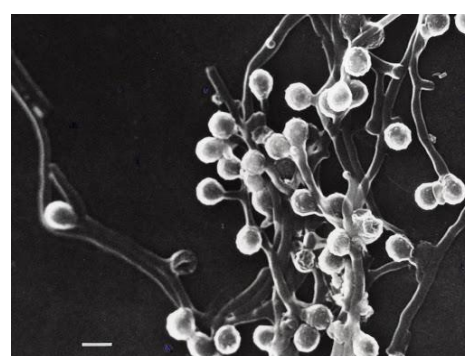
La microscopie optique a été utilisée pour étudier la formation de mycélium aérien et de mycélium de substrat, et la microscopie électronique à balayage (**figure 9**) a été utilisée pour étudier les spores, la surface des spores et la structure des spores.



**Figure N° 09 :** Type de structure sporulée chez les *Streptomycètes* (Goodfellow et al.,2012 in Bergey's Manuel.,2012).

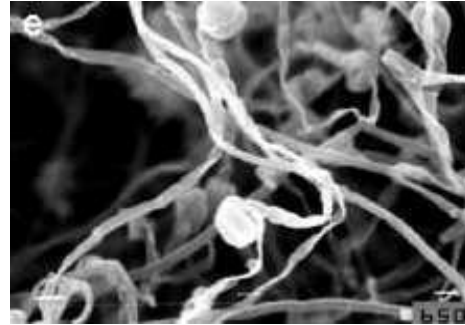


*Streptomyces violaceusniger*



*Micromonospora sp*

**Figure N° 10:** Photographies au microscope électronique d'isolats d'Actinobactéries non mobiles monosporulés (Hayakawa et al., 2004 ; Hayakawa., 2008)

*Nonomuraea sp**Actinomadura spp.*

**Figure N° 11:** Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles dotées d'oligospores (**Hayakawa., 2008**).

#### II. 4 .Systématique

Les différentes éditions du Manuel de bergey ont apporté des définitions actualisées des actinobactéries avec des données fournies par des travaux récents par rapport à l'époque de chaque édition. Selon la classification du " Taxonomic Outline of The Procaryotes, Bergey's Manual of Sustematic Bacteriology ", Deuxième édition 2004 (**Garrity et al., 2004**), le **Phylum Actinobacteria** (bactéries à Gram positif et % G+C élevé) est constitué d'une seule classe dénommée également *Actinobacteria*. Celle-ci a été décrite par (**Stackebrandt et al ., 1997**). Selon le **Bergey's Manual de 2012** , la définition des actinobactéries est restée la même (bactéries à Gram positif ayant un % G+C supérieur à 55 % et présentant une grande variabilité morphologique, la plupart étant mycéliens) .Mais sur la base des donnée de la biologie moléculaire notamment le séquençage du gène codant pour l'ARN 16S ,la classificatin supragénérique des actinobactéries a subi un profond remaniement .Ces microorganismes sont classés actuellement dans le règne des Procaryotae ,le phylum des *Actinobacteria* et la classe des *Actinobacteria* également .

Cependant, l'ordre des Actinomycetales a été subdivisé en plusieurs ordres (*Actinomycetales, Streptomycetales Streptosporangiales, Micomonosporales, Micrococcales...*etc). L'ordre des Actinomycetales actueument est un petit ordre regroupant peu de genre, dont Actinomyces. Ce dernier représente le genre anaérobie strict et pathogène pour l'homme .Les Actinobacteria sont classées, depuis 2012, dans 15 ordres, 43 familles et 203 genres, don les plus répondus sont présentés dans le tableau 04, (**Goodfellow et al 2012 in Bergey's Manual, 2012**).

**Tableau N° 04:** Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries (Goodfellow et al., 2012).

<b>Classes</b>	<b>Ordres</b>	<b>Familles</b>
<b>Actinobacteria</b>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Actinomycetaceae</i>
	<i>Actinopolysporales</i>	<i>Actinopolysporaceae</i>
	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>
	<i>Catenulisporales</i>	<i>Catenulisporaceae, Actinospicaceae</i>
	<i>Corynebacteriales</i>	<i>Corynebacteriaceae, Dietziaceae, Mycobacteriaceae, Nocardiaceae, Segniliparaceae, Tsukamerullaceae</i>
	<i>Frankiales</i>	<i>Frankiaceae, Acidothermaceae, Cryptosporangiaceae, Geodermatophilaceae, Nokamurellaceae</i>
	<i>Glycomycetales</i>	<i>Glycomycetaceae</i>
	<i>Jiangellales</i>	<i>Jiangellaceae</i>
	<i>Kineosporales</i>	<i>Kineosporaceae</i>
	<i>Micrococcales</i>	<i>Micrococcaceae, Beutenbergiaceae, Bogoriellaceae, Brevibacteriaceae, Cellulomonadaceae, Dermabacteriaceae, Dermacoccaceae, Dermatophilaceae, Intrasporangiaceae, Jonesiaceae, Micobacteriaceae, Promicomonosporaceae, Rarobacteriaceae, Ruaniaceae</i>
	<i>Micromonosporales</i>	<i>Micromonosporaceae</i>
	<i>Propionibacteriales</i>	<i>Propionibacteriaceae, Nocardidoidaceae</i>
	<i>Pseudonocardiales</i>	<i>Pseudonocardiaceae</i>
	<i>Streptomycetales</i>	<i>Streptomycetaceae</i>
	<i>Streptosporangiales</i>	<i>Streptosporangiaceae, Nocardiopticaceae, Thermomonosporaceae</i>
<b>Acidimicrobiia</b>	<i>Actinomicrobiales</i>	<i>Actinomicrobiaceae</i>
<b>Nitriliruptoria</b>	<i>Nitriliruptorales</i>	<i>Nitriliruptoraceae</i>
	<i>Euzebyales</i>	<i>Euzebyaceae</i>
<b>Rubrobacteria</b>	<i>Rubrobacterales</i>	<i>Rubrobacteraceae</i>
<b>Thermophilia</b>	<i>Thermophilales</i>	<i>Thermophilaceae</i>
	<i>Solirubrobacterales</i>	<i>Solirubrobacteraceae, Conexibacteraceae, Patulibacteraceae</i>

## II. 5. Les types des Actinobactéries

### II. 5.1. Actinobactéries thermophiles

Un certain nombre d'études ont été menées par les chercheurs pour confirmer l'existence d'actinobactéries du sol extrémophiles et extrêmement tolérantes( tolérantes aux acides et aux alcalins, psychrotolérantes et thermotolérantes et halotolérantes ou xérophiles).

Les actinobactéries mésophiles peuvent se développer à une température optimale de 20°C à 42°C, parmi lesquelles existent des espèces thermotolérantes, qui peuvent survivre à 50 °C. Les actinobactéries modérément thermophiles ont une croissance optimale à 45°C–55°C, (**Jensen., 2005**). tandis que les actinobactéries strictement thermophiles se développent à 55°C -60°C (**Jiang et al ., 1993**).

Des températures d'incubation de 28°C, 37°C et 45°C sont considérées comme optimales pour l'isolement des actinobactéries mésophiles, thermophiles du sol. Les Thermoactinomyces exclus de l'ordre *Actinomycetales*, sont décrites comme des formes thermophiles en fonction de leurs caractéristiques génétiques, phénotypiques et moléculaires, ainsi que parmi certaines espèces de *Thermomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Sacharomonospora* et *Streptomyces* (**Jiang et al., 1993**).

### II. 5.2. Actinobactéries acidophiles

Dans les habitats terrestres tels que les forêts acides et les sols de drainage minier, les actinobactéries croissent dans une gamme de pH d'environ 3,5 à 6,5 avec des taux optimaux de pH 4,5 à 5,5. (**Khan et al., 1975; Hagedom et al., 1976**).

Il a été démontré que les actinobactéries acidophiles forment systématiquement deux taxons distincts (à savoir les groupes d'acidophiles et strictement acidophiles neutrotolérants) sur la base de données phénétiques numériques; les membres des deux groupes partagent des propriétés morphologiques et chimiotaxonomique communes (**Khan et al., 1975**).

Certains membres du group strictement acidophile forment également un taxon distinct, comme le genre *Streptacidiphilus*, qui a été attribué a la famille révisées *Streptomycetaceae*; ainsi que les genres *Kitasatospora* et *Streptomyces*.

### II. 5.3. Actinobactéries halophiles

Les actinobactéries halophiles sont classées en différents types en fonction de leur croissance dans des milieux contenant différentes concentrations de sel.

Les halophiles extrêmes poussent mieux dans les milieux contenant 2,5 – 5,2 M de sel, tandis que les halophiles extrêmes limites se développent mieux dans les milieux contenant 1,5 – 4.0 M de sel, les halophiles modérés se développent mieux dans un milieu contenant 0.5 – 2.5 M de sel, L'eau de mer, les sols salins, les lacs salés, les saumures et les habitats salins alcalins sont considérés les habitats les plus utilisés pour l'isolement des actinobactéries halophiles. Généralement, la plupart des actinobactéries halophiles ont été isolées des sols salins. Les actinobactéries halophiles isolées des milieux marins sont attribuées à quelques genres, dont *Micromonospora*; *Rhodococcus* et *Streptomyces*. (Maldonado et al., 2005). L'autre groupe comprend *Dietzia*; *Salinispora*; *Marinospora*; *Solwaraspora*; *Salinibacterium*; *Aeromicrobium*; *Gordonai*; *Microbacterium*; *Nocardiopsis*; *Actinomadura*; *Sccharopolyspora*; *Pseudonocardia*; *Streptosporangium*; *Nonomuraea*; *Williamsia* (Maldonado et al., 2005 ; Riedlinger., 2004).

#### II. 5.4. Actinobactéries endophytes

Vivant à l'intérieur de plantes contribuent à la défense de ces plantes et à leur bonne croissance. Ces actinobactéries jouent des rôles spécifiques, par exemple en protégeant les plantes hôtes contre les insectes et les maladies (Benson et al., 1993).

#### II. 5.5. Actinobactéries symbiotiques

Environ 15% de l'azote mondial est fixé naturellement par les relations symbiotiques entre diverses espèces de *Frankia* appartenant à la famille des Actinobactéries. Les plantes qui forment des relations symbiotiques avec *Frankia* sont appelées plantes actinorhiziennes. Les chercheurs ont trouvé plus de 160 plantes qui ont des actinobactéries comme hôte, y compris l'aulne, l'olivier russe, le myrtille, la fougère douce, la brosse amère et la rose des falaises. Les *Frankia* ont la capacité de fournir la plupart ou la totalité des besoins en azote de la plante hôte.

De nombreuses espèces de *Frankia*, y compris les isolats de *Casuarina*, forment des vésicules réductrices d'azote *in vitro* et *in planta* (Thajuddin et al., 2015). Ces bactéries fixatrices d'azote et leurs plantes hôtes sont souvent des espèces pionnières sur les sols déficients en azote tels que les moraines, les coulées volcaniques et les dunes de sable.

#### II. 5.6. Actinobactéries endosymbiontes

Un endosymbionte est tout organisme qui vit dans le corps ou les cellules d'un autre organisme. Le processus d'endosymbiose est parfois obligatoire, c'est-à-dire que

l'endosymbionte ou l'hôte ne peuvent pas survivre sans l'autre. Les membres du phylum Actinobactérie ont été identifiés comme membres abondants des communautés microbiennes associées aux éponges. *Mycobactérie* avec *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Microbacterium*, *Brevibacterium*, *Kocuria Varians*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Brachybacterium*, *Rubrobacter*, *Streptomyces*, *Dietzia*, *Salinispora*, *Actinokineospora*, *Gordonia*, *Arthrobacter*, *Nocardiopsis*, et *Rothia* espèces ont été trouvées à vivre comme endosymbiontes avec *Callyspongia de aff. Implexa*, *Aplysina aerophoba*, *Sphaciospongia vagabunda*, *Hemimycale culumella*, *Hyrtios erecta*, *Dysidea tupa*, *Callyspongia sp.*, *Dysidea avara*, *Amphimedon sp.* Et *Negombata magnifica*. Cependant, les actinobactéries endosymbiontes ont également été signalés dans d'autres groupes d'animaux, tels que *Hylobates hoolock*, *Rhinopithecus roxellanae*, *Rhinopithecus bieti*, *Panthera tigris altaica*, *Panthera tigris tigris*, *Panthera tigris amoyensis*, *Ailurus fulgens*, *Cavrslusus*, *Cavnlusus Elaphurus davidianus* et *Vicugna pacos*. (Anandane., 2016).

