

Popular Democratic Republic of Algeria  
Ministry of High Education and Scientific  
Research  
Abbes Laghrour University- Khenchela-  
Natural and life sciences Faculty  
Molecular and Cellular Biology Department

N° de série: .....



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE MASTER ACADEMIQUE

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

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Biochimie Appliquée**

*Présenté par :*

***Ouannassa OUANNES***

***Hassna ACHOUR***

### Thème

Production et séparation des molécules bioactives  
produites par des isolats d'actinobactéries isolés du  
sol de la wilaya de Tébessa

*Mémoire soutenu publiquement le 17/06/2025* Devant le jury composé de :

**Mme Ryma MERABTI**

MCA, Univ. Abbès Laghrour- Khenchela-, Présidente

**Mme Nassima LEULMI**

MCA, Univ. Abbès Laghrour- Khenchela-, Encadrante

**Mme Alima MASSAI**

MCA, Univ. Abbès Laghrour- Khenchela-, Examinatrice

**Année Universitaire 2024/2025**

# *Remerciements*

*Louange à Allah, qui nous a accordé la réussite et l'aide nécessaires pour mener à bien ce travail, et qui nous a donné la patience et la détermination pour surmonter les difficultés et poursuivre nos recherches.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à Mme LEULMI Nassima, encadrante de ce travail, pour son accompagnement constant, ses orientations précieuses, sa patience et son expertise scientifique, qui ont été pour nous un véritable guide tout au long des différentes étapes de cette mémoire. Ses encouragements et sa confiance ont joué un rôle essentiel dans le développement et l'enrichissement de ce projet.*

*Nous adressons également nos remerciements les plus sincères aux membres du jury : Mme MERABTI Ryma et Mme MASSAI Alima, pour avoir accepté d'évaluer et de discuter ce travail.*

*Nous tenons à saluer les efforts du personnel administratif de la faculté, pour leur coopération et la simplification des démarches, ce qui nous a permis d'avancer sereinement dans notre parcours académique.*

*Nos remerciements s'adressent aussi aux ingénieurs et techniciens des laboratoires, pour leur assistance technique précieuse et leur savoir-faire pratique, qui ont grandement contribué au bon déroulement des expérimentations.*

*Nous exprimons également notre gratitude à l'ensemble de nos enseignants tout au long de notre cursus universitaire, pour le savoir et les conseils qu'ils nous ont transmis.*

*Enfin, nous remercions chaleureusement tous ceux qui nous ont soutenus de près ou de loin — amis et membres de la famille — dont le soutien moral et les encouragements constants ont été d'un grand réconfort et d'une aide précieuse pour l'achèvement de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail, fruit de mois d'efforts, de nuits blanches et d'espérance,  
À ceux qui ont été la lumière de mon chemin, le refuge dans les moments de doute,  
Et la source inépuisable d'amour et de prières. À mes chers parents,  
À ceux qui m'ont donné la vie, l'amour, le soutien et qui ont été pour moi un exemple,  
Qu'Allah vous récompense pour tout ce que vous avez sacrifié pour moi.  
Votre patience et votre foi m'ont portée jusqu'ici.*

*À ma sœur Ikram et à mes frères Khaled et Lakhder chers à mon cœur, vous êtes mon pilier et  
ma fierté. Merci d'avoir toujours cru en moi.*

*À ma cousine Hiba et ma cousine Aicha, merci pour votre présence réconfortante à chaque  
étape. Merci du fond du cœur à vous deux.*

*À mes chères amies Fattoum, Romaiassa, Siham, Sana et Sonia, merci pour votre affection, vos  
encouragements, votre patience, et pour tous ces moments de joie partagés. Votre amitié a été une  
bénédiction dans ce parcours.*

*À mes collègues de spécialité en microbiologie, Marwa et Ikram, merci pour votre esprit de  
collaboration, et pour les échanges scientifiques enrichissants tout au long de notre chemin  
commun.*

*Et enfin, à toute ma famille, source de chaleur, d'inspiration et de prières sincères,  
Je vous dédie ce travail avec tout mon amour et ma reconnaissance.*

*Quannassa*

# *Dédicace*

*Avant toute chose, je rends grâce Allah, notre Créateur, pour m'avoir accordé la force, la volonté et le courage d'accomplir ce travail modeste.*

*Ce travail, que j'ai pu mener à bien, je le dédie avec tout mon cœur :*

*À mes chers parents, Aucun mot ne saurait exprimer l'immensité de mon amour et de ma gratitude envers vous. Votre tendresse et votre soutien m'ont accompagné tout au long de ce parcours.*

*Je prie Allah de vous accorder santé, bonheur et longue vie afin que je puisse réaliser vos rêves.*

*À mes frères et sœurs bien-aimés : Habiba, Mohamed*

*À mes amies les plus chères : Fattoum, Marwa, Sana et Sonia*

*À toutes les personnes que je connais, sans exception*

*À tous mes enseignants, sans exception*

*Et enfin, je remercie sincèrement toutes les personnes qui m'ont soutenu(e) de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail.*

*Hassna*

## Table des matières

Liste des Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

INTRODUCTION..... 01

### ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre I : Les actinobactéries

1. Historique .....	03
2. Les caractéristiques des actinobactéries .....	04
2.1. Caractéristiques morphologiques des actinobactéries.....	06
2.2. Caractéristiques chimiques des actinobactéries .....	08
2.3. Caractéristiques physiques des actinobactéries .....	09
3. Classification des Actinobactéries .....	09
4. Cycle de vie des Actinobactéries .....	11
5. les Environnements des Actinobactéries .....	13
5.1. Environnement Terrestre .....	14
5.2. Environnement Marin.....	16
5.3. Environnement Végétal .....	17
5.6. Environnements Extrêmes .....	19
6. Les Applications des actinobactéries.....	21
6.1. Dans Agriculture .....	21
6.2. Dans la bioremédiation.....	22
6.3. Applications médicales.....	22

#### Chapitre II : les molécules bioactives produites par les actinobactéries

Introduction.....	23
1. Les antibiotiques.....	26

1.1. Définition .....	26
1.2. Les principes classes des antibiotiques.....	28
2. Les antifongiques.....	28
3. Les pigments.....	30
4. Les stratégies d'amélioration de la production de molécules bioactives à partir d'actinobactéries.....	34

## **ETUDE EXPERIMENTALE**

### **I. Matériel et méthodes**

1. Matériel biologique.....	40
1.1. Isolats d'actinobactéries.....	40
1.2. Souches Test.....	41
2. Méthodes.....	42
2.1. Activité antibactérienne des isolats d'actinobactéries évaluer par la technique de cylindre d'agar.....	42
2.2. Activité antifongique des isolats d'actinobactéries .....	42
2.3. Extraction des molécules bioactives produites par les isolats d'actinobactéries.....	42
2.4. L'activité antimicrobienne des extraits.....	44
2.5. Séparation des molécules bioactives des deux extraits sélectionnés provenant des isolats (AB7 et AB8) .....	44
2.6. Regroupement des fractions présumées identiques.....	46
2.7. Activité antibactérienne et antifongiques des fractions obtenues.....	46
2.8. La bioautographie des fractions actives.....	46

### **II. Résultats et discussion**

1. Activité antibactérienne des isolats d'actinobactéries.....	47
2. Activité antifongique des isolats actinobactériennes.....	48

3. Activités antimicrobienne des extraits des isolats étudiés.....	48
3.1. Activités antibactériennes des extraits des isolats d'actinobactéries.....	48
3.2. Activités antifongiques des extraits provenant des isolats d'actinobactéries.....	50
4. Séparation des molécules bioactives des deux extraits sélectionnés pour les isolats (AB7 et AB8) .....	51
5. Regroupement des fractions présumées identiques.....	53
6. Activité antibactérienne et antifongiques des fractions obtenues.....	58
7. les résultats de la bioautographie des fraction actives.....	61
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>64</b>
<b>REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>66</b>
<b>ANNEXES</b>	

## Liste des abréviations

**AB** : Actinobactéries.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique..

**ARNr** : ARN ribosomique.

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**BGC** : Biosynthétique Gene Cluster (Cluster de gènes de biosynthèse).

**C** : Température (°C).

**CC** : Chromatographie sur colonne.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**dCas9** : Variante inactive de l'enzyme Cas9 (utilisée dans les technologies d'édition génomique).

**DSL** : Eaux profondes (Deep Sea Layer)

**EPA** : Acide eicosapentaénoïque.

**F** : Fraction.

**G+C** : Teneur en bases Guanine + Cytosine.

**I** : Inhibition.

**LC-MS** : Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse.

**MALDI-TOF** : Spectrométrie de masse par désorption/ionisation laser assistée par matrice - temps de vol.

**MeOH**: Méthanol.

**MH**: Mueller-Hinton.

**Mm** : Millimètre.

**NCIMB**: National Collection of Industrial Food and Marine Bacteria.

**NCTC**: National Collection of Type Cultures.

**Nm** : Nanomètre.

**PDA** : Potato Dextrose Agar.

**PH** : Potentiel Hydrogène.

**Q.S.** : Quorum Sensing (détection de densité cellulaire).

**RAM** : Résistance aux antimicrobiens

**RF** : Rapport frontal.

**SEM** : Microscopie électronique à balayage (Scanning Electron Microscopy).

**SF** : Sous-fraction.

**Sp.** : Espèce (Species).

**SSW** : Eaux de surface (Surface Sea Water).

**T** : Témoin.

**UV** : Ultra-Violet.

**YMEA**: Yeast Malt Extract Agar.

## Liste des figures

<b>Figure1</b> : Le mycélium aérien de <i>Streptomyces sp</i> .....	07
<b>Figure2</b> : Les différents types de spore surface de <i>Streptomyces Sp.</i> .....	07
<b>Figure 3</b> : Image de microscopie électronique à balayage (SEM) montrant le mycélium aérien et la formation de spores chez les actinobactéries ; a, b : morphologie des colonies, c, d : images SEM montrant la croissance filamenteuse, e : image SEM focalisée sur les spores .....	07
<b>Figure 4</b> : Relation phylogénétique entre les différents ordres du phylum Actinobactérie basée sur les séquences du gène 16S ARNr .....	10
<b>Figure 5</b> : Arbre phylogénétique des Actinobactéries basé sur l'analyse du gène 16S ARNr, illustrant la classification en six classes principales et la subdivision de l'ordre Frankiales en quatre ordres distincts .....	11
<b>Figure 6</b> : Cycle de vie des actinobactéries.....	12
<b>Figure7</b> : Représentation des différents environnements colonisés par les actinobactéries, incluant les sols, les sédiments marins, les eaux douces, les plantes et les insectes .....	13
<b>Figure8</b> : Répartition géographique des sites les plus étudiés pour l'isolement des actinobactéries en Algérie :1 : Alger, 2 : Tizi Ouzou, 3 : Béjaïa, 4 : Jijel, 5 : Annaba, 6 : El Tarf, 7 : Constantine, 8 : Djelfa, 9 : Biskra, 10 : Khenchela, 11 : Laghouat, 12 : El Oued, 13 : Ouargla, 14 : Ghardaïa, 15 : Béchar, 16 : Adrar, 17 : Tamanrasset. ....	14
<b>Figure9</b> : Méthode d'isolement des actinobactérie à partir du sol .....	16
<b>Figure 10</b> : Les actinobactéries endophytes et leurs applications .....	18
<b>Figure 11</b> : Rôle bénéfiques des Actinobactéries en agriculture .....	21
<b>Figure 12</b> : Processus global d'identification des souches potentielles, dérégulation et d'isolement des composés bioactifs à l'aide de trois approches connues .....	25
<b>Figure13</b> : Production des métabolites secondaires pigmentés par des colonies de <i>Streptomyces</i> .....	34
<b>Figure14</b> : Les stratégies d'amélioration de la production des molécules bioactives à partir d'actinobactéries .....	36
<b>Figur15</b> : Les quatres isolats d'actinobactéries étudiés dans ce travail. ....	40
<b>Figure 16</b> : Les bactéries testent utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne.....	41
<b>Figure 17</b> : Souche d' <i>Aspergillus niger</i> phytopathogène utilisée pour évaluation l'activité antifongique.....	41

<b>Figure 18</b> : Les étapes de l'extraction des molécules bioactives : a ; la souche Actinobactérie après l'incubation, b ; la gélose est fragmentée, c ; La macération, d ; Filtration, e ; concentrés par l'évaporateur rotatif.....	43
<b>Figure19</b> : La chromatographie sur colonne ; A : Séparation l'extrait de AB7, B : Séparation l'extrait de AB8.....	45
<b>Figure 20</b> : Activité antifongique des isolats contre <i>Aspergillus Niger</i> dans le milieu PDA.....	49
<b>Figure21</b> : Les zones d'inhibition pour chaque extrait : a ; contre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65 38, b ; contre <i>Bacillus subtilis</i> ATTC 66 33.....	50
<b>Figure22</b> : Activités antifongiques ( <i>Aspergillus Niger</i> ) des extraits provenant des isolats étudiés dans ce travail .....	50
<b>Figure 23</b> : CCM des extraits AB7 et AB8 dans la lampe UV.....	51
<b>Figure 24</b> : Les fractions provenant de l'extrait AB7 séparées par la Chromatographie sur colonne .....	52
<b>Figure 25</b> : Les fractions provenant de l'extrait AB8 séparées par la Chromatographie sur colonne.....	53
<b>Figure 26</b> : Plaques CCM des fractions de l'isolat AB7 observées sous UV à 254 nm	56
<b>Figure 27</b> : Plaques CCM des fractions de l'isolat AB7 observées sous UV 365nm.....	57
<b>Figure 28</b> : Plaques CCM des fractions de l'isolat AB8 observées sous UV à 254 nm...	57
<b>Figure 29</b> : Plaques CCM des fractions de l'isolat AB8 observées sous UV à 365nm...	58
<b>Figure 30</b> : Activité antibactérienne des fractions AB7 contre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65 38, et <i>Bacillus subtilis</i> ATTC 66 33 .....	60
<b>Figure 31</b> : Activité antibactérienne des fractions AB8 contre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65 38, et <i>Bacillus subtilis</i> ATTC 66 33 .....	61
<b>Figure 32</b> : Activité antibactérienne contre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 65 38, des sous-fraction de AB7 et AB8.....	63