## II. 5.7. Actinobactéries intestinales

Bien que les actinobactéries se trouvent dans divers habitats, certains sont également connus pour former des associations intimes avec des invertébrés et des vertébrés. Les interactions symbiotiques sont essentielles principalement pour la survie et la reproduction car elles jouent un rôle crucial dans la nutrition, la détoxification de certains composés, les performances de croissance et la protection contre les bactéries pathogènes.

De nombreuses études ont montré que certaines espèces d'actinobactéries symbiotiques, c'est-à-dire les probiotiques, contrôlent les maladies bactériennes du bétail, de la volaille et de l'aquaculture. Ils participent également à la santé de l'hôte en convertissant les aliments pour animaux en biomasse microbienne et en produits finaux de fermentation qui peuvent être utilisés par l'animal hôte (Tan et al., 2009).

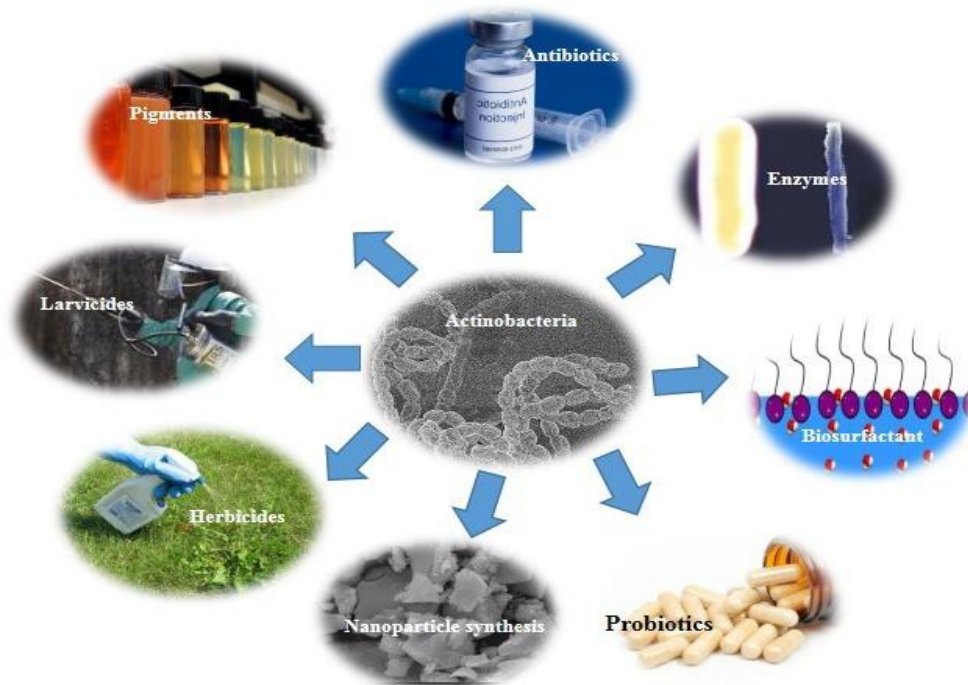
Ont isolé *Sreptomyces*, *Nocardiopsis* et *Oerskovia* des excréments chèvre sains.

De même, Latha et Dhanasekaran (Latha et al., 2013). Ont isolé 87 actinobactérie à partir de différentes matières fécales de chèvre et de poulet collectées à divers endroits dans les districts de Pudukkottai et Tiruchirappalli, Tamil Nadu (est une grande ville de l'Inde située dans l'État du Tamil Nadu. La ville compte plus d'un million d'habitants. Elle possède un aéroport international) (Floris., 2004).

Parmi lesquelles 45 isolats ont été sélectionnés pour le dépistage de l'activité antibactérienne et la production d'enzymes digestives extracellulaires (Latha et al., 2016).

## II. 6. Les applications générales d'Actinobactéries

Les actinobactéries sont bien reconnues pour leur production de métabolites primaires et secondaires qui ont des applications importantes dans divers domaines. Ils sont également une source prometteuse de large gamme d'enzymes importantes, qui sont produites à l'échelle industrielle. Une grande fraction d'antibiotiques sur le marché provient d'Actinobacteria. Ils produisent des inhibiteurs enzymatiques utiles pour le traitement du cancer et les immunomodifiants qui améliorent la réponse immunitaire. Ils ont la capacité de dégrader une large gamme d'hydrocarbures, de pesticides et de composés aromatiques et aliphatiques. Ils effectuent des transformations microbiennes de composés organiques, un domaine de grande valeur commerciale. Les membres de nombreux genres d'Actinobacteria peuvent être potentiellement utilisés dans la bioconversion des déchets agricoles et urbains sous-utilisés en produits chimiques de haute valeur. Les actinobactéries sont également importantes dans la biotechnologie végétale, car les souches avec une activité antagoniste contre les agents pathogènes végétale sont utiles dans la lutte biologique. Leur potentiel métabolique offre un domaine de recherche important. Ici, nous avons une brève description des applications importantes des Actinobactéries (**figure 11**).



**Figure N° 12:** Applications biotechnologiques des actinobactéries ( **Anandan., 2016**).

## II. 6.1. Antimicrobiens

Les actinobactéries jouent un rôle important dans la production de médicaments variés qui sont extrêmement importants pour notre santé et notre nutrition. Récemment, les maladies dues à des bactéries pathogènes multi-résistantes augmentent vigoureusement, et ainsi la recherche de nouveaux antibiotiques est efficace contre les agents pathogènes multirésistants. On a observé que les produits naturels ayant de nouvelles structures possèdent des activités biologiques utiles (**Dancer., 2004**) La nature reste toujours la source la plus riche et la plus polyvalente propice aux nouveaux antibiotiques, bien qu'il y ait des progrès considérables dans les domaines de la synthèse chimique et de la biosynthèse synthétique des composés antibactériens. La nature toxique de certains antibiotiques a conduit à leur utilisation limitée, bien que des milliers d'antibiotiques aient été découverts jusqu'à la date. Pour résoudre ce problème, la recherche de nouveaux antibiotiques qui sont plus efficaces et qui ne comporte aucun effet secondaire toxique est en cours. Comme déjà mentionné, l'un des principaux problèmes de santé est la résistance aux antibiotiques. Une approche pour résoudre ce problème est de rechercher de nouveaux antibiotiques avec de nouveaux mécanismes d'action. La figure 12 montre qu'une majorité d'antibiotiques proviennent de microorganismes, en particulier des espèces Actinobacteria. Près de 80% des antibiotiques mondiaux connus pour être dérivés d'Actinobacteria, principalement des genres *Streptomyces* et *Micromonospora* (**Jensen et al., 1991 ; Hassan et al., 2011**).

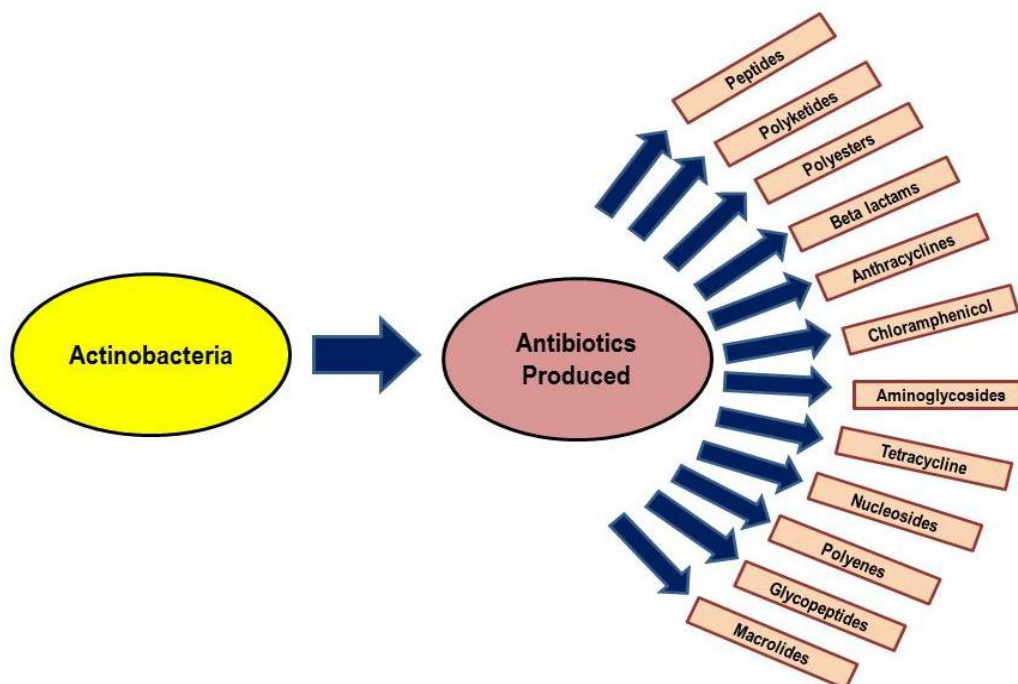


Figure N° 13: Antibiotiques des actinobactéries (**Anandan., 2016**).

En particulier, les espèces de *Streptomyces* produisant environ 7600 molécules bioactives, dont beaucoup sont des métabolites secondaires qui sont des antibiotiques très efficaces, ce qui a fait des streptomycètes les principaux organismes producteurs **Ramesh et al.,2009**) La raison de la capacité du genre *Streptomyces* à produire des composées commercialement significatifs reste suprême en raison du nombreux gènes qui code pour la production des biomolécules (**Kurtboke et al .,2012**).

Il a été estimé que les cinq dernières décennies ont vu la découverte de plus de 12000 antibiotiques, parmi lesquels les actinobactéries en ont produit environ 70% et les 30% restants sont produits de champignons filamenteux et de non-actinobactéria. Les antibiotiques d'*Actinobactérie* se divisent en plusieurs classes structurelles majeures, telles que les aminoglycosides (par exemple, la streptomycine et la kanamycine), les ansamycines (par exemple, la rifampicine), les anthracyclines (par exemple, la doxorubicine), les B-lactamines (céphalosporines), les macrolides (par exemple, l'érythromycine) et la tétracycline. Les souches de *Streptomyces* ont produit un nombre important des antibiotiques très util pour l'homme (**Laskaris et al., 2010**).

L'une des premiers antibiotiques utilisés est la streptomycine produite par *Streptomyces griseus* (**Schatz et al., 2005**). En effet, différentes espèces de *Streotomyces* produisent environ 75% d'antibiotiques commercialement et médicalement utiles. Au cours du dépisage de nouveaur antibiotiques, plusieurs études sont orientées vers l'isolement des streptomycètes de différents habitants.

Différentes conditions de culture peuvent affecter la capacité des cultures de *Streptomyces* à produire des antibiotiques, et donc la constitution du milieu de culture ainsi que la capacité métabolique de l'organisme producteur affectent considérablement la biosynthèse des antibiotiques. (**Anandan, 2016**).

Les actinobactéries antagonistes produisent des antibiotiques qui se différncient de la nature chimique, l'action antimicrobienne, la toxicité pour les animaux et leur potentailités chimiothérapeutiques. Certains des antibiotiques qui ont été isolés jusqu'à présent des actinobactéries sont des préparations brutes qui ont été cristallisés et des informations considérables ont été obtenues concernant leur nature chimique, notamment le lysozyme, l'actinomycine, la micromonosporine, la streptomycine et la mycétine. Certaines actinobactéries produisent la meme substance bioactive. Le tableau 05 illustre quelques exemples d'antibiotiques et antifongiques. Les antagonistes microbiens sont largement utilisés

en lutte biologique contre les champignons phytopathogènes. L'activité antagoniste de *Streptomyces* vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires et des enzymes hydrolytiques. Les pramicidines sont des antifongiques synthétisés par une souche d'*Actinomadura bibisca*. Elles sont très actives contre des infections systémiques fongiques malgré leur activité modérée in vitro (Anandan., 2016).

**Tableau N° 05 :** Quelques exemples d'antibiotiques et antifongique produits par les actinobactéries.

Actinomycètes producteurs	Antibiotiques	Références
<b>1/ Les agents antifongiques</b>		
<i>Saccharopolyspora spinosa</i>	Spinosynes	(Waldron et al., 2001; Kirst, 2010).
<i>Streptomyces avermitilis</i>	L'ivermectine	(Burg et al., 1979).
<i>Streptomyces noursei</i>	La nystatine	(Fjaervik et al, 2005).
<i>Marinispota sp.</i>	Marinomycine	(Sturdikovà et al, 2009).
<b>2/ Les agents antibactériens</b>		
<i>Streptomyces.bambergiensis</i>	Bambergmycine	(Kieser et al., 2000 ; Madigan et al, 2007)
<i>Streptomyces.sp</i>	Antimycine A	
<i>Streptomyces.clavuligerus</i>	Acide clavulanique	
<i>Streptomyces.sp</i>	Actinomycine D	

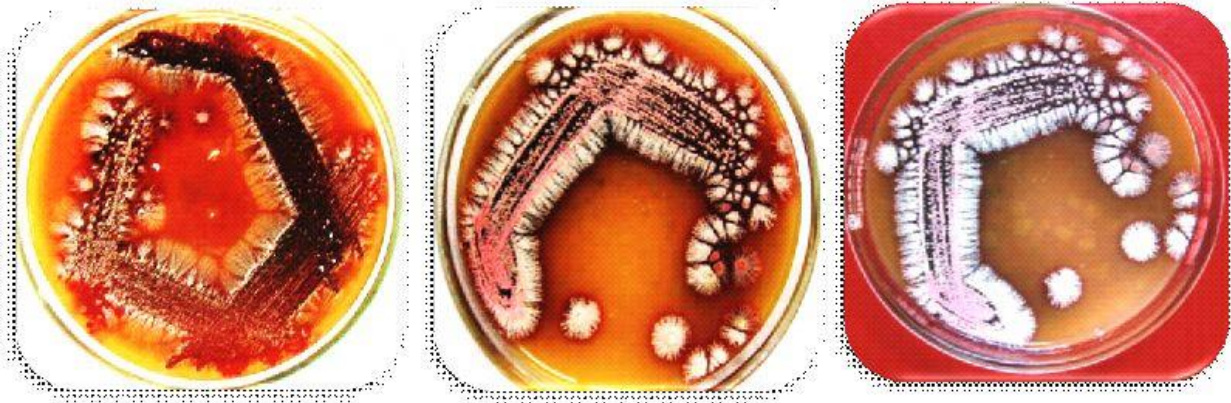
## II. 6.2. Pigments

Les actinobactéries sont caractérisées par la production de divers pigments sur des milieux naturels ou synthétiques, ces pigments sont considérés comme une caractéristique culturelle importante dans la description des organismes. Tous les changements phénotypiques induits par des influences environnementales aideront les Actinobactéries car ils se vantent de morphologies de colonies distinctives et produisent une variété de pigments et de filaments de ramification appelés hyphes aérienne (Goodfellow et al., 2012).

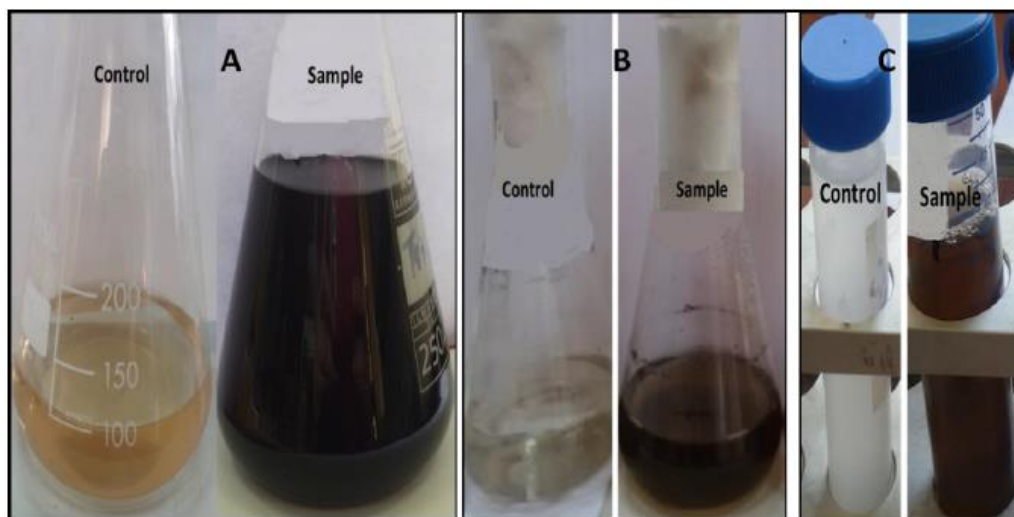
Ces pigments apparaissent habituellement dans différentes nuances de bleu, violet, rouge, rose, jaune, vert, brun et noir (**figure 13**) , qui peuvent être dissoutes dans le moyen ou il peut être retenu dans le mycélium. Les pigments produits par *Streptomyces* peuvent être soit des endopigments (liés à certaines structures cellulaires), soit des exopigments (excrétés dans le milieu environnant). Parfois, les antibiotiques différents produits par les Actinobactéries sont considérés comme des pigments. Comme la formation du pigment est influencée par le pH du milieu, l'aération, la température de la croissance et les sources de carbone et d'azote, on

connaît un peu de la nature chimique exacte des pigments. Sa formation est également liée aux mécanismes respiratoires, aux mécanismes de défense et à la protection aux ultraviolettes.

Ces microbes ont également la capacité à synthétiser et à excréter les pigments noirs, la mélanine ou le mélanoïde, qui sont considérés comme un critère utile pour les études taxonomiques. L'industrie textile produit et utilise environ 1,3 million de tonnes de colorants, pigments et précurseurs de colorants (Anandan., 2016).



**Figure N° 14:** Pigment diffusible produit par diverses Actinobactéries en milieu gélose amidon caséine (Anandan., 2016).



**Figure N° 15:** Production de pigments par *Streptomyces torulosus* en utilisant différents milieu de cultures : A; milieu à extrait de malt, B; milieu de glycerol asparagine, C; milieu à tyrosine, control; milieu non inoculé et échantillon; production d'un pigment (Kheiralla et al., 2016)

**Tableau N° 06 :** fournit une liste de pigments de différentes actinobactéries ( **Andnane., 2016**)

Pigment	Classe	Actinobactéries
Rhodomycline	Glycoside d'anthracycline	<i>Synodontis violaceus</i> DSM 40704
Actinomycine	Phénoxazinone	<i>Streptomyces</i> sp.
III Undécylprodigiosine IV Métacycloprodigiosine	Prodigiosin	<i>Streptomyces longispororuber</i> DSM 40599
Granaticin	Naphthoquinone	<i>Streptomyces litmocidine</i> DSM 40164

### II. 6.3. Role des actinobactéries dans le controle des maladies des plantes

Les efforts mondiaux dans la recherche de produits naturels pour le marché de la protection des cultures ont considérablement progressé et les actinobactéries, en particulier le genre *Streptomyces*, semblent être de bons candidats pour trouver de nouvelles approches pour lutter contre les maladies des plantes (Tanaka *et al.*, 1993 ; Behal *et al.*, 2000). L'agroindustrie montre un intérêt marqué pour les actinobactéries en tant que source de composés agroactifs de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) et d'outils de lutte biologique. Environ 60/100 des nouveaux insecticides et herbicides signalés au cours des 5 dernières années proviennent de *Streptomyces* (Tanaka *et al.*, 1993 ).

La kasugamycin est un métabolite bactéricide et fongicide produit par *Streptomyces kasugaensis* (Umezawa *et al.*, 1965), qui agit comme un inhibiteur de la biosynthèse des protéines pour un nombre important des microorganismes, mais pas chez les mammifères et ses propriétés toxicologiques sont excellentes.

Pour commercialiser la kasugamycine systémique active pour le controle de la pyriculariose du riz (*Puricularia oryzae*) et des maladies bactériennes de *Pseudomonas* dans plusieurs cultures. Les polyoxines B et D ont été isolées en tant que métabolites de *Streptomyces cacaoi* var. (Isono *et al.*, 1965)

La polyoxine B a été appliquée contre un certain nombre d'agents pathogènes fongiques qui touchent les fruits, les légumes et les plantes ornementales (tableau 07).

La polyoxine D est commercialisée par plusieurs sociétés pour lutter contre la brûlure de la gaine du riz causée par *Rhizoctonia solani*. La famille de validamycine a été détectée par des chercheurs de Takeda en 1968 dans un essai en serre lors du criblage d'extraits de streptomycètes pour une activité contre la brûlure de la gaine du riz. La validamycine s'est avérée être un promédicament, qui est converti dans la cellule fongique en validoxylamine A,

un inhibiteur extrêmement puissant de la tréhalase (**Kameda K et al., 1987**). Ce mode d'action confère à la validamycine A une sélectivité biologique favorable ne dépend pas de l'hydrolyse du tréhalose disaccharide pour leur métabolisme.

**Tableau N° 07:** Suppression des maladies des plantes par les antibiotiques produits par les actinobactéries (**Andnan, 2016**).

Maladie	Actinobactéries	Antibiotique produit
Gale commune de la pomme de terre	<i>Streptomyces melanosporofaciens</i> EF-76 et FP-54	Geldanamycine
Maladie des semis d'herbe	<i>Streptomyces violaceusniger</i> YCED9	Nigéricine et guanidylfungine A
Pourriture des racines du pois	<i>Streptomyces hygroscopicus</i> var . <i>geldanus</i>	Geldanamycine
Maladies des racines des asperges	<i>Streptomyces griseus</i>	Faeriefungin
Maladie de l'explosion du riz	<i>Streptomyces kasugaensis</i>	Kasugamycine
Large éventail de maladies des plantes	<i>Streptomyces griseochromogenes</i>	Blasticidin S
Brûlure de gaine de riz	<i>Streptomyces hygroscopicus</i> var. <i>limoneus</i> n ° T-7545	Validamycine
Rouille brune du blé	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Gopalamycine
Phytophthora brûlure du poivre	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	Tubercidine
Phytophthora brûlure du poivre	<i>Streptomyces humidus</i>	Acide phénylacétique
Amortissement du chou	<i>Streptomyces padanus</i>	Fungichromine
Brûlure de la gaine de riz	<i>Streptomyces cacaoi</i> var. <i>asoensis</i>	Polyoxine B et D
Oïdium	<i>Streptoverticillium rimofaciens</i>	Mildiomyicine
Maladie des racines du riz	<i>Micromonospora</i> sp . SF-1917	Dapiramicine
Explosion de riz	<i>Micromonospora</i> sp. M39	Acide 2,3-dihydroxybenzoïque, acide phénylacétique, cervinomycine A1 et A2
Tache de blé	<i>Streptomyces malaysiensis</i>	Malayamycine
Oïdium du concombre	<i>Streptomyces</i> sp. KNF2047	Néopeptine A et B

*Revue*

*expérimentale*

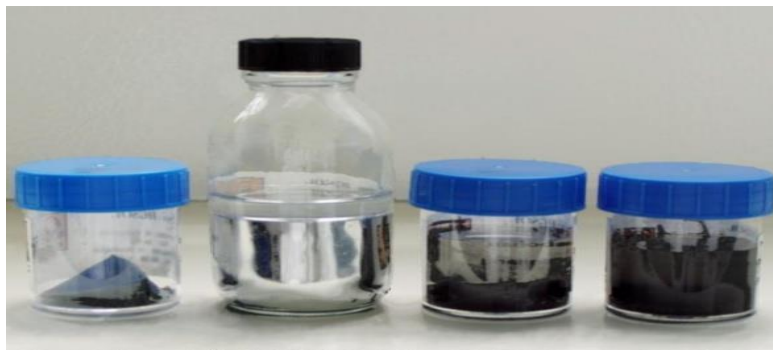
## Materiel et méthode

### I.L'isolement des actinobactéries a partir de sol rhizosphérique

#### 1. Echantillonnage

Echantillonnage de sol se doit de garantir que l'analyse de l'échantillon, ou du groupe d'échantillon, reflète le niveau de concentration des microorganismes dans le sol analysé.