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Caractéristiques générales des actinobactéries .....	04
<b>Tableau 2</b> : Liste des nouveaux membres actinobactéries isolés du sol .....	15
<b>Tableau 3</b> : Liste des nouveaux membres actinobactéries isolés du milieu marin .....	17
<b>Tableau 4</b> : La bioactivité des souches d'actinobactéries isolées du désert d'Atacama .....	20
<b>Tableau 5</b> : Approches d'extraction de composés bioactifs à partir d'actinobactéries rares .....	24
<b>Tableau 6</b> : Les producteurs importants et classification chimique des antibiotiques isolés d'actinobactéries.....	26
<b>Tableau 7</b> : Exemples de métabolites antifongiques identifiés chez les Actinobactéries 2016-2023 .....	29
<b>Tableau 8</b> : Espèces d' <i>actinomycètes</i> et les pigments qu'elles produisent, accompagnés de leurs bioactivités et applications potentielles. ....	31
<b>Tableau 9</b> : Actinobactéries rares cultivées .....	38
<b>Tableau 10</b> : Activité antibactérienne des isolats d'actinobactéries.....	47
<b>Tableau 11</b> : Activité antifongique des isolats d'actinobactéries.....	48
<b>Tableau 12</b> : Activités antibactérienne des extraits des isolats d'actinobactéries.....	49
<b>Tableau 13</b> : Résultats de la chromatographie sur couche mince des fractions de l'extrait l'isolat AB7.....	54
<b>Tableau 14</b> : Résultats de la chromatographie sur couche mince des fractions de l'extrait l'isolat AB8.....	55
<b>Tableau 15</b> : Activité antimicrobienne des fractions AB7 obtenues .....	59
<b>Tableau 16</b> : Activité antimicrobienne des fractions AB7 obtenues par chromatographie sur colonne .....	59

**Tableau 17** : Activité antimicrobienne Contre *Staphylococcus aureus* des sous-  
fractions ..... 62

# **RESUMES**

## Résumé

Les actinobactéries sont un groupe de bactéries filamenteuses à Gram-positives, reconnues pour leur capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires présentant une activité biologique significative. Dans cette étude, nous avons évalué l'activité biologique de quatre isolats d'actinobactéries provenant du sol de la wilaya de Tébessa, en mettant un accent particulier sur l'extraction et la séparation de leurs métabolites par chromatographie sur colonne, dans le but d'identifier les sous-fractions actives.

Les résultats des tests préliminaires, obtenus par la technique du cylindre, ont révélé une activité antibactérienne variable selon les isolats. En effet, les isolats AB3, AB7 et AB8 ont montré une activité significative contre *Bacillus subtilis* ATCC 66 33 tandis que l'isolat AB10 a révélé une activité contre *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38. En revanche, aucune activité n'a été observée contre *Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 86 26 et *Escherichia coli* NCTC 10538. Par ailleurs, l'activité antifongique a été observée uniquement pour les isolats AB3 et AB10, tandis qu'elle était absente chez AB7 et AB8.

Les métabolites secondaires ont ensuite été extraits puis concentrés. L'activité biologique des extraits a été évaluée par la méthode de diffusion en disque. Les résultats ont confirmé que les extraits conservaient une activité inhibitrice notable contre *B. subtilis* ATCC 66 33 et *S. aureus* ATCC 65 38, sans aucun effet contre *P. aeruginosa* NCIMB 86 26 et *E. coli* NCTC 10538. L'activité antifongique s'est maintenue uniquement chez AB3 et AB10.

La séparation des molécules actives par chromatographie sur colonne a été limitée aux extraits AB7 et AB8. L'activité biologique des fractions a été testée contre *B. subtilis* ATCC 66 33 et *S. aureus* ATCC 65 38, révélant une activité marquée pour certaines d'entre elles. Enfin, une bioautographie a été réalisée afin de localiser précisément les sous-fractions actives et d'identifier les molécules responsables de l'effet biologique.

Ces résultats mettent en évidence le fort potentiel des isolats d'actinobactéries étudiés comme source de composés bioactifs, soulignant l'importance de leur valorisation au futur pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens.

**Mots-clés :** Actinobactéries, métabolites secondaires, activité antibactérienne, activité antifongique, chromatographie sur colonne, bioautographie.

### **Abstract**

Actinobacteria are a group of Gram-positive filamentous bacteria, known for their ability to produce a wide range of secondary metabolites with significant biological activity. In this study, we evaluated the biological activity of four actinobacterial isolates from the soil of Tébessa province, with a particular focus on the extraction and separation of their metabolites using column chromatography, aiming to identify the active sub- fractions.

Preliminary results using the cylinder technique, specifically for antibacterial activity, revealed variable activity among the isolates: AB3, AB7, and AB8 showed significant activity against *Bacillus subtilis* ATCC 6633, while isolate AB10 exhibited activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Conversely, no activity was observed against *Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 8626 and *Escherichia coli* NCTC 10538. Furthermore, antifungal activity was limited to isolates AB3 and AB10, while it was absent in AB7 and AB8.

The secondary metabolites were then extracted and concentrated. The biological activity of the extracts was evaluated using the disk diffusion method. The results confirmed that the extracts retained significant inhibitory activity against *B. subtilis* ATCC 6633 and *S. aureus* ATCC 6538, with no effect against *P. aeruginosa* NCIMB 8626 and *E. coli* NCTC 10538. Antifungal activity was maintained only for AB3 and AB10.

The separation of active compounds using column chromatography was limited to extracts of AB7 and AB8. The biological activity of the fractions was tested against *B. subtilis* ATCC 6633 and *S. aureus* ATCC 6538, revealing marked activity in some fractions. Finally, bioautography was performed to precisely locate the active sub-fractions and identify the molecules responsible for the biological effect.

These results highlight the strong potential of the studied strains as a source of bioactive compounds, underlining the importance of their valorization in future research for the development of new antimicrobial agents.

**Keywords:** Actinobacteria, secondary metabolites, antibacterial activity, antifungal activity, column chromatography, bioautography.

## المخلص

تعد الأكتينوبكتيريا مجموعة من البكتيريا الخيطية موجبة الغرام، معروفة بقدرتها على إنتاج مجموعة واسعة من المستقلبات الثانوية ذات النشاط البيولوجي المهم. في هذه الدراسة، قمنا بتقييم النشاط البيولوجي لأربع عزلات الأكتينوبكتيريا من تربة ولاية تبسة، مع التركيز بشكل خاص على استخلاص وفصل مستخلصاتها بواسطة تقنية الكروماتوغرافيا على العمود، بهدف تحديد الكسور الفرعية النشطة.

كشفت نتائج الاختبارات الأولية باستخدام تقنية الأسطوانة عن نشاط مضاد للبكتيريا متباين بين العزلات: حيث أظهرت العزلات AB3، AB7 و AB8 نشاطاً ملحوظاً ضد *Bacillus subtilis* ATCC 6633، في حين أظهرت العزلة AB10 نشاطاً ضد *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 من جهة أخرى، لم يُلاحظ أي نشاط ضد *Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 8626 و *Escherichia coli* NCTC 10538 علاوة على ذلك، اقتصر النشاط المضاد للفطريات، فقد اقتصر على العزلتين AB3 و AB10، بينما غاب لدى AB7 و AB8.

تم بعد ذلك استخلاص المستقلبات الثانوية وتركيزها. وقد تم تقييم النشاط البيولوجي للمستخلصات باستخدام تقنية الانتشار على الأقراص. وأكدت النتائج أن المستخلصات احتفظت بنشاط تثبيطي ملحوظ ضد *B. subtilis* ATCC 6633 و *S. aureus* ATCC 6538، دون أي تأثير على *P. aeruginosa* NCIMB 8626 و *E. coli* NCTC 10538 واستمر النشاط المضاد للفطريات فقط لدى AB3 و AB10.

اقتصر فصل الجزيئات النشطة بواسطة كروماتوغرافيا العمود على المستخلصات الأكثر نشاطاً AB7 و AB8 وتم اختبار النشاط البيولوجي للكسور ضد *B. subtilis* ATCC 6633 و *S. aureus* ATCC 6538، حيث أظهرت بعض الكسور نشاطاً ملحوظاً. وأخيراً، أُجريت تجربة بيوأوتوغرافيا لتحديد موقع الكسور النشطة بدقة والتعرف على الجزيئات المسؤولة عن التأثير البيولوجي.

تُبرز هذه النتائج الإمكانيات الكبيرة للعزلات المدروسة كمصدر لمركبات نشطة بيولوجياً، مما يساهم في أهمية تثمينها في الأبحاث المستقبلية لتطوير عوامل مضادة للميكروبات جديدة.

**الكلمات المفتاحية:** أكتينوبكتيريا، المستقلبات الثانوية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، كروماتوغرافيا العمود، بيوأوتوغرافيا،

# **INTRODUCTION**

### Introduction

Au cours des dernières décennies, la résistance aux antimicrobiens (RAM) est devenue une menace croissante pour la santé publique à l'échelle mondiale. Il est estimé qu'elle a été directement responsable d'environ 1,27 million de décès en 2019, et a contribué à près de 4,95 millions de décès supplémentaires (WHO, 2023). Ces chiffres alarmants soulignent l'urgence de découvrir de nouveaux antibiotiques efficaces, capables de lutter contre les souches résistantes.

Dans ce contexte, les sources microbiennes naturelles se sont imposées comme un réservoir riche en composés bioactifs, représentant certains des métabolites les plus prometteurs pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques. Parmi les micro-organismes les plus importants, les actinobactéries occupent une place de choix en raison de leur capacité exceptionnelle à produire une large gamme de métabolites secondaires à activité biologique (Djinni *et al.*, 2019)

Les actinobactéries sont des bactéries filamenteuses à Gram positif, caractérisées par un génome linéaire riche en G et C. Elles sont largement répandues dans divers environnements naturels et font preuve d'une grande capacité d'adaptation à des conditions écologiques variées (Olano & Rodríguez, 2024). Ces micro-organismes jouent un rôle clé dans le cycle de la matière organique et constituent l'un des groupes bactériens les plus exploités dans les applications biotechnologiques (Selim *et al.*, 2021).

Les actinobactéries ont été isolées à partir d'une large gamme de milieux, allant des sols classiques aux environnements extrêmes ou peu explorés, tels que les sols salins, les déserts, les mangroves, les grottes, les sédiments marins, les eaux douces et les sources thermales. Cette diversité écologique reflète leur aptitude remarquable à s'adapter, ainsi que leur riche potentiel de production de composés bioactifs (Koech *et al.*, 2025). Face à la diminution du taux de découverte de nouveaux composés issus des souches terrestres classiques, ces milieux alternatifs représentent une opportunité prometteuse pour l'identification de nouvelles souches productrices de molécules d'intérêt pharmaceutique et industriel (Selim *et al.*, 2021).

Les actinobactéries se distinguent également par leur capacité exceptionnelle à produire une large gamme de métabolites secondaires bioactifs. Environ 50 % des composés bioactifs connus incluant les antibiotiques, anticancéreux, antiparasitaires, antifongiques, anti-inflammatoires, antioxydants et enzymes industrielles sont issus de ce groupe bactérien (Selim

*et al.*, 2021). Le genre *Streptomyces* est le plus productif, représentant à lui seul près de 80 % des antibiotiques naturels actuellement utilisés en médecine (Olano & Rodríguez, 2024).

Grâce à leur diversité métabolique et à leur richesse chimique, ces micro-organismes jouent un rôle crucial dans la recherche de nouvelles molécules à activité biologique. Toutefois, le taux de découverte de nouveaux composés issus des souches terrestres classiques a diminué ces dernières années, en raison de la redondance des molécules isolées. Cette situation a orienté les efforts de recherche vers l'exploration d'habitats extrêmes ou sous-exploités, à la recherche de nouvelles souches capables de produire des molécules innovantes (Selim *et al.*, 2021).

Dans cette optique, le présent travail s'inscrit dans le cadre de l'étude des isolats actinobactéries prévenants du sol semi-aride de la wilaya de Tébessa, une région peu explorée mais potentiellement riche en biodiversité microbienne. L'objectif est d'extraire et de séparer des composés bioactifs produits par ces isolats, en utilisant des techniques chromatographiques classiques.