Les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés. A l'aide d'une spatule stérile 100-150 g de sol sont recueillis dans un flacon stérile à partir de la couche sous-jacente (rhizoplan) 20 cm de profondeur et transporté au laboratoire (**Pochon et al., 1962**).



**Figure N° 16** : Photos représentent des échantillons de sol rhizosphérique (**Sarani et al., 2009**)

#### 1. Isolement des actinobactéries

##### 2.1. Prétraitement

Afin d'augmenter le nombre des actinobactéries isolés à partir du sol rhizosphérique, les échantillons de sol ont subi un prétraitement par un séchage à la température ambiante pendant une durée de 3 à 5 jours.

##### 2.2. Enrichissement des échantillons par le bicarbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ )

Cette méthode consiste à mélanger 10g d'échantillon de sol avec 1g de  $\text{CaCO}_3$ . Le mélange est incubé dans une étuve à 40°C pendant 7 à 9 jours dans une atmosphère saturée d'humidité. Ce prétraitement a pour avantage, la réduction de la flore fongique ainsi que l'augmentation du nombre d'actinobactéries (**Harir., 2018**).

##### 2.3. Les milieux de cultures

Les milieux de cultures utilisées pour l'isolement des actinobactéries sont :

- **Milieu GLM** (Gélose à l'extrait de malt) (annexe 1) (**Kitouni et al., 2005**).

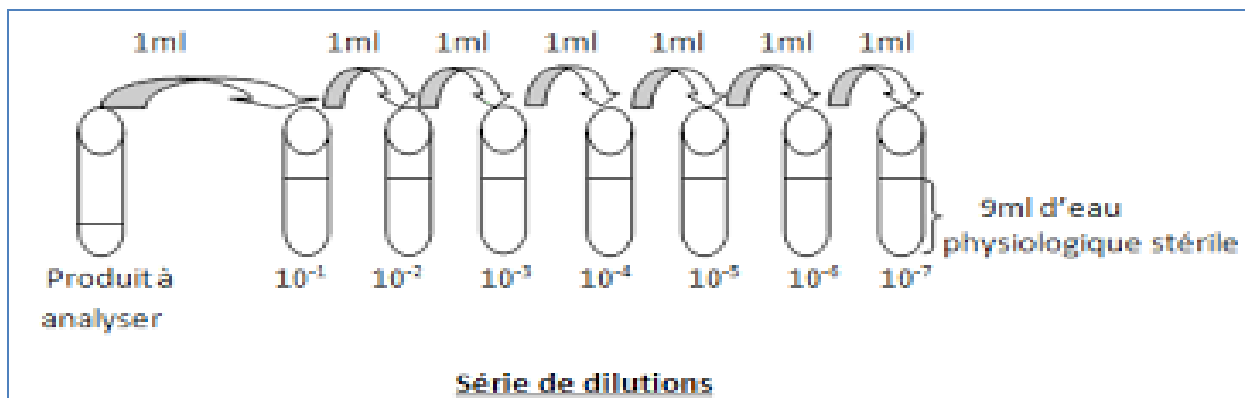
- **Milieu ISP2** (International *Streptomyces* Project) (annexe 1) (Ara *et al.*, 2012).

Après Autoclavage et refroidissement des milieux à une température d'environ 45°C, 5µg/ml d'actidione de ces deux composés (actidoine et rifampicine) permet d'une part de réduire la flore fongique et autre part de diminuer l'effectif bactérien (**Gram Négative**).

#### 2.4. Préparation de la suspension-dilution et ensemencement

La méthode d'isolement utilisée est celle des suspension-dilution (Rapilly., 1968) ensuite étalement sur le milieu approprié, coulé en boîte de pétri stériles. Les dilutions nécessite 1g d'échantillon de sol est dilué dans 9 ml d'eau physiologique stérile puis agités au vortex deux fois pendant 5 mn. Pour cette suspension des séries de dilutions décimales de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  sont effectuées (**figure 16**).

Une série de dilutions de à  $10^{-1}$ ,  $10^{-5}$  et ensuite préparée, après homogénéisation de la 100µl des deux dernières dilutions ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) sont étalées à la surface des milieux de culture et trois répétitions par dilution sont réalisées ou bien 1 ml est mis en masse avec le milieu ISP2 en surfusion. Les boîtes ainsi ensemencées sont ensuite mises à incuber dans une étuve à  $28\pm 2^\circ\text{C}$  pendant 7 - 21 jours (Rahman *et al.*, 2011).



**Figure N° 17** : Préparation de la solution mère et la série de dilution (Bars., 1972).

Dans le but d'isoler des actinobactéries, deux méthodes d'ensemencement peuvent être appliquées.

##### 2.4.1 Ensemencement en masse

Cette méthode consiste à déposer 01 ml de dilution  $10^{-4}$  ou bien  $10^{-5}$  dans une boîte de pétri, puis coulé environ 15ml de milieu ISP2 ou GLM en surfusion. Les boîtes sont agitées par mouvement circulaire lent afin d'homogénéiser le contenu des boîtes, ensuite incubées à 30°C pendant 7-21 jours.

#### **2.4.2. Ensemencement en surface**

Cette méthode consiste à déposer 0,1ml de dilution  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$  de chaque échantillon à la surface du milieu de ISP2 gélosé ou GLM, puis étalé à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Les boîtes sont incubées pendant 7 jours à 30°C.

#### **2.5. Reconnaissance des actinobactéries**

Lors de l'incubation, les boîtes de pétriensemencées sont périodiquement examinées à l'œil nu et au microscope optique (grossissement X10 et X40) afin d'observer la morphologie des colonies d'actinobactéries. Les observations permettent de reconnaître les isolats d'actinobactéries recherchés. Les caractéristiques morphologiques et culturales permettant la reconnaissance des actinobactéries sont soigneusement étudiées. Selon certains auteurs, ces colonies bactériennes sont incrustées dans les milieux de cultures, avec un aspect farineux corné au bord frangé au centre proéminent (**Girard et al., 1967**).

#### **2.6. Dénombrement et sélection des actinobactéries**

Les colonies bactériennes présentant les caractéristiques précédemment citées sont sélectionnées puis dénombrées (nombre des colonies par échantillon). Une moyenne des colonies est calculée pour chaque milieu de culture (**Meklat., 2012**).

#### **2.7. Purification et conservation des actinobactéries**

Les colonies sélectionnées sont prélevées délicatement à l'aide d'une anse stérile puis purifiées par stries sur milieu GLM ou ISP<sub>2</sub>.

Les isolats obtenus sont numérotés et sont ensuite ensemencés dans des tubes à essai contenant le même milieu de culture en position inclinée. Les tubes sont incubés pendant sept jours à 28°C puis conservés à 4°C (**Arifuzzaman et al., 2010**). Les isolats sont régulièrement repiqués sur milieu ISP2 chaque 02 mois.

### **2. L'activité antimicrobienne des actinobactéries**

#### **3.1. Préparations des inocula bactériens**

Pour chaque bactérie test, un inoculum est préparé à partir d'une culture de 24 h sur gélose nutritive (annexe 1) en déposant quelques colonies dans de l'eau physiologique stérile (annexe 2) de manière à obtenir une densité optique qui ne dépasse pas 0,05 à  $\lambda=625$  nm (**Mesbah et al., 2015**).

### 3.2. Technique des cylindres d'agar

Cette technique sert à mettre en évidence l'activité antimicrobienne par la présence ou non d'une zone d'inhibition, et à quantifier cette activité par la mesure de diamètre de cette zone (en mm). Elle consiste à ensemencer des souches bactériennes après standardisation des suspensions sur le milieu Mueller- Hinton (MH) (annexe 1) par étalement. Des cylindres de 8mm environ de diamètre sont coupés on utilisant une pointe de pipette puis placés sur des boites préalablement ensemencées par des bactéries tests. Les boites sont laissées à 4°C pendant 4 heures, pour permettre aux métabolites de diffuser sur le milieu puis incubées à 37°C pendant 24h (**Gungi et al., 1983**). Pour chaque bactérie test deux témoins positifs (bactérie + Oxytetracycline +Ampicilline) et négatifs (bactérie) ont été réalisés.

### 3. Activité antifongique des actinobactéries

La détermination de l'antagonisme des actinobactéries est effectuée *in vitro* sur milieu Potato Dextrose- Agar (PDA) (annexe1). sont testées pour leur capacité à inhiber la croissance des champignons phytopathogènes exemple : *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* fsp. *Albedinis*, *Alternaria alternata*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerae* et *Fusariumsolani*.

Un disque de gélose de 6mm de diamètre de la culture de chaque champignon est déposé sur la gélose PDA en boite de Pétri. 2µl de chaque culture bactérienne de 108UFC/ml sont ensemencés en spot à 3 cm de la souche fongique. Un témoin négatif de la souche fongique est testé en absence de bactéries. Les boites sont incubées à 25°C/4 jours. Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule décrite par (**Kumar et al. 2002**).

$$\% I = C - T / C$$

**C : Distance de croissance de champignon dans la boite contrôle.**

**T : Distance de croissance de champignons en présence de la souche bactérienne.**

### 4. Solubilisation des phosphates

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

### 5.1 Solubilisation des phosphates sur milieu solide

Un volume de 2µl de chaque culture bactérienne de 24h est déposé à la surface du milieu PVK puis incubé à 30°C/7jours. Le diamètre du halo autour de la colonie est ensuite mesuré par l'équation suivante :

**Diamètre total** = Diamètre de la colonie + Diamètre du halo

Donc : **Diamètre de l'halo** = Diamètre total - Diamètre de la colonie

### 5.2. Solubilisation des phosphates en milieu liquide

Le milieu PVK liquide estensemencé par 100µl de chaque culture bactérienne de 24h. L'incubation est effectuée à 30°C/4jours. Les cultures sont ensuite centrifugées à 3000 rpm/15 min. La quantité de phosphate soluble est mesurée par la méthode colorimétrique de Olsen (**Olsen et al., 1982**). Pour ceci à 1ml du surnageant sont ajoutés 10ml d'acide chloromolybdique (12mM) et 1ml de chlorure d'étain SnCl<sub>2</sub> (5 mM). Ce volume est ajusté à 50 ml avec de l'eau distillée. La présence d'une couleur bleue indique la production de phosphates solubles. La concentration du phosphate est déterminée par la mesure de la DO à 610 nm. Une courbe d'étalonnage standard est effectuée avec une solution de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Sigma).

### 5. Production d'Acide Indole Acétique (AIA)

La production de l'acide-β-indolacétique (AIA) par les isolats d'actinobactéries a été déterminée selon la méthode de (**Xue et al., 2013**). Des disques d'actinomycètes (6 mm), cultivés sur le milieu solide ISP2 et incubées (préalablement) à 28 °C pendant 7 jours, ont été inoculées dans 5 ml de bouillon ISP2 contenant 500 µg.ml<sup>-1</sup> de L-tryptophane et incubées à 28 °C sous agitation à 125 rpm pendant 7 jours. Les cultures ont été centrifugées à 11.000 rpm pendant 15 min. Un millilitre du surnageant a été mélangé avec 2 ml de réactif Salkowski (annexe 3) (1 ml de FeCl<sub>3</sub> (12 g.l<sup>-1</sup>) et 49 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 35%). L'apparition d'une couleur rose indique la production de l'AIA. La densité optique (DO) est lue à 530 nm en utilisant un spectrophotomètre. Le niveau de l'AIA produit a été estimé par comparaison avec une standard AIA (Sigma).

### 6. Production de sidérophores

La production de sidérophores est testée en milieu Chrome Azurol S (CAS) (annexe 1) sous ses formes solide et liquide (**Shwyn et al., 1987**).

### 7.1. Production de sidérophores sur milieu liquide

Le milieu King B (annexe 1) liquide, étant donné sa composition exempte de fer, est préconisé pour mettre en évidence la production de sidérophores. Le milieu estensemencé par 100 µl des cultures et incubé à 30°C / 3jours. Les cultures sont centrifugées à 5000 rpm /20min puis 500 µl du surnageant sont mélangés à 500 µl de la solution CAS incubé 30 min à l'obscurité. Les 55 couleurs virera du bleu à l'orange selon le taux de production des sidérophores. La DO est mesuré par spectrophotométrie à 630 nm. Le pourcentage des sidérophores est calculé selon la formule suivante (Gokarn., 2010) :

$$\text{St-Se/St} \times 100$$

**St: DO de la solution CAS de couleur bleue intense (témoin).**

**Se: DO de la solution de l'échantillon de couleur moins bleue à orange selon l'intensité de production.**

### 7.2. Production de sidérophores sur milieu solide

La production des sidérophores sur milieu solide est effectuée sur milieu King B solideensemencé par un spot de 2 µl de la culture bactérienne et incubé à 30°C/48h. Après croissance, 15 ml de la gélose au CAS à 45°C (solution CAS + 0.9% agarose) sont coulés sur la culture bactérienne. Après contact de quelques heures, un changement de couleur du bleu à l'orange apparait autour de la colonie productrice des sidérophores.

Le changement de couleur est dû au transfert des ions ferriques du CAS vers les sidérophores.

Le calcul du rapport:

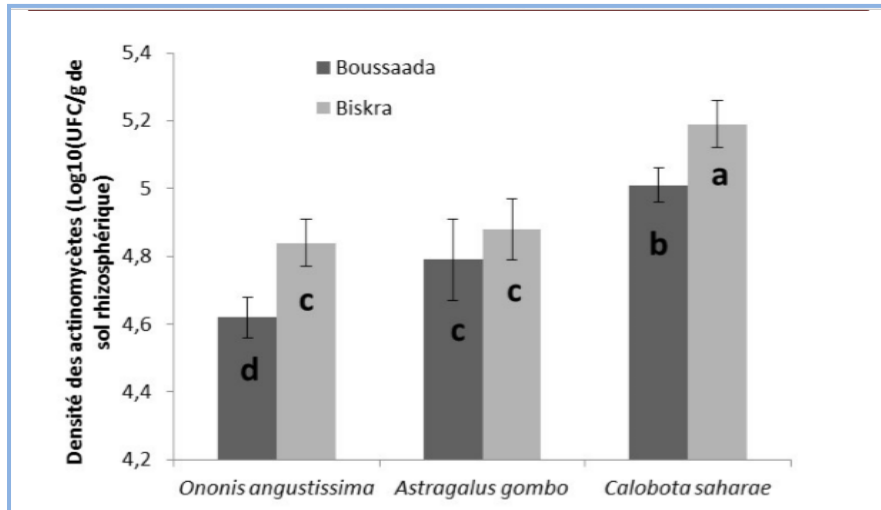
$$\frac{\text{diamètre du halo}}{\text{le diamètre de la colonie bactérienne}}$$

Permet de comparer les différences de production entre les souches bactériennes.

## Résultats et discussion

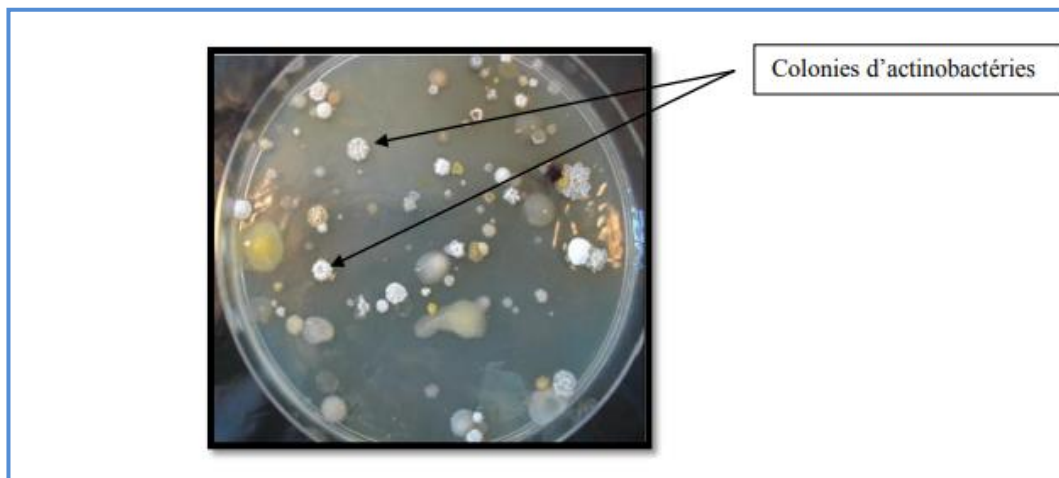
### I.L'isolement des actinobactéries à partir de sol rhizosphérique

La densité des actinobactéries enregistrée dans les rhizosphères par **Ghadbane (2014)** des trois Fabacées (*Ononis angustissima*, *Astragalus gombo* et *Calobota saharea*), qui poussent dans les deux régions (Boussaâda et de Biskra) en Algérie, est présentée par la (figure 16).



**Figure N° 18:** Densité des actinobactéries (Log10 UFC.g-1) de sol rhizosphérique d'*Ononis angustissima*, *Astragalus gombo* et *Calobota saharea* **Ghadbane (2014)**

L'analyse des résultats, montre que le nombre des actinobactéries cultivables est beaucoup plus important dans les sols rhizosphériques de *Calobota saharea* dans les deux régions étudiés (Boussaâda et Biskra) avec des valeurs hautement significatives par rapport aux autres Fabacées (**Figure 17**).

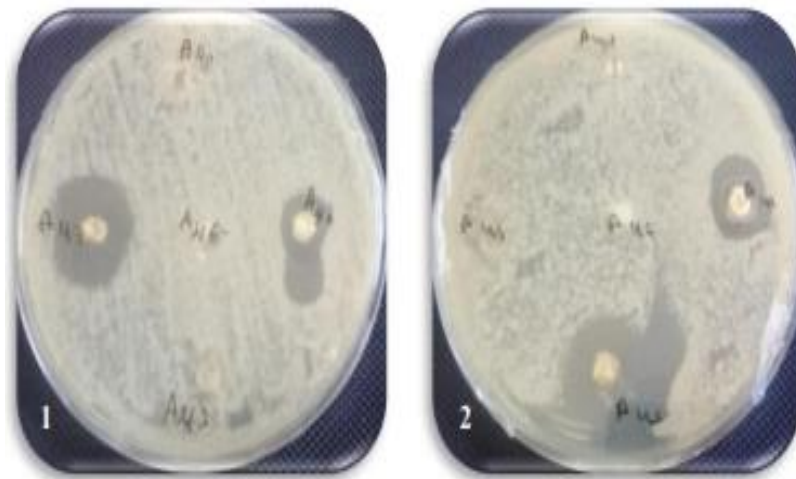


**Figure N° 19 :** Boîte de Pétri représentant un isolement d'actinobactéries a partir d'un échantillon de sol rhizosphérique (**Harire .,2018**).

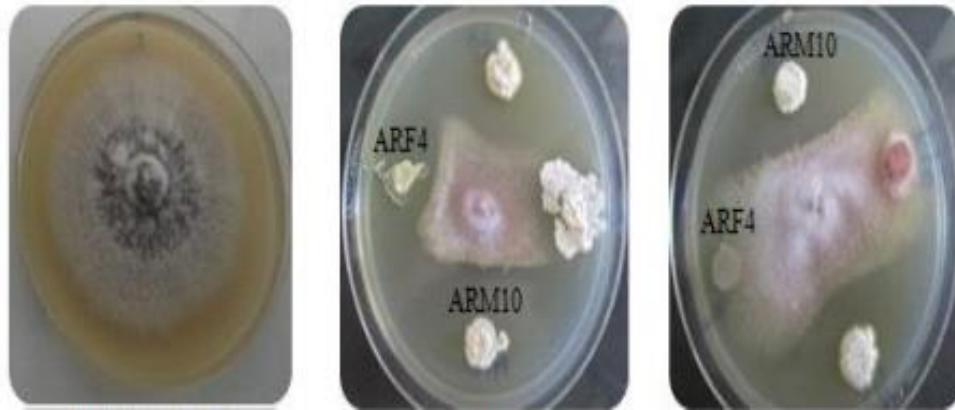
L'abondance des actinobactéries dans la rhizosphère est influencée par de nombreux facteurs, notamment l'espèce végétale, la nature du sol et les facteurs environnementaux (Marschner *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2009; Aira *et al.*, 2010; Inceoglu *et al.*, 2010; Dias *et al.*, 2012). En effet, les travaux de (Sabaou *et al.*, 1998), montrent que les sols des oasis du Sahara Algérien, bien que soumis à un climat aride, se sont relativement riches en actinobactéries, parfois rares et qui sont intéressantes pour la production des antibiotiques. Les travaux de (Gesheva *et al.*, 2005), indiquent aussi que la rhizosphère d'agrumes est riche en *Streptomyces* et présente une potentielle source de produits bioactifs.

## II. L'activité antibactérienne et antifongique des actinobactéries

Les actinobactéries sont caractérisés par un large spectre d'activité antimicrobienne et d'antifongique. Selon Bouziz (2018), 112 isolats ont été récupérés à partir du sol rhizosphérique de trois stations différentes : la palmeraie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, le Chott Ain El Beida et la Sebkhha de Bamendil de la région de Ouargla. Parmi 112 isolats d'actinobactéries, 37 sont sélectionnés pour leurs caractéristiques culturelles spécifiques notamment pour leur croissance rapide. Ces 37 isolats ont fait objet d'un criblage de l'activité antimicrobienne sur gélose contre 16 germes cibles. Sauf 24 isolats (65 %) présentent une activité antibactérienne et antifongique contre au moins un germe cible.



**Figure N° 20:** Boîte de Pétri représentant L'activité antibactérienne des actinobactéries de sol rhizosphérique (Ouazene *et al.*, 2019 ).

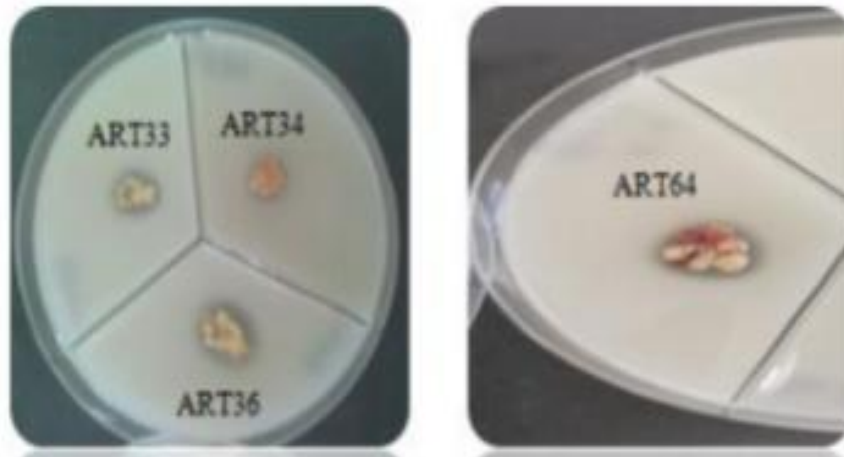


**Figure N° 21:** Boite de Pétri représentant l'activité antifongique des actinobactéries de sol rhizosphérique (**Kaioua et al., 2015** ).

D'après ces résultats obtenus par la littérature, on remarque que le pourcentage des isolats à activité antifongique (29,16 %) est nettement inférieur celui des isolats à activité antibactérienne (62,50%). (**Hacène et al., 1994**) montrent que 11,18 % de l'ensemble des actinobactéries isolées du Sahara algérien ont une activité antifongique. Les travaux de (**Hilali et al., 2002**) montrent également lors d'un criblage initial de 85 souches d'actinobactéries isolées du sol, 18 souches seulement ont présenté une activité antifongique contre *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum*.