Dans la partie théorique, une attention générale est portée aux actinobactéries : leurs caractéristiques, leur classification, leur cycle de vie, leurs environnements naturels, ainsi que leurs principales applications biotechnologiques via la production des antibiotiques, antifongiques, pigments, etc.

Dans la partie expérimentale, nous présentons l'évaluation de l'activité biologique des isolats étudié et de leurs extraits, suivie de la séparation des composés actifs et de leurs activités.

Par la suite, une présentation des résultats obtenus. En fin, ce mémoire se termine par une conclusion générale de cette étude.

**ETUDE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **Chapitre I**

## **Les actinobactéries**

---

## Chapitre I : les actinobactéries

### 1. Historique

Les actinobactéries ont une longue histoire évolutive, elles existent sur terre depuis environ 2,7 milliards d'années. Dans le royaume des bactéries, les actinobactéries font partie des principaux phylums qui colonisent le sol jouent un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes terrestres. En tant que l'une des lignées les plus primitives parmi les procaryotes, les actinobactéries possèdent une diversité exceptionnelle en termes de morphologie et de fonction. Ces bactéries se trouvent principalement dans les sols terrestres et les écosystèmes marins (Law *et al.*, 2020).

Le nom d'*actinomycètes* provient des mots grecs "aktis" (rayon) et "mukes" (champignon), car elles étaient considérées dans le passé comme une forme transitoire entre les champignons et les bactéries (Maud *et al.*, 2024). Cependant, elles diffèrent suffisamment pour être classées dans le règne des bactéries (Patani *et al.*, 2025).

La première description scientifique détaillée des actinobactéries remonte à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, avec l'isolement de l'espèce *Actinomyces bovis* à partir d'un cas pathologique chez les bovins, connu sous le nom de "mâchoire irrégulière". Par la suite, le terme actinomycètes a été adopté pour désigner ces micro-organismes caractérisés par la formation de filaments fins semblables aux hyphes fongiques, d'environ 1 micromètre de diamètre, capables parfois de produire des spores de dimensions similaires (Javed *et al.*, 2021).

Dans les années 1940, la découverte de la capacité de certaines espèces du genre *Streptomyces* à produire des antibiotiques naturels a marqué un tournant majeur dans le domaine médical, ouvrant ainsi la voie au développement de traitements antimicrobiens modernes (Javed *et al.*, 2021).

## 2.Caractéristiques des actinobactéries

Les actinobactéries présentent un ensemble de caractéristiques qui incluent la morphologie, la motilité, le type de respiration (aérobie ou anaérobie), ainsi qu'une teneur élevée en GC dans leur ADN. Elles montrent également une grande capacité d'adaptation à différents environnements, en particulier dans les sols et les matières végétales en décomposition. Le **tableau 1** résume les principales caractéristiques générales (Bano *et al.* ,2019).

**Tableau 1** : Caractéristiques générales des actinobactéries (Bano *et al.* ,2019)

Genre	Aérobie/ Anaérobie	Teneur en GC (%)	Morphologie	Motilité
<i>Actinoplanes</i>	Aérobie	72-73	Le mycélium ramifié et la croissance aérienne sont faibles et ne contiennent pas de fragments	Spores sont mobiles et leurs flagelles sont polaires
<i>Arthrobactérie</i>	Aérobie	59-70	Les jeunes cellules sont disposées en batonnets inégaux ; et les cellules plus âgées sont de petits <i>cocci</i>	Généralement immobile
<i>Bifidobactéries</i>	Anaérobie	55-67	Tiges généralement courbées et de formes variées.	Immobile
<i>Corynebactérie</i>	Facultatif Aérobie	51-63	Les tiges sont droites ou immobile légèrement courbées avec des extrémités en forme de massue	Immobile

---

<i>France</i>	Aérobic à microaérophile	66-71	Ils n'ont pas de de mycélium aérien ni d'hyphes végétatifs et forment des cellules multicellulaires.	Spores de sporangies non mobiles
<i>Microcoque</i>	Aérobic	64-75	Les sporangies les Cocci sont Pra paires et les grappes sont inégales	Immobile
<i>Mycobactérie</i>	Aérobic	62-70	Les tiges sont droites et légèrement courbées certaines sont ramifiées, acido-résistantes et non sporlées.	Immobile
<i>Nocardie</i>	Aérobic	64-72	Extensif hyphes végétatifs qui peuvent se fragmenter en formes de batonnets et de cocci.	Immobile
<i>Streptomyces</i>	Aérobic	69-78	Le mycélium est végétatif et largement ramifié et les chaînes de trois à plusieurs spores sont formées par le mycélium aérien.	Immobile

---

## 2.1. Caractéristiques morphologiques

- **Structure de la paroi cellulaire :** La paroi cellulaire des actinobactéries est rigide, ce qui permet de maintenir la forme de la cellule et d'éviter son éclatement sous une pression osmotique élevée. Elle est composée de molécules complexes tels que le peptidoglycane, l'acide téichoïque, l'acide téichuroniques et des polysaccharides, qui lui confèrent des propriétés structurelles solides lui permettant de survivre dans divers environnements (Amin *et al.*, 2020).

Les actinobactéries sont des bactéries Gram-positives, caractérisées par une paroi cellulaire riche en peptidoglycane, ce qui leur confère une résistance structurelle et une adaptation aux conditions environnementales difficiles. De plus, leur ADN présente une teneur élevée en guanine-cytosine (G+C), ce qui renforce leur stabilité génétique (Jain *et al.*, 2022).

- **Formation de mycélium :** Les actinobactéries se caractérisent par la formation d'un mycélium aérien et d'un mycélium de substrat sur des milieux solides, ainsi que par la présence de spores dont la surface varie selon les espèces (**Figure 1 et 2**) (Selim *et al.*, 2021).

Le mycélium aérien des actinobactéries apparaît sous forme de structure filamenteuse ramifiée qui se développe au-dessus du milieu de culture. Il produit des spores ou conidies, qui jouent un rôle essentiel dans l'identification des espèces. Cette structure permet aux actinobactéries de s'adapter à divers environnements en formant des spores capables de survivre dans des conditions variées. La **Figure 03** illustre l'observation microscopique électronique à balayage (SEM) montrant le mycélium aérien et la formation de spores chez les actinobactéries. Les actinobactéries croissent par extension des extrémités et ramification des hyphes qui se différencient en spores (Jose *et al.*, 2021).

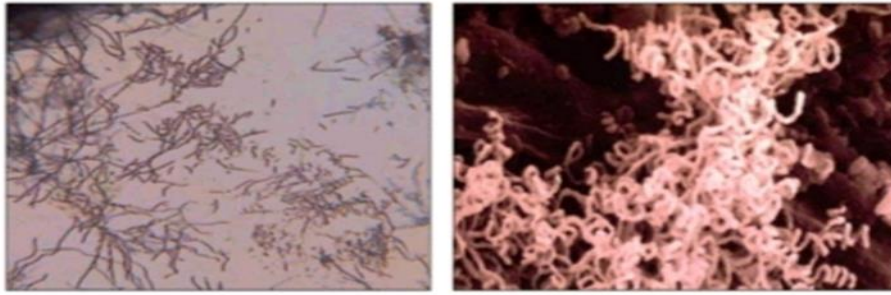


Figure1 : Le mycélium aérien de *Streptomyces sp* (Selim *et al.*, 2021).

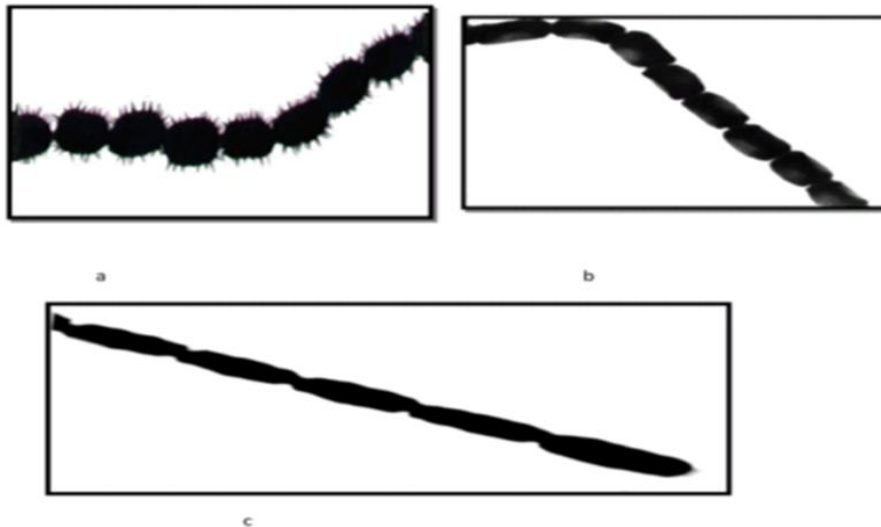


Figure2 :Les différents typesde spore surface de *streptomyces Sp* (Selim *et al.*, 2021).

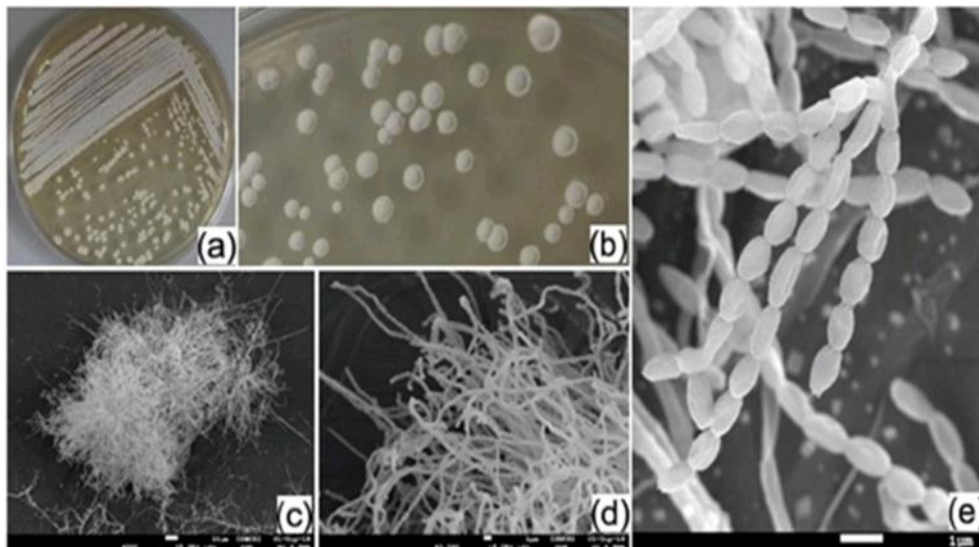


Figure3 : Image de microscopie électronique à balayage (SEM) montrant le mycélium aérien et la formation de spores chez les actinobactéries ; a, b : morphologie des colonies, c, d : images SEM montrant la croissance filamenteuse, e : image SEM focalisée sur les spores (Jose *et al.*, 2021).

## 2.2. Caractéristiques chimiques

- **Les acides aminés :** Les actinobactéries sont des micro-organismes qui possèdent un large éventail de propriétés chimiques, contribuant à la production de composés biologiques actifs. Parmi ces propriétés, les actinobactéries produisent divers acides aminés utilisés dans la synthèse des protéines et des composés secondaires. Ces acides aminés comprennent le glutamate, l'aspartate et la tyrosine, ainsi que des acides aminés non conventionnels tels que l'acide  $\beta$ -méthyl aspartique et l'acide 2,3-diaminopropanoïque. Ces acides jouent un rôle essentiel dans la biosynthèse des composés biologiques tels que les antibiotiques, ce qui renforce leur capacité à combattre les micro-organismes pathogènes. De plus, les acides aminés non conventionnels contribuent à améliorer l'efficacité des composés biologiques produits (Zhang *et al.*, 2023).
- **Les sucres :** Les actinobactéries produisent une grande variété de sucres complexes, notamment des polysaccharides et des sucres associés à des biomolécules. Ces composés jouent un rôle fondamental dans les interactions avec les composants cellulaires d'autres micro-organismes, ce qui aide les actinobactéries à s'adapter et à survivre dans des environnements difficiles et inhospitaliers. Les sucres complexes sont également impliqués dans la formation de biofilms, permettant aux actinobactéries de se protéger contre les agressions extérieures et de maintenir leur stabilité dans des conditions de stress (Li *et al.*, 2022).
- **Les lipides :** comprenant les acides gras, les phospholipides et les acides mycoliques, sont des constituants essentiels de la membrane cellulaire des actinobactéries. Le profil en acides gras et la nature des lipides polaires sont utilisés comme indicateurs taxonomiques précis. Certaines espèces présentent des acides mycoliques à longues chaînes, contribuant à leur résistance face aux conditions environnementales extrêmes (Keskitalo *et al.*, 2023).

## 2.3 Caractéristiques physiques

- **Tolérance à la température** : Les actinobactéries peuvent être trouvés dans des conditions aérobies et anaérobies, et se développent dans une large gamme de températures allant de 5–7°C à 45–70°C (Patani *et al.*, 2025).

Les chercheurs Taki et Imada ont mené en 2024 une étude dans la baie de Sagami au Japon, visant à évaluer les caractéristiques physiques des souches d'actinobactéries isolées de trois environnements marins différents : les eaux profondes (DSW), les eaux de surface (SSW) et les sédiments côtiers (IS). Les résultats des tests de température ont montré que la majorité des souches d'actinobactéries étudiées se développaient bien entre 15°C et 37°C (Imada et Taki, 2024).