### **I. Solubilisation des phosphates**

La capacité à solubiliser le phosphate inorganique varie d'une souche d'actinobactérie à l'autre **Kaioua et al (2015)** ont été isolés 276 d'actinobactéries à partir de sol rhizosphérique, seulement 18 souches d'actinobactéries ont un pouvoir solubilisateur qui apparaît par un halo clair autour des colonies après la croissance et absent chez tout le reste des isolats.



**Figure N° 22** : Photographies de la solubilisation du phosphate (halo) par quelques souches de d'actinobactéries. Référence (**Kaioua et al., 2015**)

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par d'autres auteurs. En citant par exemple (**Hamdali et al., 2008**) qui ont montré que parmi les 300 actinobactéries étudiées 55 souches (soit 18%) solubilisent le phosphate. De même, (**Babana., 2003**) a rapporté que les actinobactéries solubilisatrices du phosphate isolées à partir de quatre échantillons de sol au Mali représentent de 7,52 à 30,26% des bactéries totales.

Selon la littérature, la solubilisation microbienne du phosphate minéral peut être soit par l'excrétion d'acides organiques entraînant une acidification du milieu externe (**Whitelaw., 2000**) soit par des phosphatases qui convertissent les formes insolubles de phosphates en ions de phosphates solubles monobasique ( $H_2PO_4^-$ ) et dibasique ( $HPO_4^{2-}$ ).

## II. Production d'Acide Indole Acétique (AIA)

Une étude qui a été faite par **Ghadbane (2014)** sur deux régions rhizosphériques arides et semi-arides d'Algérie, à savoir: la station de Boussaâda à M'sila, zone semi-aride à aride (Nord-Est Algérien); la station de Biskra, zone aride (Sud Algérien). Dans la quelle quatre souches d'actinobactéries produisent de l'acide- $\beta$ -indolacétique (AIA), le développement d'une couleur rose en présence de tryptophane a été observé dans le surnageant chez les chaque cultures.

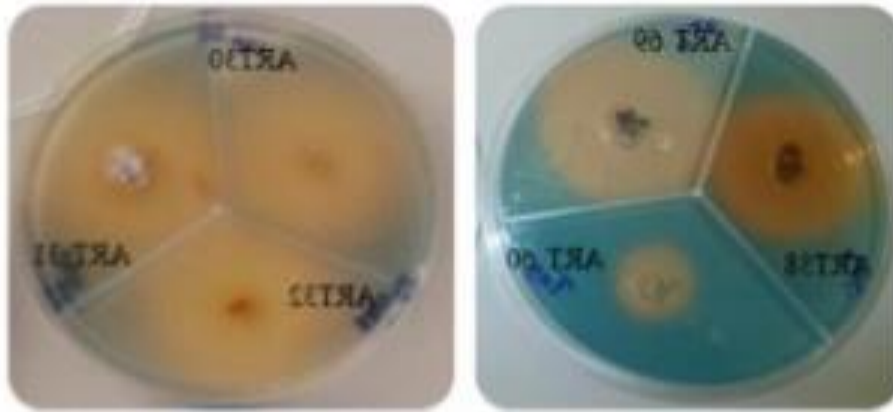
De nombreux auteurs ont montré que les rhizobactéries étaient capables de synthétiser de l'AIA lorsqu'ils sont cultivés sur un milieu contenant du tryptophane (**Park et al., 2013**). De meme (**Xue et al., 2013**) ont démontré que les souches de *Streptomyces*

*cyaneofuscatus* ZY-153, *S. kanamyceticu* B-49, *S. rochei* X-4 et *S. flavotricini* Z-13 produisent de l'acide- $\beta$ -indolacétique.

La production de AIA par les actinobactéries dans la rhizosphère, augmente le taux de germination, stimule l'élongation des racines, et promouvoir la croissance de la plante (Khamna *et al.*, 2010 ; Xue *et al.*, 2013).

### III. Production de sidérophore

La production des sidérophores est mise en évidence par l'apparition d'un halo rouge/orangé autour de chaque colonie bactérienne. Sur les 276 isolats analysés par Kaioua *et al* (2015), 12 souches d'actinobactéries présentent un halo indiquant la production des sidérophores donc pour ces souches, le diamètre des halos formés, ont été mesurés, ainsi que les diamètres des colonies afin d'établir les rapports CAS.



**Figure N° 23:** photographies de la production des sidérophores (halo rouge/orangé) par quelques souches d'actinobactéries (Kaioua *et al.*, 2015)

Le rapport CAS d'actinobactéries varient de 2,0 à 6,0 mm. En effet, la meilleure production a été détectée pour deux souches avec un rapport CAS égal à 6. 276 souches d'actinobactéries isolés à partir de la rhizosphère de tomate, ont été examinés pour la production de sidérophores. Les résultats indiquent que 31.32% des souches actinobactéries produisent des sidérophores. Alors que d'autres études comme celle de (Pérez *et al.*, 2007) ont démontré que parmi 48 souches d'actinobactéries isolés à partir de différents sites (sols alcalins..), 36 souches produisent des sidérophores ce qui correspond à 75%

*Conclusion*

*Et*

*Perspectives*

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le sol est considéré comme le milieu le plus important pour les micro-organismes, en particulier les actinobactéries. Dans ce travail, nous avons mené une étude détaillée et complète sur l'isolement des actinobactéries à partir de la rhizosphère et l'exploitation de leurs activités promotrices de croissance des plantes en mettant les points sur:

**L'activité antibactérienne et antifongique** : selon les travaux réalisés par plusieurs chercheurs, nous concluons que les actinobactéries ont un rôle efficace dans la production d'agents antimicrobiens.

**Solubilisations des phosphates** : Selon la littérature, la solubilisation du phosphate varie selon la souche d'actinobactérie. Plusieurs études ont montré la capacité des souches d'actinobactéries à solubiliser le phosphate tandis que d'autres sont dépourvu cette propriété.

**Production d'Acide Indole Acétique (AIA)** : Après l'une des études, il a été observé le développement d'une couleur rose en présence de tryptophane dans le surnageant chez les chaque cultures et ces résultats ont été confirmés par plusieurs autres études. La production d'AIA a un rôle efficace pour stimuler l'allongement des plantes et favoriser la croissance des plantes.

**Production de sidérophores** : l'apparition d'un halo rouge/orangé autour de chaque colonie d'actinobactéries révèle la capacité de la souche d'actinobactéries à produire les sidérophores, qui sont déterminée après avoir mesuré le diamètre des halo formées par la production de sidérophores et connue sous le nom de rapport CAS, ce rapport varie de 2 à 6.

De ce qui précède, nous concluons que les actinobactéries rhizosphérique joue un rôle important dans la croissance et l'allongement des plantes et principalement la protection contre les organismes phytopathogènes.

Les perspectives qui découlent travail sont nombreuses et multiples:

- Élucider les mécanismes par lesquelles les PGPR stimule la croissance et protège les plantes.

*Referance*

*Bibliographiqu*

## *Bibliographie*

### **A**

- **Adegboye, MF., Babalola, OO.**(2012). *Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. African Journal of Agricultural Research.* April 7(15), 2255-2261. DOI: 10.5897/AJARX11.071 .ISSN 1991-637X
- **Ahmed E., Holmström S.J.M.** (2014). 'Siderophores in environmental research: roles and applications', *Microb. Biotech.*, 7: 196–208,
- **Aira, M., Gómez-Brandón, M., Lazcano, C., Bååth, E., Domínguez, J.** (2010) .'Plant genotype strongly modifies the structure and growth of maize rhizosphere microbial communities', *Soil Biol. Biochem.*, 42: 2276–2281.
- **Anandan, R., Dharumadurai, D., Manogaran, G.P.** (2016). 'An Introduction to Actinobacteria In : Dhanasekaran D., Jiang Y.(eds) *Actinobacteria: Basics and biotechnological Applications*'. Intech , Rijeka, Pp.3.37.
- **Aouar, L.** (2012). 'Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes '. *Thèse Présentée pour l'obtention Du Diplôme de Doctorat en Sciences : Sc . En Biochimie et Microbiologie Appliquées. Université Mentouri-Constantine .*
- **Ara I., Bukhari NA., Wijayanti D.R. and Bakir M .A.** (2012).' *Proteolytic activity of alkaliphilie, salttolerant actinomycetes from varions in Saudi Arbia.**African Journal of biotechnology*', 11(16), 3849-3857.
- **Arcand, M. M., et Schneider, K.D .** (2006). 'Plant and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate roch: a review. *Ann. Acad. Bras. Cienc*'. 78: 791-807.
- **Arifuzzaman M., Khatun M.R. Rahman H.** (2010). 'Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activeity'. *African Journal of Biotechnology*, 9(29), 4615-4619.

### **B**

- **Babana , AH.** (2003). 'Mise au point d'un inoculant biologique pour le blé irrigué du Mali'. *Published PhD thesis. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation de l'Université Laval Québec.*

- **Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M.(2006).** *The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms.* *Ann. Rev. Plant Biol.*, **57**, 233-266.
- **Bare, J. (1972).** 'Obtention d'une série définie de dilutions à partir d'une suspension de germes fongiques'.
- **Behal, V. (2000).** ' *Bioactive products from Streptomyces.* *Adv Appl Microbiol*'. **47**:113-156.
- **Bell-Perkins, L. J., Lynch J.M.(2002).** 'Rhizosphere microbiology; p. 2713-2728' In G. Bitton (ed.), *Encyclopedia of environmental microbiology*, A Wiley-Inter science Publication', Canada, p. 2713-2728' In G.
- **Benson, D.R., Silvester, W.B. (1993).** ' *Biology of frankia strains, actinomycete symbiots of actinorhizal plants*'. *Microbiol Rev.* **57**(2):293.
- **Bentaleb, B., Ghamez, S.(2015).** *Etude et sélection des actinomycètes filamenteux promoteur de croissance de plante, in vitro.*
- **BIDI, A., Ouamekh, M. (2015).** 'Criblage de souches d'actinomycètes solubilisant le phosphate, Identification moléculaire de deux souches du genre *Streptomyces*' *Mémoire Master*, Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Biotechnol Yilmaz E. I., Yavuz M. et Kizil, M. (2008).** "Molecular characterization of rhizospheric soil Streptomyces isolated from indigenous plants and their antimicrobial activity". *World J. Microbiol.* **24**: 1461-1470.
- **Bouaziz, S. (2018).** 'Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives'. *Th.Doc.Sc : Biologie. Université Kasdi Merbah- Ouargla.*
- **Boudemagh, A. (2007).** *Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives.* *Th.doct. : d'état en Microbiologie Appliquée. Constantine : Université Mentouri Constantine, 144p.*
- **Braghta, H., Merabet, H.(2014).** *Etude de la capacité de quelques isolats rhizosphériques à produire des molécules bioactives contre le phytopathogène Fusarium Oxysporum.* *Mémoire de master : Sc. de Biologie moléculaire des procaryotes. Guelma : Université 08 Mai 1945, 52p*
- **Burg, R.W., Miller B.M., Baker, E.E., Birnbaum, J., Currie, S.A., Hartman, R., Kong, Y.L., Monaghan, R.L., Olson, G., Putter, I., Tunac, J.B., Wallick, H., Stapley, E.O.A.,**

*Oiwa, R., Omura, S. (1979). 'Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. Antimicrob Agents Chemother'. 15(3):361-7*

## C

- *Cook, R.J., Thomashow, D.M., Weller, D., Fujimoto, M., Mazzola, G. Banger et D.S. Kim. (1995). 'Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease'. Proc. Natl. Acad. Sc, USA, 92: 4197-4201.*

## D

- *Dancer, S.J. (2004). 'How antibiotics can make us sick:the less obvious adverse effects of Antimicrobial chemotherapy'. Lancet Infect Dis.4(10):611-619*
- *David, H., Mc Near, J. R.(2013). 'The rhizosphere - roots Soil and everything in between. Nature education knowledge '.*
- *De Carne, C.Ch.(2010). 'Agriculture biologique, une approche scientifique'. Edition : France agricole. Productions végétales et grandes cultures, 434 p. ISBN : 978-2-85557211-6.*
- *Dias, A.C.F., Hoogwout, E.F., Silva ,M.C.P., Salles, J.F., Overbee, L.S., van Elsas, J.D. (2012). 'Potato cultivar type affects the structure of ammonia oxidizer communities in field soil under potato beyond the rhizosphere', Soil Biol. Biochem., 50: 85–95.*
- *Djabalah, CH. (2010). 'Biodiversité des Actinomycètes halophiles et halotolérants isoles de la sebkha 'Mémoire de Magister , Université Mentouri Constantine,102p.*

## E

- *Ensing, J. C., Normand, P., Burden ,J.P., & Yallop, C.A.(1993). Physiology of some actinomycetes genera. Research in Microbiology, 144(8), 657-600.*

## F

- *Fjaervik, E., Zotchev, S.B. (2005). ' Biosynthesis of the polyene macrolide antibiotic nystatin in Streptomyces noursei. Appl Microbiol Biotechnol'. 67(4):436-43*
- *Floris, J. G., Van der, M. (2004). 'La diffusion du sport dans l'océan Indien par les prisonniers sud-africains (1899-1945) , in Sport et loisirs dans les colonies, sous la direction d'Évelyne Combeau-Mar'i, Le Publieur, octobre 2004 – (ISBN 978-2-35061-000-9).*

## G

- **Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G. (2004).** 'Taxonomic outline of the prokaryotes. *Bergey's manual of systematic bacteriology*'. Springer, New York, Berlin ; Heidelberg (Eds). Vol 4 ,p401
- **Gesheva, V., Ivanova, V., Gesheva, R. (2005).** 'Effects of nutrients on the production of AK-111-81 macrolide antibiotic by *Streptomyces hygroscopicus*. *Microbiol. Res.*, 160: 243–248.
- **Ghadbane, M. (2014).** 'Microflore rhizosphérique de quelques Fabacées (légumineuses) endémiques dans les régions de Boussaâda et de Biskra (Algérie)'. Th.Doc :Sc. Biologie végétale. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- **Girard, H., Rougieux, R. (1967).** 'Technique de microbiologie agricole'. Ed. Paris, France, 216p.
- **Gokarn, Y.R., Bych, S.R., Hultgen, H., Stevenson, R.J., Matsumura, M. (2010).** 'Characterization of antibody aggregation: role of buried, unpaired cysteines in particle formation'. *Journal of Pharmaceutical sciences*, 99(2), 764-781.
- **Goodfellow, M., Kampfer, P., BUSSE, h.j., Trujillon, M.E., Suzuki, K., Ludwig, W., Withman, W.B. (2012).** 'Bergey Manual of Systematic Bacteriology, The Actinobacteria (2ème Eds) vol. V, parts A and B, New York, Dordrecht, Heidelberg', London. p.2083.
- **Grondin, J. (2004).** Effet de phytohormone sur les réactions de défense de l'érable à sucre (*Acer saccharum* Marsh) suite à l'entaille et à d'autres types de blessure mécanique [en ligne]. Th.doct. : Sciences forestières. Laval : Université Laval, 118 p. (Consulté le 02/11/2014).
- **Gungi, S., Kamae, T., Hirayama, M., Miyazaki, S., Nagato, T., Nakao, A., Tanaka, M. (1993).** 'Well-type phoswich counter for low-flux X-ray/gamma-ray detection'. *IEEE transactions on nuclear science*, 40(2), 204-207.

## H

- **Hacene, H., Sabaou, N., Bounaga, N., Lefevre, G. (1994).** 'Screening for non-polyenic antifungal produced by rare Actinomycetales'. *Microbios.* 79:81-5.
- **Hagedorn, C. (1976).** 'influences of soil acidity on *Streptomyces* population inhabiting forest soils'. *Appl Environ Microbiol.* 32(3):368-375.

- **Hamdali, H., Bouizgarne, B., Hafidi, M., Lebrihi, A. Virolle, MJ., Ouhdouch, Y.(2008).** 'Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines'. *Appl. Soil Ecol.* 38: 12-19.
- **Harir, M. (2018).** 'Caractérisation des molécules bioactives produites des souches d'actinobactéries isolées des sols arides et semi arides d'Algérie'. *Mémoire de magister. : en biotechnologie. Oran : Université d'Oran, p 78-200.*
- **Harir, M. (2010).** 'Effets antagonistes entre les souches d'Actinomycètes et *Verticillium dahlia kleb* agent de la veticillose de l'olivier'. *Mémoire de magister. : en biotechnologie. Oran : Université d'Oran, 200 ,78 p .*
- **Hassan, A.A., El-Barawy, A.M., El Mokhtar, M.N.(2011).** 'Evaluation of biological compounds of *Streptomyces* species for control of control of some fungal diseases'. *J Am Sci.* 7(4):752-760.
- **Hayakawa, M. (2008).** 'Studies on the Isolation and Distribution of Rare Actinomycetes in Soil. *Actinomycetologica*', 22 (1): 12-19.
- **Hayakawa, T., Hanba, Y. T., Shibasaka, M., Hayashi, Y., Kasamo, K., Terashima, I., Katsuhara, M. (2004).** 'Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2; 1 increases internal CO<sub>2</sub> conductance and CO<sub>2</sub> assimilation in the leaves of transgenic rice plants. *Plant and Cell Physiology*', 45(5), 521-529.
- **Hilali, H., Khattabi, A., Nssarlah, N., Maliki, A., et Finance, C. (2002).** 'Isolement de nouvelles souche d'actinomycètes productrices de substances antifongiques à partir du milieu naturel marocain'. *Reviews in Biology and Biotechnology* ,2(1), 49-53.
- **Hiltne, L.** *Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Boden bakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache*, *Arb. Dtsch .Landwirt. Ges;*p: 98: 59-78',1904.
- **Hinsinger,P.,Gobran,G.R.,Gregory,P.J., Wenzel,W.W.(2005).** *Rhizospher geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. New Phytologist*,168(2),293-303.
- **Hirsch, A.M., Bauer, W.D., Bird, D.M., Cullimore, J., Tyler, B. Yoder, J.I.(2003).** 'Molecular signals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms' *Ecol*, 84: 858-868.
- **Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley J.T., Williams, S.T. (1994).** 'Bergey's manual of determinative bacteriology (9<sup>th</sup> ed), Willams and Wilkins, Baltimore'.

- **Hoorman, J. J. et R. Islam ,(2010).** ' *Understing soil microbes and nutrient recycling. FACT SHEET. Agriculture and Natural Resources* ', *The Ohio State University*, pp.1-5.

## I

- **Inceoglu, Ö., Salles ,J.F., van Overbeek, L., van Elsas, J.D. (2010).** ' *Effects of plant genotype and growth stage on the betaproteobacterial communities associated with different potato cultivars in two fields* ', *Appl. and Environ. Microbiol.*, 11: 3675– 3684.
- **Isono, K., Nagatsu, J., Kawashima, Y. (1965).** ' *Studies on polyoxins, antifungal antibiotics; Part I. isolation and characterization of polyoxins A and B* '. *Agric Biol Chem.*29(9):848-854.

## J

- **Jensen, ., Dweght, R.Y., Fenical, W. (1991).**' *Distribution of actinomycetess in near-shore trop-Ical marine sediments* '. *Appl Environ Microbiol.* 57(4) :1102-1108.
- **Jensen, PR., Mincer, TJ., Williams, PG., Fenical, W. (2005).** ' *Marine actinomycete diversity and natural product discovery* '. *A Van Leeuw.* 87(1):43-48.
- **Jiang, C., Xu, L. (1993).**' *Actinomycete diversicity in unusual habitats* ' .4(2):47-57.
- **Jones, D.L., Darrah, P.R. (1995).**' *Influx and efflux of organic acids across the soil-root interface of Zea mays L. and its implications in rhizosphere C flow* ', *Plant Soil*, **173**, 103-109.

## K

- **Kaioua, A., Grairi, I. (2015).** ' *Solubilisation du phosphate, production de sidérophores et activité antifongique de souches d'actinomycètes et du genre Pseudomonas isolées des sols rhizosphériques. Identification de souches représentatives* '. *mémoire de master en Sciences : Sc. Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Micro-organismes. Université des Frères Mentouri Constantine.*
- **Kameda, K., Takaku, T., Okuda, H., Kimura, Y., Okuda, T., Hatano, T., Agata, I., Arichi S.(1987).**' *Inhibitiry effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin- converting enzyme activity* '. *J Nat prod.* 50(4):680-683.
- **Kerbab, S.(2012).** *Les actinomycètes d'un sol salé: rôle des osmoprotecteurs naturels. Mémoire de magister. : Sc. biologiques .Sétif : Université Ferhat Abbas Sétif, 133 p.*
- **Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J.F., Lumyong, S. (2010)** .'*Indole-3-acetic acid production by Streptomyces sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils* ', *Eur. Asia. J. BioSci.*, 4: 23–32

- **Khan, MR., Williams, ST. (1945).** ‘ *Studies on the ecology of actinomycetes in soil-VIII Distribution and characteristics of acidophilic actinomycetes*’. *Soil boil biochem.* 7(6):345-348.
- **Kheiralla, Z.H., Darwesh, O.M., Hewedy, M. (2016).** ‘ *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciencs.* “Isolation of pigment producing actinomycetes from rhizosphere soil application it in textiles dyeing’. Cairo, Egypt, No 2135.
- **Kieser, T., Bibb, M. J., Buttner, M. J., Chater, K. F., et Hopwood, D. A., Kirst, H.A. (2010).** ‘*The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research*’. *J Antibiot (Tokyo).* 63(3):101-11.0 *Practical Streptomyces Genetics. The John Innes Foundation, Norwich, UK : 613.*
- **Kirst, H.A.. (2010).**’ *The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research*’. *J Antibiot (Tokyo).* 63(3):101-11.
- **Kitouni, M., Boudemagh, A., Oulmi, L., Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Hamdiken, H., Couble, A., Mouniee, D., A, Boiron. P (2005).** ‘*Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from watre, soil and bark samples of the north east of Algeria. Journal of Medical Mycology*’, 15(1),45-51.
- **Kochian, L., Piñeros, M., Hoekenga, O. (2005).** ‘*The physiology, genetics and molecular biology of plan*’.
- **Kumar, A., Harrison, P.M., Cheung, K.H., Lan, N., Echols, N., Bertone, P., Miller, P., Gerstein, M.p., Snyder, M. (2002).** ‘*An Integrated approach for finding overlooked genes in yeast*’. *Nat Biotechnol* 20(1): 58-63.
- **Kumar, V., S. S. Punia, K. Lakshminarayana et N. Narula. (1999).** ’ *Effect of phosphate solubilising analogue resistant mutants of Azotobacter chrocuccum on sorghum Ind.*’ *J. Acric. Sci.* 69: 198-200.
- **Kurtboke, DL. (2012).** ‘*Biodiscovery from rare actinomycetes: an eco-taxonomical perspecTive*’. *Appl Microbiol Biotechnol.* 93(5):1843-1852.

## L

- **Lacey, J. (1973).** *Actinomycetes in soils, composts and fodders. The Society for Applied Bacteriology Symposium Series No. 7., 2, 231-51.*
- **Laskaris, P., Tolba, S., Calv-Bado, L., Wellington, L. (2010).** ‘*Coevolution of antibiotic production and counter- resistance in soil bacteria*’. *Environ Microbiol.* 12(3):83-796.