- **Tolérance au pH** : Le pH est un facteur clé influençant la répartition des actinobactéries, qui préfèrent croître dans des environnements avec un pH proche de 7, tandis que des espèces acides telles que les *streptomycètes* acides sont plus courants dans les sols ayant un pH inférieur à 5.0 (Sutaria *et al.*, 2021).

## 3. Classification des Actinobactéries

Les Actinobactéries représentent l'un des plus grands phylums du règne bactérien. Selon l'analyse moléculaire du gène 16S ARNr, ce phylum est divisé en six classes principales : Actinobactérie, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitrospirillum*, *Rubrobacteria*, *Thermoleophilia*, comme indiqué sur la **figure 4** (Salam *et al.*, 2020).

La classe Actinobactérie est la plus grande et la plus diversifiée, comprenant 18 ordres. Sur le plan phylogénétique, cette classe est divisée en deux grands clades :

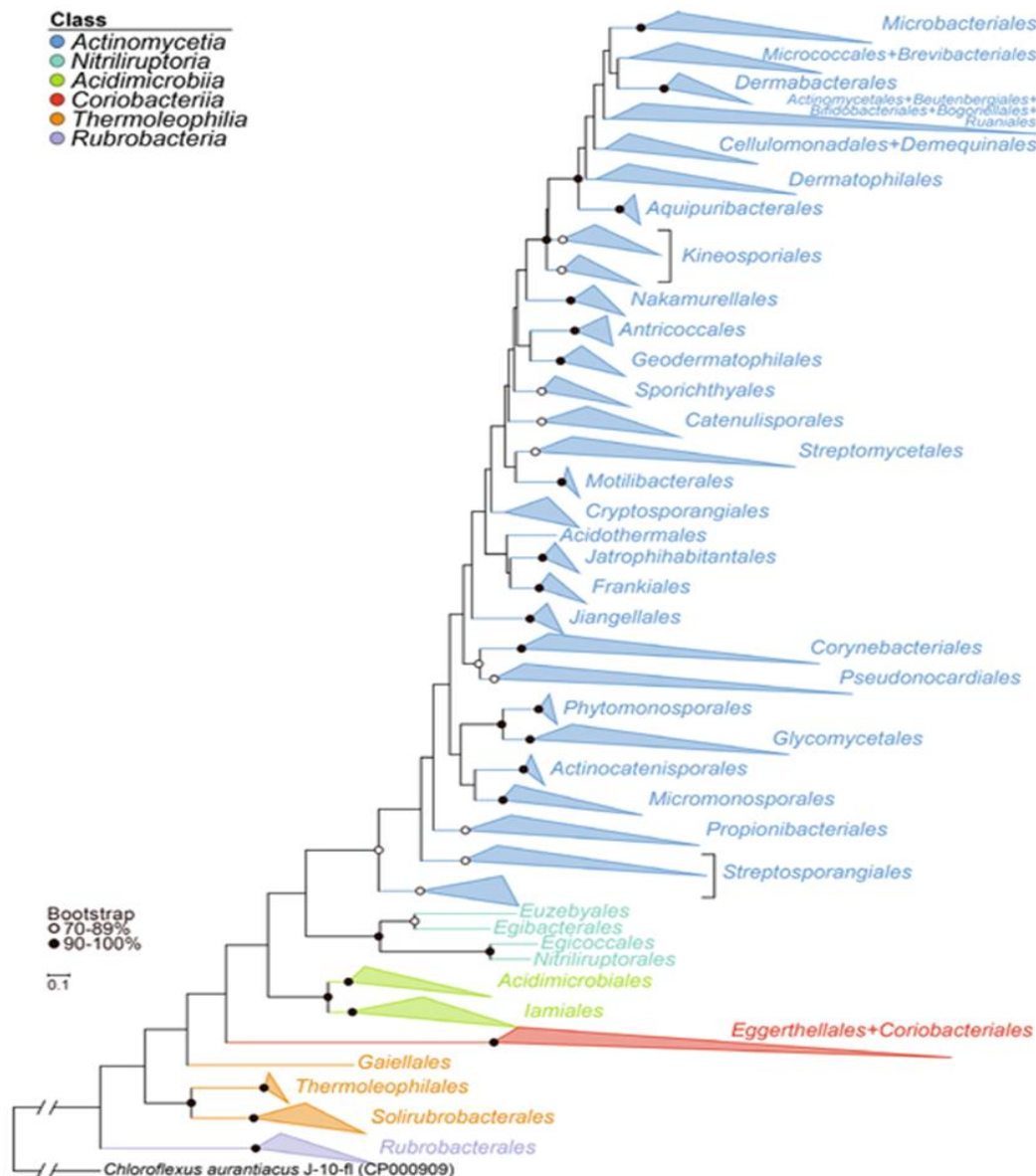
**Le premier clade comprend des ordres tels que** : *Actinopolysporales*, *Corynebacteriales*, *Micromonosporales*, *Pseudonocardiales*

**Le deuxième clade regroupe des ordres comme** : *Actinomycetales*, *Bifidobacteriales*, *Micrococcales*

Des études récentes ont révélé que certains ordres, comme *Frankiales*, ne sont pas monophylétiques (Polyphyletic), ce qui a conduit à leur division en quatre ordres distincts : *Frankiales*, *Geodermatophilales*, *Acidothemales*, *Nakamurellales*. Bien que les Actinobactéries soient traditionnellement associées à un taux élevé de G+C, des lignées découvertes récemment dans les environnements d'eau douce présentent un taux de G+C plus

faible. Cette diversité génétique souligne l'importance de poursuivre les recherches pour affiner la classification et mieux comprendre les relations évolutives entre les différentes lignées d'Actinobactéries (Lipko, 2020).

Dans le cadre de la classification écologique des Actinobactéries, Warnecke et ses collègues (2004) ont proposé une classification unifiée des Actinobactéries d'eau douce basée sur des séquences génétiques provenant de différentes sources aquatiques. La **figure5** montre un arbre phylogénétique du gène 16S ARNr illustrant les lignées d'Actinobactéries d'eau douce dans le contexte global du phylum *Actinobacteria* (Lipko, 2020).

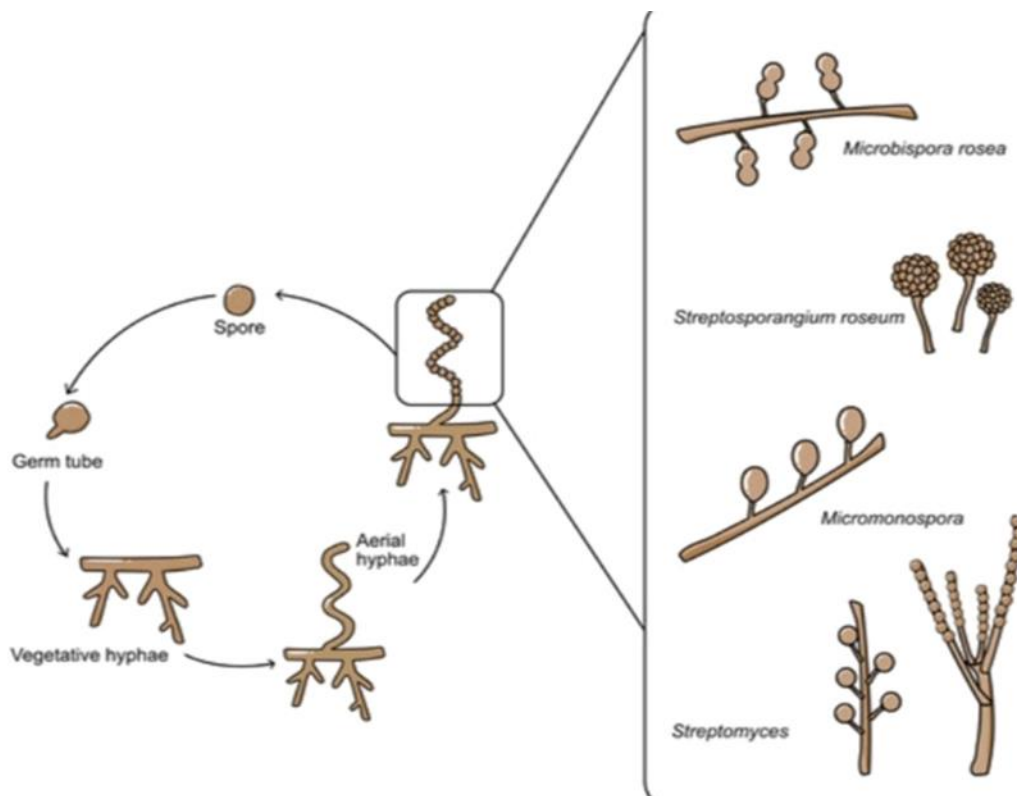


**Figure 4 :** Relation phylogénétique entre les différents ordres du phylum Actinobactérie basée sur les séquences du gène 16S ARNr (Salam *et al.*,2020).



- *Micromonospora* produit une spore unique non mobile ;
- *Microbispora* forme deux spores en chaîne ;

*Streptosporangium* développe ses spores dans des structures appelées *sporangiums*. Après leur libération dans l'environnement, les spores entrent dans un état de dormance (dormance), en attente de conditions favorables. Lorsque ces conditions sont réunies, les spores germent en formant des tubes germinatifs (germe tubes), qui se développent ensuite en un nouveau mycélium de substrat, réinitiant ainsi le cycle de vie (Ngamcharungchit *et al.*, 2023).



La figure 6 : Cycle de vie des actinobactéries (Ngamcharungchit *et al.*, 2023).

## 5. Environnement des Actinobactéries

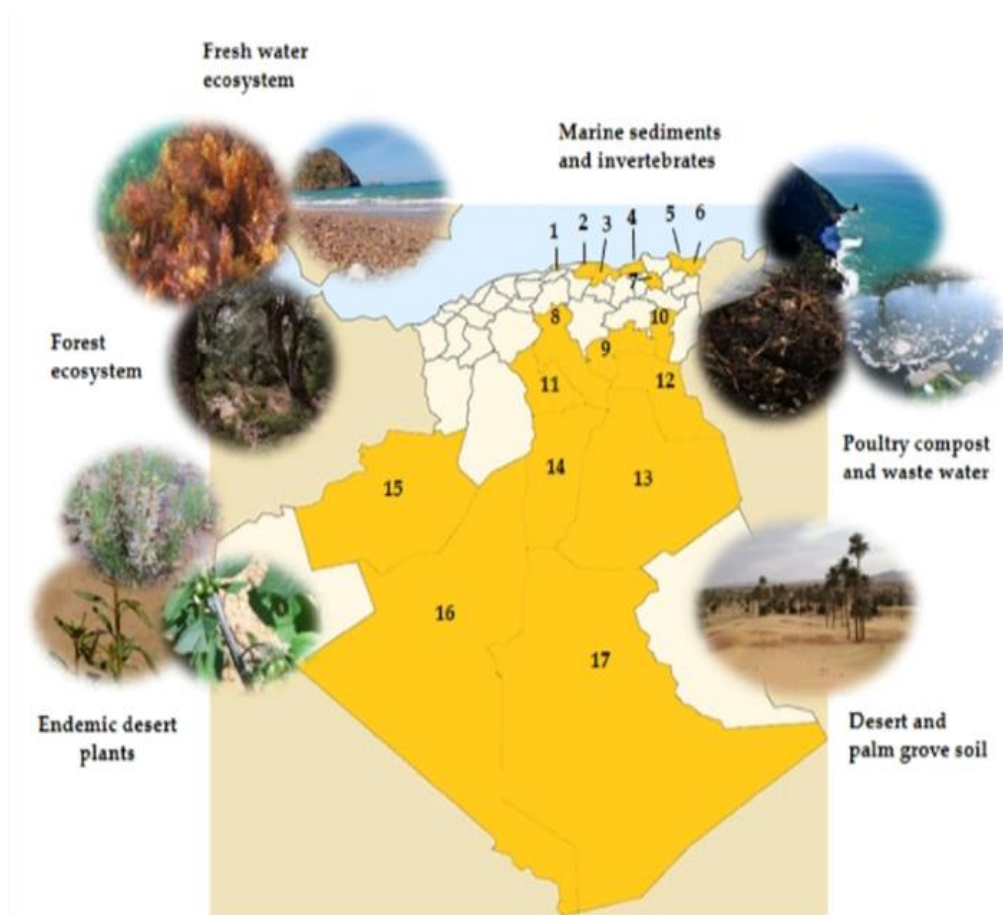
L'exploration continue des Actinobactéries en raison de leur importance biotechnologique a révélé leur présence dans une grande variété de sources à travers les écosystèmes terrestres et aquatiques (**Figure 7**). Il est remarquable que de larges gammes de sols, d'écosystèmes d'eau douce et marins, ainsi que de plantes et d'animaux, abritent une grande diversité d'Actinobactéries (Jose *et al.*, 2021).