- **Latha, S., Dhanasekaran, D. (2013).** 'Antibacterial and extracellular enzyme activities of *Gullus gallus damesticus* and *Caprahircus*'. *Journal of chemical and Pharmaceutical Research.*, 5(11), 379-385.
- **Latha, S.M., Wasekar, N.P., Ramakrishna, M., Rao, D. S., Sundararajan, G. (2016).** 'Pulsed electrodeposition and mechanical properties of Ni-W/SiC nano-composite coatings'. *Material & Design*, 122, 140-150
- **Lemanceau, P., Offre, P., Mougel, C., Gamalero, E., Dessaux, Y., Moenne-Loccoz, Y. Berta, G. (2006).** ' Microbial ecology of the rhizosphere. In: *Microbiological methods for assessing soil quality*. Bloem, J., Hopkins, D.W. et Benedetti, A. (eds). CABI publishing, Massachusetts', Cambridge, MA, Etats-Unis, pp. 228-230.
- **Lemou, k. (2019).** *Actinomycoses Pulmonaires: Particularites daignostiques et therapeutiques.*
- **Loucif, K. (2011).**' Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes'.
- **Lynch, J.M. (1990).** '( *The Rhizosphere*. Lynch JM, (ed.) John Wiley & Sons Ltd', Chichester.

## M

- **Madigan, M. T., et Martinko, J.M. (2007).**' *Biologie des microorganismes*'. Pearson Education France, 11e édition : 331-423, 686-718.
- **Maldonado, LA., Stach, JE., pathom-aree, W., Ward, AC., Bull, AT., Goodfellow, M. (2005).**' Diversity of cultivable Actinobacterie in geographically widespread marine sediments'. *A Van leeuwenhoek*. 87(1):8-11
- **Marschner, P., Timonen , S. (2005).**'Interactions between plant species and mycorrhizal colonization on the bacterial community composition in the rhizosphere', *Appl. Soil Ecology*, 28: 23–36.
- **Mazodier, J. (1994).** *Sociétés industrielles et déchets*. *Sciences et Vie*. 106, 109-115.
- **Mba, C. C. (1997).** 'Rock phosphate solubilizing *Streptosporangium* isolates from casts of tropical earthworms', *Soil. Biol. Biochem*, 29: 381-385.
- **Medouakh, L., Bensoltane, A.(2010).** Acquisition of iron and production of siderophores in *Helicobacter pylori* (b). *Sciences & Technologie*. Juin 46-51, C- N°31.
- **Meklat, A. (2012).** 'Taxonomie et potential antagoniste des actinomycetes halophiles des sols sahariens et mise en evidence de nouvelle espèces d'actinopolyspora'. *Thèse de Doctorat en*

*sciences biologie, spécialité: Microbiologie, Ecol Normale Supérieure de Kouba, Alger, Pp.40-48.*

- **Menteuuis, O. (2016).** *Micropropagation and production of forest Scienc (NIFoS).* Seoul, Korea. 32-55Pp.
- **Meyer, S., Reeb, C., Bosdeveix, R.(2008).** *Botanique : biologie et physiologie végétales. 2em Edition Maloine, Paris.633p*
- **Meyer, S., Reeb, C., Bosdeveix, R.(2008).** *Botanique : biologie et physiologie végétales. 2 em Edition Maloine, Paris. 633p.*

## **O**

- **Olsen, S.R., L.E. Sommers. (1982).** 'Phosphorus. pp: 403-430. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbial Properties.* Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), second ed. American Society of Agronomy', Madison, Wisconsin.
- **Ouazene,F. Ouazene,N. (2019).** 'Etude de l'activité antibactérienne de quelques isolats d'actinomycètes isolés du sol'.Mémoire de Master :Sc. Microbiologie Appliquée, Université Djilali Bounaama Khemis Miliana.

## **P**

- **Park, K., Park, J.W., Lee, S.W., Balaraju, K., (2013).'** *Disease suppression and growth promotion in cucumbers induced by integrating PGPR agent Bacillus subtilis strain B4 and chemical elicitor ASM', Crop Protec., 54: 199–205.*
- **Pérez-Miranda, S., Cabirol, N., George-Téllez, R., Zamudio-Rivera, L.S., Fernández, F.J. O-CAS. (2007).'** *A fast and universal method for siderophore'. detection; Journal of Microbiological Methods. 70(1); 127-131*
- **Pikovskay, R. (1948).** *Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya. 17:362–70*
- **Pikovskaya, R.I. (1948).** 'Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species'. *Mikrobiologiya,17,362-370.*
- **Pochon, J., Tardieux, P. (1962).** 'Technique d'analyse en microbiologie du sol. Edition de la tourtourelle', Saint-Mandé.

## R

- **Rahman, M.A., Islam, M.Z., Islam, M.A. (2011).** 'Actinobacterial activities of Actinomycetes Isolates Collected From Soils of Rajshahi', Bangladesh. *Biotechnology Research International*, 2011: 1-6.
- **Ramesh, S., Mathivanan, N. (2009).**' Screening of marine actinomycetes isolated from the bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes'. *World J Microbiol biotechnol.* 25(12);2103-2111.
- **Rapilly, F. (1968).**' Les techniques de mycologie en pathologie végétale'.
- **Riedlinger, J., Reiche, A., Zahner, H.A., Krismer, B., Bull, A.T., Maldonado, L.A., Ward, A.C., Goodfellow, M., Bister, B., Bischoff, D., Sussmuth, R.D. (2004).** 'Abyssomuth, Inhibitors of the para-aminobenzoic acid produced by the marine verrucosisspora strain' AB-18-032. *J Antibiot.* 57(4):279.
- **Rudresh, D. I., Shanmugam, V. et Pras. (2005).** ' Tricalcium phosphate solubilising abilities of *Trichoderma* sp. in relation to P uptake and growth and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.)' *Can. J. Microbiol.* 51: 217-222.

## S

- **Sabaou, N., Boudjella, H., Bennadji, A., Mostefaoui, A., Lamari, H., Lefebvre, G., Gemain, P. (1998).**' Les sols du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques'. *Sécheresse*, 9, 147-153.
- **Schatz, A., Bugie, E., Waksman, S.A., Hanssen, A.D., Patel R., Osmon, D.R. (2005).**' The classic: streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria'. *Clin Orthop Relat Res.* 437:3-6.
- **Schwyn, B., Neilands, J.B. (1987).**' Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores'. *Analytical biochemistry*, 160(1), 47-56.
- **Serani, A., & Cansell, F. (2009).**' Caractérisation des déchets. Le traitement des déchets', 1.
- **Song, J., Weon, H.Y., Yoon, S.H., Parrk, D.S., Gos, G., Suh, J.W. (2001).** Phylogenetic diversity of thermophilic actinomycetes and Thermoactinomycetes isolated from mushroom composts in Korea based on 16S RNA gene sequence analysis. *FEMS Microbiology Letters*, 202,97-102.

- **Stackebrandt, E., Rainey, F.A., Ward-Rainey, N.L.(1997).** ' A proposal For a new hierarchic classification system ' , *Actinobacteria classis nov.International Journal of Systemtic Bacteriology* ,47,479-491.
- **Stolp, H. (1988).** ' *Microbial ecology: organisms, habitats, activities* ' New York, USA: Cambridge University Press.

## T

- **Tan, H., Deng, Z., Cao, L. (2009).** ' Isolation and characterization of actinomycetes from healthy goat fraeces. *Lett Appl Microbio* ' .49 (2):248-253.
- **Tanaka, Y., Omura, S. (1993).** ' *Agroactive compounds of microbial origin. Annu Rev Microbiol* ' . 1993; 47(1):57-87.
- **Thajuddin, N., Muralitharan, G., Dhanasekaran, D., Muhammad Ilyas, M.H. (2015).** ' *Microbial Symbionts of plant biology and biotechnology* ' (Bahadur et al., Eds). DOI 10.1007/978-81-2286-6\_11. Springer, India.
- **Thierry,B.,Yves,H.,Aimé,N.,Alain,R. (2007-2017).** *Comprendre et maitriser les Biotechnologies au sud,Les ateliers de sudBiotech, université de paris*
- **Tokiniaina. (2010).** ' *Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des Actinomycètes telluriques cas de la forêt d'ankafobe* ' [en ligne] , Université d'Antananarivo, 96p, (Consulté le 02/01/2015).

## U

- **Umezawa, H., Okami, Y., Hashimoto, T., Suhara, Y., Hamada, M., Takeuchi, T.(1993).** ' A new antibiotic ' , *kasugsmycin. J antibiotic*.18:101-103
- **Uren, N.C.(2001).** *Types, 'amounts and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. In: Pinton R., Varanini Z. & Nannipieri P., eds. The rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface* ,New York, USA: Marcel Dekker, 19-40.

## V

- **Valencia, L. G. H.(2008).** ' *Etudes des bases moléculaires de l'agrégation des sols par des exopoly saccarides bactériens p :1,196:22-23* ' , Université Joseph Fourier Grenoble .

- *Van der Meij, A., Worsley, S.F., Hutchings, M.I., Van Wezel, G.P. (2017) . chemical ecology of antibiotic production by actinomycet-FEMS microbiology reviews ; 41(3),392-416.*

## W

- *Waldron, C., Matsushima, P., Rosteck, P.R. Jr., Broughton, M.C., Turner, J., Madduri, K., Crawford, K.P., Merlo, D.J., Baltz, R.H. (2001). ' Cloning and analysis of the spinosad biosynthetic gene cluster of *Saccharopolyspora spinosa* '. *Chem Biol.* 8(5):487-99.*
- *Whitelaw, M.A. (2000). 'Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi'. *Adv. Agron.* 69, 99–144.*

## X

- *Xu, L.H., Li, Q.R., Jiang, C.L (1996). Diversity of soil actinomycetes in Yunnan. China Applied in Environmental and Microbiology ,(62).244-248*
- *Xu, Y., Wang, G., Jin, J., Liu, J., Zhang, Q., Liu, X. (2009). ' Bacterial communities in soybean rhizosphere in response to soil type, soybean genotype, and their growth stage', *Soil Biol. Biochem.*, 41: 919–925.*
- *Xue, L., Xue, Q., Chen, Q., Lin, C., Shen, G., Zhao, J. (2013). ' Isolation and evaluation of rhizosphere actinomycetes with potential application for biocontrol of *Verticillium* wilt of cotton', *Crop Protection*, 43: 231–240.*

## Z

- *Zermane, F. (2007) .'Etude des caractéristiques culturales des actinomycètes impliquées dans la biodégradation de la cellulose ,des substances pectiques et des composés organiques de synthèse ;p.33-38*

*Annexes*

**Annexe 1 : Composition des milieux de cultures utilisés****Milieu GLM (gélose à l'extrait de levure et de Malt)**

Extrait de Malt .....	3g
Peptone .....	5g
Glucose .....	10g
Agar .....	15g
Eau distillée .....	100ml
PH = 7,2	

**ISP2 (International *Streptomyces* Project)**

Extrait de malt .....	10g
Extrait de levure.....	04g
Glucose.....	04g
Agar.....	20g
Eau distillé.....	1000ml
pH= 7.2	

**Gélose nutritive**

Extrait de viande.....	01g
Extrait de levure.....	02g
Peptone.....	05g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar.....	15g
pH= 7.2	

**Milieu de pikovskaya (PVK)**

Glucose .....	10g
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .....	5g
KCl.....	0,2g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	0,1g
Nacl .....	0,2g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	0,5g
FeSo <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	0,02g
MnSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O.....	0,002g
Extrait de levure.....	0,5g
Agar.....	20g
pH = 7	

**Milieu CAS (Chrome Azurol S)**

CAS.....	60,5g
HDTMA.....	.5g
PIPES .....	5g
1mM FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O in 10mM HCl ...	10 ml
Agarose .....	9g
pH=7,5	

**Milieu KB ( King B)**

Proteose peptone.....	20 g
Glycerol.....	15 ml
K <sub>2</sub> HP04 .....	1.5g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.....	1.5 g
Agar.....	15 g
pH=7,2	

**Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)**

Glucose.....	20g
Pommes de terre .....	200g
Agar.....	20g
pH= 7	

**Muller Hilton**

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

**Annexe 2: Les solutions**

**Eau physiologique**

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

**Annexe 3**

**Le réactif de Salkowski**

Solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  (8,11g /100 ml)..... 10 ml  
L'acide perchlorique ..... 250 ml  
L'eau distillé .....350 g