L'Algérie se distingue par une diversité climatique notable, allant des chaînes montagneuses enneigées du nord, bordant la mer Méditerranée, jusqu'au sud extrême où s'étend le désert du Sahara, considéré comme l'une des régions les plus chaudes au monde. Cette variation climatique contribue à une richesse biologique importante, incluant de nombreux micro-organismes, en particulier les actinobactéries, associées à une large diversité chimique de leurs métabolites secondaires (Djinni *et al.*, 2019)

De nombreuses études ont démontré que les actinobactéries ont été isolées à partir de milieux algériens variés, notamment : les plantes sahariennes, les grottes, les eaux usées, les sédiments fluviaux, les zones hypersalines, les sols désertiques, ainsi que les algues qui en sont dérivées. La **figure 8** illustre la distribution géographique des principaux sites ayant servi à l'isolement de ces micro-organismes (Djinni *et al.*, 2019).



**Figure 7 :** Représentation des différents environnements colonisés par les actinobactéries, incluant les sols, les sédiments marins, les eaux douces, les plantes et les insectes (Jose *et al.*, 2021).



**Figure8** : Répartition géographique des sites les plus étudiés pour l’isolement des actinobactéries en Algérie :1 : Alger, 2 : Tizi Ouzou, 3 : Béjaïa, 4 : Jijel, 5 : Annaba, 6 : El Tarf, 7 : Constantine, 8 : Djelfa, 9 : Biskra, 10 : Khenchela, 11 : Laghouat, 12 : El Oued, 13 : Ouargla, 14 : Ghardaïa, 15 : Béchar, 16 : Adrar, 17 : Tamanrasset. (Djinni *et al.*, 2019).

### 5.1. Environnement terrestre

Les actinobactéries sont considérées comme des micro-organismes dominants dans le sol (**Tableau 2**), ce qui a été documentée en 1903 par (Zhang *et al.* 2019 ; Nalini et Prakash 2020). Les actinobactéries peuvent se retrouver à la surface du sol ainsi qu'à des profondeurs. Elles sont généralement présentes en densités variant entre  $10^6$  et  $10^9$  cellules par gramme du sol. Le genre *Streptomyces* représente plus de 95 % des souches d'actinobactéries isolées du sol. La diversité des actinobactéries dans l'écosystème tellurique dépend également de divers facteurs tels que le pH, la température et l'humidité du sol.

Pikoli *et al.* (2020) ont évalué la diversité des actinobactéries dans les sols acides et ont observé la présence de souches rares d'actinobactéries telles que *Actinomadura*,

*Actinoallomurus*, *Actinospica*, *Streptacidiphilus*, *Aciditerrimonas* et *Ferrimicrobium* (Rao et al.,2022).

La figure 9 représente la méthode d'isolement d'actinobactérie à partir d'un écosystème téréstre (Nazari et al.,2022).

**Tableau 2** : Liste de nouveaux membres actinobactéries isolés du sol (Rao et al.,2022).

No	Nouveaux membres actinobactéries	Endroit d'isolement
1	<i>Aeromicrobium alkaliterrae</i>	Sol alcalin
2	<i>Kribbella karoonsis</i> et <i>kribbella swartbergensis</i>	Sol
3	<i>Nocardia acidivorans</i>	Sol
4	<i>Nocardioides lentus</i>	Sol alcalin
5	<i>Rhodococcus kyotonensis</i>	Sol
6	<i>Nonomuraea soli</i>	Sol
7	<i>Sphaerisporangium aureirubrum</i>	Sol boueux
8	<i>Actinophytocola algeriensis</i>	Sol saharien
9	<i>Micromonospora fulva</i>	Sol forestier
10	<i>Rhodococcus daqingensis</i>	Sol contaminé par du pétrole.
11	<i>Kribbella jiaozuonensis</i>	Sol
12	<i>Nocardia terrae</i>	Sol

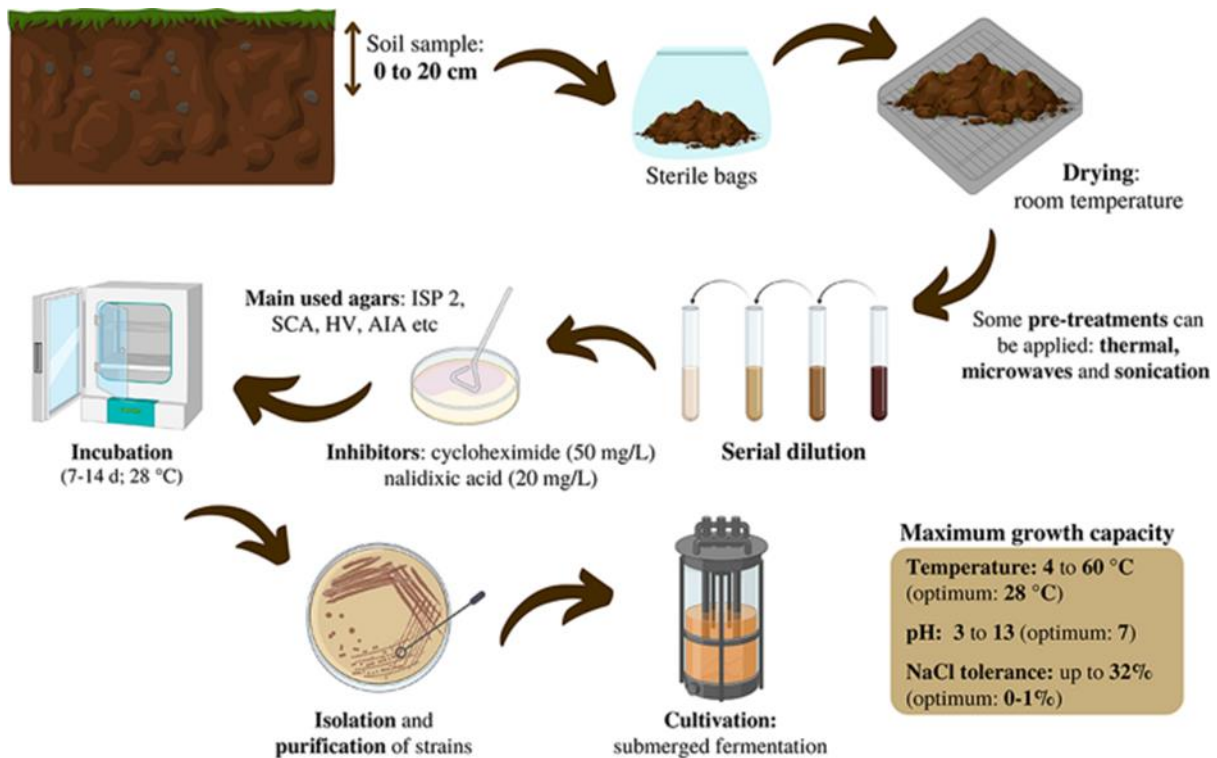


Figure9 : Méthode d'isolement des actinobactérie à partir du sol (Nazari *et al.*,2022).

## 5.2. Environnement Marin

Ces dernières années, l'étude des actinobactéries marines (**Tableau 3**) a suscité un intérêt croissant en raison de leurs caractéristiques physiologiques uniques et de leur capacité à produire une variété de composés naturels aux activités biologiques diverses (Qin *et al.*, 2019).

L'océan couvre les trois quarts de la surface de la terre et est le plus grand écosystème de notre planète, tout en étant une source riche en bactéries *actinobactériennes*. Les conditions environnementales dans les milieux marins diffèrent de celles des environnements terrestres, ce qui suggère que les actinobactéries marines pourraient posséder des caractéristiques distinctes de celles de leurs homologues terrestres. Ces actinobactéries se trouvent dans divers habitats tels que les récifs coralliens, les éponges, les vertébrés marins, les sédiments et l'eau de mer. En plus de leurs associations avec d'autres organismes, ces actinobactéries peuvent se développer librement dans l'eau ou au sein de biofilms (Kanchanasin *et al.*,2024).

Les profondeurs marines se caractérisent par des conditions extrêmes telles que la pression élevée, les températures basses, l'obscurité totale, et des variations importantes des concentrations d'oxygène et de sel. Ces conditions favorisent l'adaptation des actinobactéries

marines et le développement de caractéristiques uniques qui les distinguent de leurs homologues terrestres, leur permettant de produire des composés bioactifs nouveaux et diversifiés (Shuikan *et al.*, 2025).

**Tableau 3** : liste des nouveaux membres actinobactéries isolés du milieu marin (Rao *et al.*, 2022).

No	Nouveaux membres actinobactéries	Endroit d'isolement
1	<i>Kocuria marina</i>	Sédiments marins
2	<i>Lamia majanohamensis</i>	Conocombre dr mer Holothuria
3	<i>Nanhai oceani</i>	Eau de mer
4	<i>Brevibacterium sediminis</i>	Sédiments des grands fonds
5	<i>Microbacterium aureliane</i>	Méduselune
6	<i>Kocuria oceani</i>	Panache hydrothermal des grands fonds
7	<i>Rubrobacter indicoceani</i>	Sédiments des grands fonds
8	<i>Williamsia aurantiacus</i>	Eponge mariane
9	<i>Streptomyces marianii</i>	Sédiment subtidal
10	<i>Streptomyces bathyali</i>	Sponge

### 5.3. Environnement végétal

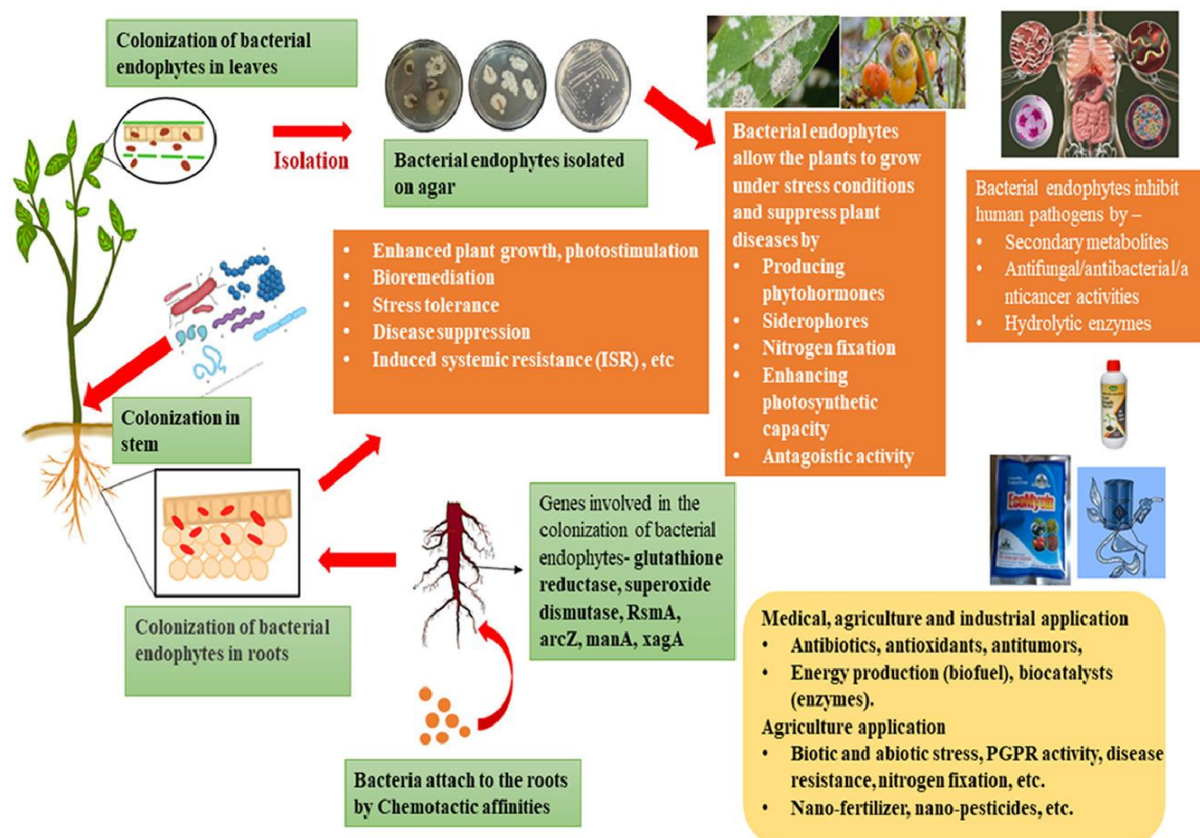
Les actinobactéries symbiotiques se trouvent dans divers environnements végétaux tels que les racines, les feuilles et les tiges, où elles établissent des relations mutuellement bénéfiques avec les plantes. Elles jouent un rôle essentiel dans l'amélioration de l'absorption des nutriments, l'adaptation aux stress environnementaux comme la sécheresse et la salinité, et le renforcement de la résistance aux maladies. Elles contribuent également à l'équilibre du microbiome végétal et à la santé globale des plantes (Wang *et al.*, 2023).

La rhizosphère constitue un habitat clé pour ces bactéries, grâce à la richesse en matières organiques qu'elle offre. Certaines actinobactéries se retrouvent aussi dans les nodules racinaires de plantes symbiotiques, où elles participent à la fixation de l'azote et à sa conversion en une forme assimilable par les plantes (Wang *et al.*, 2023). Par ailleurs, des études récentes ont mis en évidence le potentiel bioactif d'actinobactéries isolées de la rhizosphère de plantes aromatiques telles que la lavande, la mélisse citronnée et l'origan. Ces souches sont capables

de produire des composés antimicrobiens, renforçant ainsi la protection des plantes et améliorant la qualité des sols dans l'écosystème sol-plante (Sáhó *et al.*, 2024).

Il est bien évident que les plantes médicinales sont de sources de précieux composés bioactifs. Suite à une association à long terme d'endophytes avec ces plantes, ces dernières peuvent également participer aux voies métaboliques et renforcer leur propre bioactif naturelle, ou acquérir des informations génétiques pour produire un composé biologiquement actif spécifique, similaire à celui de la plante hôte. Par conséquent, les endophytes isolés des plantes médicinales revêtent une importance capitale ( Golinska *et al.*,2015).

Les interactions bénéfiques des actinobactéries endophytes avec les plantes constituent un domaine de recherche important. Ces actinobactéries endophytes constituent une source intéressante de nouveaux composés bioactifs et, par conséquent, de nombreux groupes de recherche étudient leurs bioactivités et leurs applications industrielles (**Figure10**) ( Golinska *et al.*,2015).



**Figure 10 :** Les actinobactéries endophytes et leurs applications ( Golinska *et al.*,2015).

#### **5.4. Environnements Extrêmes**

Les conditions environnementales extrêmes, comprenant des températures très élevées ou très basses, un manque de nutriments, une faible disponibilité de sources de carbone organique, des niveaux élevés d'oxydants et de rayons UV, ainsi que des variations extrêmes du pH et de la salinité, des concentrations élevées de métaux, en plus d'autres stress abiotiques (Xie & Pathom-aree, 2021)

Les zones désertiques représentent l'un des exemples les plus typiques de ces environnements extrêmes. Elles constituent un réservoir précieux de micro-organismes capables de s'y adapter, en particulier les actinobactéries, connues pour leur capacité à produire des métabolites secondaires d'intérêt biologique. Dans ce contexte, la souche *Streptomyces sp.* C34 a été isolée du sol de Salar de Tara, situé dans le désert d'Atacama, considéré comme l'un des milieux les plus arides de la planète (Hui et *al.*, 2021).

L'analyse chimique de cette souche a permis l'identification de quatre composés appartenant à la famille des ansamycines, à savoir les Chaxamycines A, B, C et D, qui ont démontré un potentiel prometteur en tant qu'antibiotiques et agents anticancéreux, comme indiqué dans **le Tableau 4** (Hui et *al.*, 2021).

**Tableau 4 : La bioactivité des souches d'actinobactéries isolées du désert d'Atacama (Hui et al., 2021).**

Site d'échantillonnage	Souche	Propriétés extrémophiles	Type d'échantillon	Bio activité	Composé
Salar de tara dans le désert d'Atacama, chile	<i>Streptomyces sp.</i> DB634	Polyextremophile	Sol du désert	Activité anti-inflammatoire	Aberuquines A et I
Salar de tara dans le désert d'Atacama, chile	<i>Streptomyces sp.</i> C34	Polyextremophile	Sol du désert	Activité antibactérienne, Activité antitumorale	Chasamycine D, Chaomycine A-D
Emplacement à haute altitude (5000m) dans le désert d'Atacama	<i>Lentzia sp.</i> H45	Polyextremophile	Sol du désert	Inhibition de l'intégrase du VIH	Lentzeosides A-F
Désert d'Arabie saoudite	<i>Streptomyces sp.</i> DA3-7	Thermotolérant (Proposé)	Sol du désert	Activité antimicrobienne, Activité antifongique	Pyridine-2,5-diacétami-de

## 6. Applications et importance

### 6.1. Dans agriculture

L'utilisation des espèces d'actinobactéries en agriculture est largement documentée en raison de leurs propriétés favorisant la croissance des plantes et de leur capacité à lutter contre les maladies infectieuses. Les actinobactéries en tant que microorganismes endophytes sont très bénéfiques et se distinguent par leur capacité à coloniser la rhizosphère et la rhizoplane. Certaines espèces produisent des extraits biologiques efficaces contre les maladies du riz, comme le *Blasticidin S* et le *Kasugamycin*, qui sont utilisés commercialement pour contrôler la maladie du "blast" du riz (He *et al.*, 2025).

Une étude menée par Boukelloul *et al.* (2024) a révélé que cinq isolats de *Streptomyces* isolés des sols de la région saharienne aride produisaient des sidérophores, de l'acide cyanhydrique, de l'ammoniaque et de l'acide indole-3-acétique, qui favorisent la croissance de plantes. En plus de leur activité contre certains champignons pathogènes tels que *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*, plusieurs espèces d'actinobactéries telles que *S. griseus* et *Streptomyces sp.* Largement utilisés comme agents de pelliculage sur les graines de carottes et de tomates respectivement ce qui a entraîné une augmentation de la croissance des plantes et du rendement (Maud *et al.*, 2024).

La figure 11 représente l'effet bénéfique des actinobactéries dans le domaine d'agriculture (Mitra *et al.*, 2022).

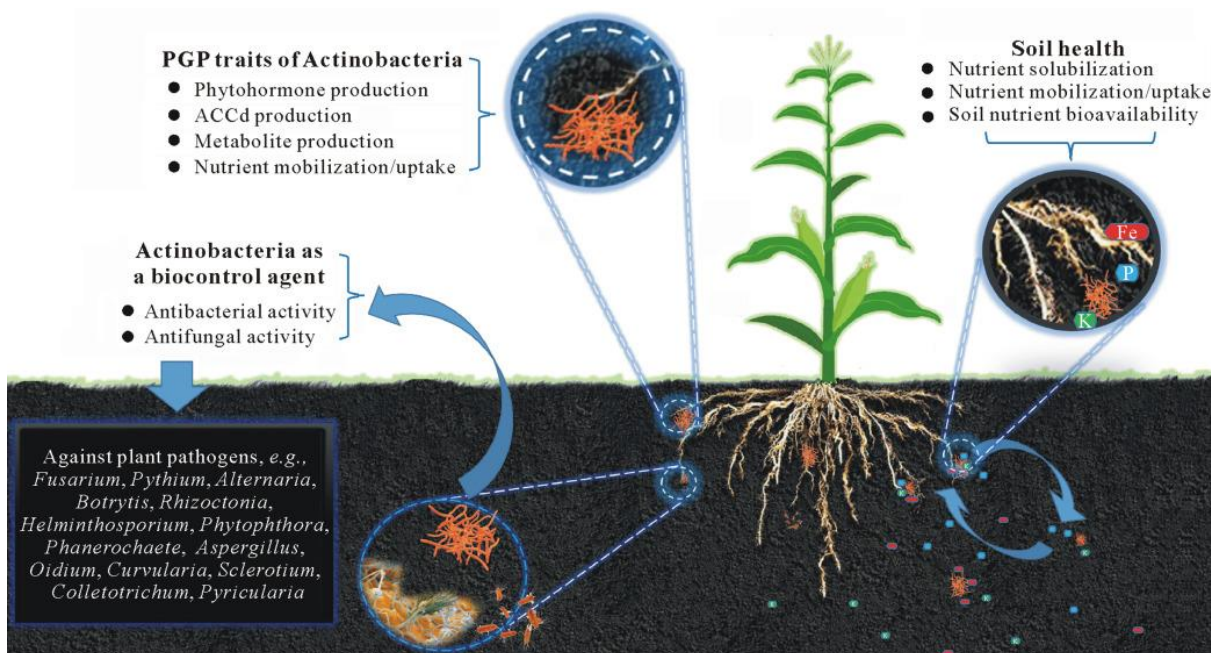


Figure 11 : Rôles bénéfiques des Actinobactéries en agriculture (Mitra *et al.*, 2022).

## **6.2. Dans la bioremédiation**

La bioremédiation est un processus efficace et durable permettant de restaurer un environnement contaminé à son état d'origine en utilisant des micro-organismes ou leurs enzymes. Dans les sols, les actinobactéries constituent une part importante de la population microbienne et sont également largement répartis dans la nature. Leur tolérance aux métaux lourds tels que le cuivre, le mercure, le chrome, le plomb, le zinc et le cadmium, ainsi que leur diversité métabolique et leurs caractéristiques de croissance uniques, telles que la formation de filaments et leur colonisation rapide des substrats sélectionnés, justifient leurs capacités en tant qu'agents excellents pour la bioremédiation (Jain *et al.*,2022).

La capacité biologique des actinobactéries dans la bioremédiation a été découverte pour la première fois en 1984. Les souches d'actinobactéries marines par exemple ont montré leur efficacité dans le traitement des polluants marins, ce qui a suscité un intérêt croissant pour leur rôle dans la dégradation des déchets organiques et inorganiques. Les études ont prouvé que les actinobactéries jouent un rôle clé dans l'élimination des déchets azotés organiques et inorganiques dans les systèmes d'aquaculture (James *et al.*,2023).

## **6.3. Applications médicales**

Les actinobactéries produisent de nombreux antibiotiques puissants. Les espèces de *Streptomyces* sont parmi les organismes les plus producteurs d'antibiotiques utilisés dans l'industrie pharmaceutique moderne (AbuHamdia *et al.*,2025).

En ce qui concerne les composés antifongiques, certaines espèces de *Streptomyces* produisent des molécules telles que l'amphotéricine B et la nystatine, utilisées pour traiter des infections fongiques telles que la candidose. De plus, certaines actinobactéries sont capables de produire des composés antiparasitaires, tels que l'ivermectine, utilisée pour traiter des infections parasitaires chez les animaux et les humains (Maud *et al.*,2024).

# **Chapitre II**

## **Les molécules bioactives produites par les actinobactéries**

## **Introduction**

Les sources microbiennes naturelles sont considérées comme la source la plus importante de métabolites bioactifs prometteurs pour de nouveaux médicaments thérapeutiques.

Il a été indiqué que les métabolites secondaires produits par les actinobactéries sont synthétisés pour se défendre contre les micro-organismes antagonistes et jouent également un rôle majeur dans le cycle de la matière organique dans l'écosystème des sols et des sédiments. Les actinobactéries filamenteuses appartenant à la famille des *Actinobacteriaceae* ont le potentiel de produire des métabolites chimiquement diversifiés et pertinents, notamment des agents antibiotiques, antifongiques, antitumoraux et anti-inflammatoires connus, ainsi que des substances favorisant la croissance des plantes et des régulateurs. Ces substances trouvent diverses applications, notamment en médecine, en biotechnologie et en agriculture, en plus des enzymes industrielles (par exemple, les cellulases, les chitinases et les xylanases) responsables de la production de biocarburants et de produits biochimiques (Djinni *et al.*, 2019).

Les approches de découverte de composés bioactifs à partir d'actinobactéries peuvent être globalement classées en deux groupes : les techniques classiques/traditionnelles et les approches post-génomiques (**Figure 12**) (Koech *et al.*, 2025).

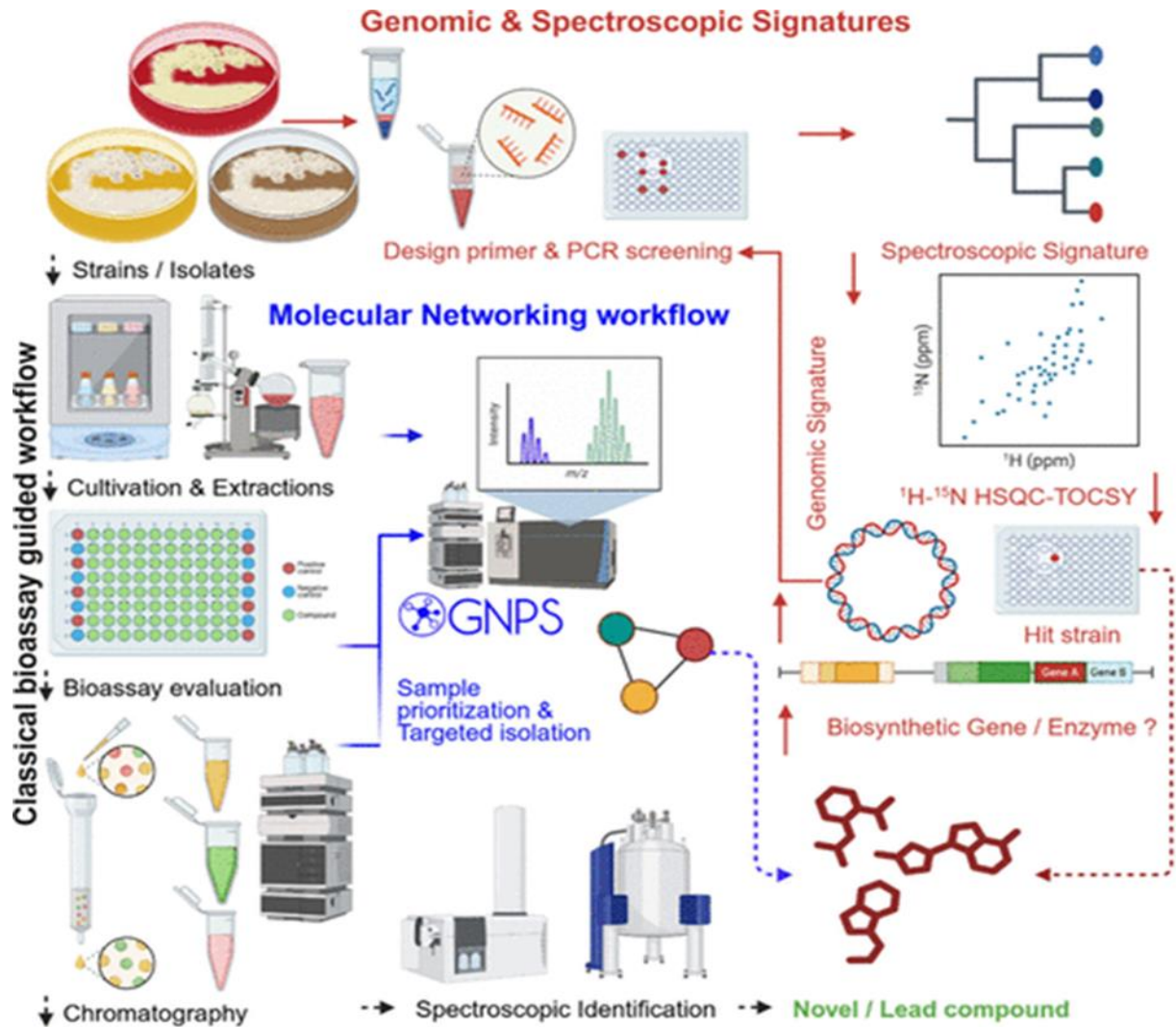
Au paravent, l'approche traditionnelle de découverte de médicaments a été dominante, guidée par la bioactivité et l'identification de candidats potentiels. En revanche, l'approche post-génomique se concentre sur l'exploration du génome d'isolats potentiels, les groupes de gènes biosynthétiques cachés dans les isolats potentiels, l'expression hétérologue dans d'autres micro-organismes et la bio-ingénierie. De plus, l'approche post-génomique peut compléter et s'intégrer à l'approche classique dans la découverte de métabolites bioactifs (Koech *et al.*, 2025).

Les études récentes mettent en évidence une diversité des méthodes d'extraction des composés bioactifs issus des actinobactéries rares, selon le type de milieu de culture, le solvant utilisé et la technique appliquée, ce qui permet l'isolement de molécules aux structures chimiques variées telles que les rifamycines, les peptides thiazolés et les polykétides (**tableau 5**) (Koech *et al.*, 2025).

**Tableau 5 :** Approches d'extraction de composés bioactifs à partir d'actinobactéries rares (Koech *et al.*,2025).

<b>Méthode d'extraction</b>	<b>Type de culture</b>	<b>Solvants</b>	<b>Métabolites cibles</b>
<b>Macération</b>	Mycélium	Acétate d'éthyle Dichloroéthane/méthanol	Nocarpyrroline A (dérivé de la pyrroline)
	Gélose	Acétone	Kocurin (peptide thiazolyl)
	Gélose	Acétate d'éthyle	Lipoxazolidinones A ,B,C (Dérivé d'axazolidinone)
<b>Extraction liquide-liquide</b>	Bouillon	Acétate d'éthyle Methanol	Terpénibactines A, B,C Dérivés de la Nocobactine
	Bouillon	Acétate d'éthyle	Rifamycine W Protorifamycine I Rifamycine W-M1 (dérivés de la rifamycine)
	Bouillon	Acétate d'éthyle	1-acétate-4-4(hydroxyphényl) pipérazine (dérivé de la dicétopipérazine)
	Bouillon	Acétate d'éthyle 1 :1 Methanol	Tétromadurine (polyéther tétronate de polycétide)
<b>Adsorbants plus grands</b>	Bouillon (résine XAD-16)	Butanone Acétone	Carrulomycine A
	Bouillon (Amberlite XAD-16)	Méthanol	Saccharothrixines D, E, F, G, I (dérivés de l'angacycline)

	Méthanol	Zelcoramycine
Bouillon		(antibiotique
(polystyrène HP-		macrocyclique)
20 résine)		



**Figure 12 :** Processus global d'identification des souches potentielles, dérégulation et l'obtention des composés bioactifs à l'aide de trois approches connues (Koech *et al.*, 2025).

Les lignes pointillées noires représentent l'approche classique. Les lignes bleues représentent l'approche par l'empreinte moléculaire, et les lignes rouges représentent l'approche génomique et spectroscopique. Les lignes pointillées colorées représentent l'intégration de toutes les approches (Koech *et al.*, 2025).

## 1. Les antibiotiques

### 1.1. Définition

Les antibiotiques, dont le nom provient du grec anti (« contre ») et bios (« vie »), sont des substances chimiques capables d'inhiber la croissance des bactéries (action bactériostatique) ou de les tuer (action bactéricide) (Halawa *et al.*, 2024). Les antibiotiques produits par les actinobactéries sont définis comme des métabolites secondaires naturels, généralement synthétisés par des genres appartenant à ce groupe, notamment *Streptomyces*. Ces composés se distinguent par leur capacité à inhiber ou tuer des micro-organismes, y compris les bactéries et les champignons, ce qui leur confère une grande importance dans les domaines médical et agricole (Waksman, 1953 ; Berdy, 2012 – cité dans Genilloud, 2017).

Des études récentes ont montré que les actinobactéries isolées d'environnements non conventionnels, tels que celles associées aux insectes ou vivant dans des conditions extrêmes, possèdent un potentiel élevé de production de composés aux structures chimiques originales et dotés d'une activité biologique remarquable. Cela fait d'elles une source prometteuse pour la découverte de nouveaux antibiotiques efficaces contre les souches résistantes (Munita *et al.*, 2022)

Par ailleurs, les capacités exceptionnelles des actinobactéries à produire de grandes quantités d'antibiotiques ont fait d'elles un axe central de la recherche médicale et pharmaceutique. Entre les années 1950 et 1970, environ 60 % des antibiotiques nouvellement découverts ont été isolés principalement à partir du genre *Streptomyces*, qui est devenu la source principale de nombreux médicaments biologiques (Law *et al.*, 2020). La liste mise à jour des antibiotiques séparés des actinobactérie et *Streptomyces* est donnée dans **Le tableau 6**. (AL- Shaibani *et al.*, 2021).

**Tableau 6 :** Les producteurs importants et classification chimique des antibiotiques isolés d'actinobactéries (AL- Shaibani *et al.*, 2021).

Antibiotique	Producteur	Classe chimique
Céphamycine C	<i>Nocardia lactamdurans</i>	B- Lait
Chlortétracycline	<i>S. aureofaciens</i>	Tétracycline
Acide calvulanique	<i>S. orchidaceus</i>	B-Lait
Cyclosérine	<i>S. rodeosporus</i>	Peptide

---

<b>Daptomycine</b>	<i>S. rodeosporus</i>	Lipopeptides
<b>Daunorubicine</b>	<i>S. Peucetius</i>	Peptide
<b>FK506</b>	<i>S. tubercidicus</i>	Macrolide
	<i>Micromonospora</i>	
<b>Fortimine</b>	<i>Micromonospora</i>	Aminoglycoside
	<i>olivasterospora</i>	
<b>Fosfomycine</b>	<i>S. fradiae</i>	Acide Phosphorique
<b>Fumaramidmycine</b>	<i>S.kurssanovii</i>	Alcaloides
<b>Gentamycine</b>	<i>Micromonospora spp</i>	Aminoglycoside
<b>Kanamycine</b>	<i>S.kanamyceticus</i>	Aminoglycoside
<b>Lincomycine</b>	<i>S.lincolnensis</i>	Sucre amide
<b>Néomycine</b>	<i>S. fradiae</i>	Aminoglycoside
<b>Nikkomycine</b>	<i>S.tendae</i>	Nucléoside
<b>Nocardicine</b>	<i>Nocardia uniformis</i>	B-Lait
<b>Novobiocine</b>	<i>S. neveus</i>	Aminocoumarine
<b>Oléandomycine</b>	<i>S.antibioticus</i>	Macrolide
<b>Oxytétracycline</b>	<i>S.rimosus</i>	Tétracycline
<b>Paromomycine</b>	<i>S.rimosus forma</i>	Aminoglycoside
<b>Rifamycine</b>	<i>Amycolatopsis Ansamycin</i>	ARN polymérase (PK)
<b>Spiramycine</b>	<i>S.ambofaciens</i>	Aminoglycoside
<b>Streptomycine</b>	<i>S.griseus</i>	Tétracycline (PK)
<b>Tétracycline</b>	<i>S. aureofaciens</i>	B-Lait
<b>Thiénamycine</b>	<i>S. cattleya</i>	Peptidoglycane
<b>Tobramycine</b>	<i>S. tenebrarius</i>	Aminoglycoside
<b>Vancomycine</b>	<i>S. orientalis</i>	Peptidoglycane

---

## 1.2. Classes principales d'antibiotiques

Les principales classes d'antibiotiques produites par les actinobactéries comprennent :

- **Les aminoglycosides** (tels que la néomycine, la kanamycine, la streptomycine<sup>1</sup>).
- **Les angucyclines** (telles que la landomycine, la moromycine).
- **Les ansamycines** (telles que la rifamycine<sup>7</sup>, la geldanamycine).
- **Les anthracyclines** (telles que la daunorubicine).
- **Les lactames** (telles que les céphamycin).
- **Les inhibiteurs de bêta-lactamase** comme l'acide clavulanique, le chloramphénicol<sup>2</sup>.
- **Les glutaramides** (comme la cycloheximide).
- **Les glycopeptides** (tels que la vancomycine<sup>5</sup>. La teichoplanine) .
- **Les lipopeptides** (comme la daptomycine)
- **Les antibiotiques** (tels que le mersacidin, l'actagardine)
- **Les macrolides** (tels que la clarithromycine, l'érythromycine, la tylosine)
- **Les oxazolidinones** (comme la cyclosérine)
- **Les streptogramines** (comme la streptogramine),
- **Les tétracyclines** (comme l'okamycine) (Gohain *et al.*, 2020).

## 2. Les antifongiques

Les actinobactéries, notamment les souches appartenant au genre *Streptomyces*, produisent une large gamme de composés secondaires ayant une activité antifongique. Ces composés incluent des enzymes, des acides organiques et des composés volatils, qui inhibent la croissance des champignons pathogènes des plantes par divers mécanismes, tels que la dégradation des parois cellulaires fongiques ou l'altération des processus métaboliques vitaux des champignons (Zou *et al.*, 2021). Par exemple, il a été démontré que *Streptomyces setonii* WY228 émet des composés organiques volatils ayant une activité antifongique, ce qui en fait une source efficace contre les maladies fongiques telles que la tache noire des patates douces (Gong *et al.*, 2022).

Ces résultats suggèrent que les composés antifongiques produits par les actinobactéries ont un grand potentiel pour les applications en agriculture notamment la lutte biologique contre les maladies fongiques, contribuant ainsi au développement de stratégies agricoles durables pour lutter contre les champignons pathogènes des plantes (Zou *et al.*, 2021).

Les composés antifongiques sont classés en cinq grandes catégories principales : les antibiotiques polyènes, les allylamines et les thiocarbamates, les dérivés azolés, les morpholines, et les analogues nucléosidiques.

À la fin des années 1950, le premier antibiotique antifongique macrolide polyénique a été découvert à partir d'espèces de *Streptomyces*. La plupart des métabolites antifongiques récents ont été identifiés à partir de *Streptomyces*, tandis que les autres ont été trouvés dans des actinomycètes rares des genres *Actinomadura*, *Amycolatopsis*, *Actinokineospora*, *Nocardia*, *Pseudonocardia*, *Saccharothrix* et *Umezawaea* (**Tableau 7**) (Ngamcharungchit *et al.*, 2023).

**Tableau 7** : Exemples de métabolites antifongiques identifiés chez les actinobactéries (2016-2023) (Ngamcharungchit *et al.*, 2023).

<b>Organisme (s)</b>	<b>Nom du composé (s)</b>
<i>Actinokineospora bangkokensis</i> 44EHWT	Thailandins A & B
<i>Actinomadura</i> sp. BCC 35430	Actinomadurone
<i>Amycolatopsis</i> sp. M39	Macrotermycines A & D
<i>Acrocarpospora punica</i> 04107M	Acrocarposporines A, B, D et E
<i>Dermabacter vaginalis</i> AD1-86	Dermazolium A
<i>Nocardia abscessus</i> IFM 10029	Nabscessines A, B
<i>Pseudonocardia autotrophica</i> KCTC9441	Polyène B1
<i>Streptomyces albolongus</i> YIM 101047	19-méthoxybafilomycine C1 amide
<i>Streptomyces antibioticus</i> souche 200-09	Kitamycine C
<i>Streptomyces griseoviridis</i> PU-KB10-4	Mitomycine C
<i>Streptomyces hyaluromycini</i> MB-PO13	Rubromycines CA1, CA2
<i>Streptomyces</i> sp. ADI96-02	Cycloheximide, Galbonolides
<i>Streptomyces</i> sp. ADI97-07	Galbonolides
<i>Streptomyces</i> sp. ADI98-12	Candicidine

<i>Streptomyces sp.</i> BV410	Staurosporine
<i>Streptomyces sp.</i> CB09030	LOB A, B, H8
<i>Streptomyces sp.</i> CT37	Légonimide 1, 1H-indole-3-carbaldéhyde
<i>Streptomyces sp.</i> FX13	Oligomycine A
<i>Streptomyces sp.</i> HAAG3-15	Azalomycine B
<i>Streptomyces sp.</i> KIB-H869	Macrolide de type Hygrolidine
<i>Streptomyces sp.</i> TR1341	Filipine... Fungichromine... Actinomycine X2
<i>Streptomyces qinglanensis</i> 172205	15R-17,18-déhydroxantholipine
<b>Clade Streptomycète MAR4 CNY-960 et CNS-284</b>	Marinocyanines A
<i>Umezawaea sp.</i> RD066910 + <i>Tsukamurella pulmonis</i> TP-B0596	Umezawamides A

### 3. Les pigments

Les actinobactéries sont parmi les micro-organismes les plus importants producteurs de pigments. Elles sécrètent une grande variété de pigments lorsqu'elles sont cultivées sur des milieux naturels ou synthétiques, ce qui en fait une caractéristique culturelle essentielle pour leur identification et leur classification (**Figure 13**) (Selim *et al.*, 2021).

Les actinobactéries ont la capacité de synthétiser une large gamme de pigments sombres appelés pigments de mélanine/mélanoïdes. Parmi les pigments bien connus produits par ces bactéries, on trouve : le bleu (*Streptomyces coelicolor*), le brun (*Streptomyces sp.*), le vert (*Actinomyces viscosus* et *Saccharomonospora viridis*), l'orange (*Anaeshundii*), le rouge (*Streptomyces echinoruber*), le violet (*Streptomyces mauvecolor*), le jaune (*Streptomyces hygroscopicus*), etc.

La production de pigments chez les actinobactérie est influencée par des facteurs chimiques, physiques et physiologiques tels que les conditions anaérobies et les températures basses (28-30°C), ce qui a été constaté chez *Streptomyces coelicolor* (Fernandes *et al.*,2021).

Une étude complète sur les pigments produits par les actinobactéries au cours des dix dernières années est présentée dans **le tableau 8**. Ce tableau met en évidence la diversité des pigments produits par les actinobactéries, en montrant non seulement une variété de couleurs allant du rouge et orange au bleu, jaune et noir, mais aussi leur activité biologique significative, incluant des effets antioxydants, antibactériens, antifongiques et antitumoraux. (Diez *et al.*,2025).

**Tableau 8** : Espèces d'actinobactéries et les pigments qu'elles produisent, accompagnés de leurs bioactivités et applications potentielles (Diez *et al.*,2025).

<b>Classe chimique</b>	<b>Espèce</b>	<b>Nom du pigment</b>	<b>Application bioactive</b>
<b>caroténoïde</b>	<i>Micromonospora</i> <i>sp.</i> SH-82, <i>Salinispora tropica</i> CNB-440	Sioxanthin (Orange)	Antioxydants
	<i>Corynebacterium</i> <i>Glutamicum</i> , <i>rhodococcus sp.</i>	Astaxanthin (Rouge)	N.R (non rapporté)
	<i>Micrococcus luteus</i>	Sarcinaxanthine (Orange)	Antibactérien, antifongique, anticancer, Antioxydant
	<i>Arthrobacter agilis</i> NP 20	Bactériorubérine (Rouge)	Antioxydant

**Chapitre II : les molécules bioactives produites par les actinobactéries**

	<i>Gordonia jacobae a MV-1</i>	Ketocarotenoïde All-trans- canxanthine (4,4'- diketo-beta carotène) (Rouge)	Anti-UV, modulateur de la fluidité membranaire, - antioxydant (ROS)
	<i>Gordonia terrae</i> TWRH01	Adonixanthine 3'- beta-D-glucoside (Orange, Rouge)	N.R.
<b>Polyketide</b>	<i>Streptomyces</i> sp. EG1	Tetracenomycine D (bleue) Resistomycin (orange) Resistoflavin (June)	Antibiofilme
<b>prodiginine</b>	<i>Streptomyces</i> sp. SNA-077 <i>Streptomyces</i> sp. BSE6.1, <i>Streptomyces</i> sp. JAR6	Undecylprodigiosin (Rouge)	Antitumore Immunosuppressor Antifungal Antimalarial
	<i>Streptomyces violaceoruber</i> CT-F61	Decylprodigiosin (Rouge)	Anticancer, antipathogène
<b>Anthraquinone</b>	<i>Actinomyces</i> sp AW6		

## Chapitre II : les molécules bioactives produites par les actinobactéries

	<i>Streptomyces lydicus</i> PM7, <i>Streptomyces coelicolor</i>	Actinorhodine (Rouge- bleu)	Antibactiric
<b>Flavonoide</b>	<i>Streptomyces cavuligerus</i>	Naringenine chalcone (Rouge-maron)	N. R
	<i>S. griseorubiginosus</i>	Flavone (Rouge)	Antimicrobie Antioxydant
<b>Melanine</b>	<i>Nocardiosis sp</i>	Pyomelanine (Maron foncée)	Cytotoxicity Antioxydant Antimicrobial Drug bind anticancer
<b>Bis-indole</b>	<i>Streptomyces</i>	Akashin A	N.R.
<b>Alkaloide</b>	<i>Sp. F001</i>	(Bleu)	



**Figure13** : Production des métabolites secondaires pigmentés par des colonies de *Streptomyces* (Selim *et al.* ,2021)

#### **4. Les nouvelles stratégies d'amélioration de la production de molécules bioactives à partir d'actinobactéries**

La production de métabolites bioactifs par les actinobactéries dépend de plusieurs facteurs, notamment la nature de sources de carbone et d'azote, qui influencent fortement le métabolisme secondaire. Le pH joue également un rôle crucial dans l'isolement, en particulier pour les espèces acidophiles comme *Acidobacterium capsulatum*. L'ajustement du pH et l'ajout de sels de calcium aux milieux de culture ont permis d'isoler efficacement des actinobactéries rares, notamment dans des environnements spécifiques tels que les grottes karstiques (Koech *et al.*,2025).

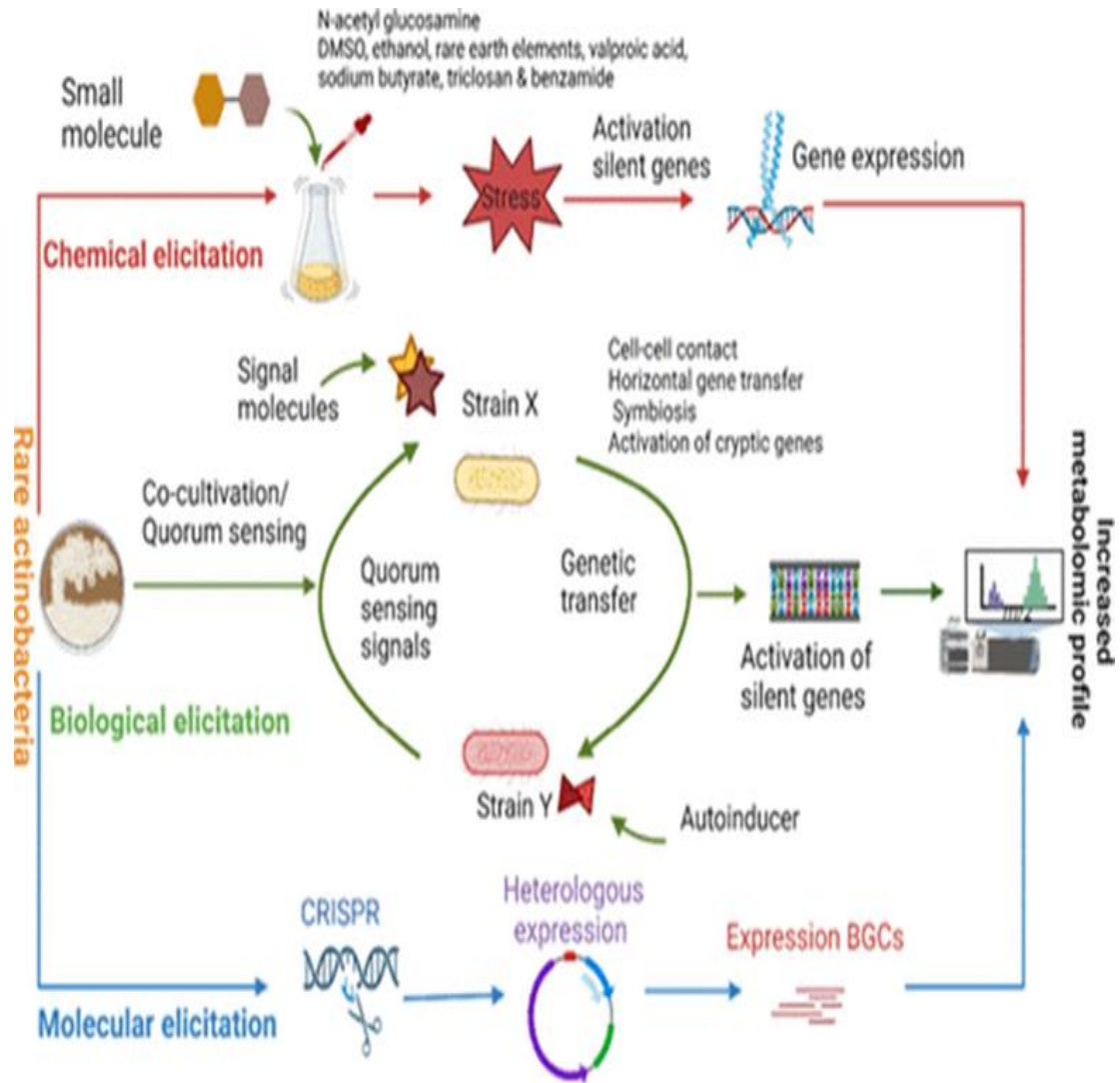
La température est un autre facteur clé, avec une croissance optimale observée autour de 28 °C, notamment pour les souches sporulées. De plus, les conditions de culture (milieu solide, liquide, statique ou submergé) influencent significativement l'expression métabolique. La culture submergée permet une meilleure oxygénation et un contact accru avec les nutriments, ce qui stimule l'activation de gènes fonctionnels et favorise la biosynthèse de composés

bioactifs. Cependant, le choix du type de culture, de la technique et du solvant d'extraction est déterminant pour la qualité et la diversité des métabolites récupérés (Koech *et al.*,2025).

### • **Élicitation chimique**

L'élicitation des actinobactéries pour activer des groupes de gènes biosynthétiques silencieux afin de produire des métabolites bioactifs est l'une des stratégies poursuivies par les chercheurs en produits naturels microbiens. Il a été démontré que les modifications physiques et chimiques des milieux de croissance peuvent modifier la vitesse à laquelle certains gènes sont transcrits et peuvent induire l'expression de groupes de gènes biosynthétiques (BGC) qui seraient normalement supprimés dans des conditions de culture au laboratoire.

Les ajouts d'éléments minéraux et de solvants organiques, la N-acétylglucosamine par exemple, sont considérés comme des signaux métaboliques qui peuvent induire la synthèse d'antibiotiques et la différenciation morphologique chez les actinobactéries lorsqu'ils sont appliqués directement aux milieux de culture cellulaire. La **Figure 14** montre comment des actinobactéries peuvent être induites pour augmenter leur profil métabolomique par des approches chimiques, biologiques et de coculture (Koech *et al.*,2025).



**Figure 14 :** Les stratégies d’amélioration de la production des molécules bioactives à partir d’actinobactéries (Koech *et al.*,2025).

- **Élicitation biologique**

La coculture (Co-culture) constitue une approche efficace pour stimuler la production de composés antimicrobiens, notamment par l’activation de gènes silencieux ou faiblement exprimés chez les actinobactéries. Cette technique se distingue par sa simplicité et son faible coût par rapport aux méthodes complexes de génie génétique et moléculaire (Koech *et al.*,2025).

Ce phénomène résulte d’interactions cellulaires directes ou de l’action de petites molécules telles que les autoinducteurs, les sidérophores et les molécules de détection de quorum

(Quorum Sensing – QS), ainsi que de processus comme l'activation enzymatique de précurseurs ou le transfert horizontal de gènes. L'interaction entre micro-organismes partageant le même environnement peut inhiber la production de certains métabolites tout en favorisant d'autres.

L'équipe de Hoshino a démontré l'efficacité de cette stratégie en isolant de nouveaux composés tels que les *myrilactames*, les *cutélobactines* et les *chojalactones* à partir de cocultures d'actinobactéries (**Figure 14** et **Tableau 9**). Par ailleurs, la coculture entre *Nocardia bhagyanarayanae* et la microalgue verte *Tetrademus obliquus* a conduit à la production d'acides gras oméga-3 essentiels, notamment l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide  $\alpha$ -linoléique (ALA). (Koech *et al.*,2025).

En ce qui concerne le quorum sensing (QS), il représente une cible importante dans la recherche de nouveaux composés bioactifs. Des inhibiteurs tels que l'émodine, l' $\omega$ -hydroxyrhéine, l'équisétine et les  $\alpha$ -pyridones ont montré leur capacité à perturber ce mécanisme, soulignant le rôle prometteur des métabolites microbiens dans la lutte contre les agents pathogènes (Koech *et al.*,2025).

- **Élicitation moléculaire**

L'exploration des génomes microbiens d'actinobactéries pour identifier les groupes de gènes biosynthétiques cryptiques responsables de la synthèse de métabolites inexprimés est d'une importance capitale et constitue un domaine de recherche prometteur pour la découverte de nouveaux composés bioactifs (Koech *et al.*,2025).

L'activation basée sur CRISPR (CRISPR/Cas) est une stratégie d'élicitation moléculaire pour réveiller les groupes de gènes biosynthétiques silencieux (BGC) chez les actinobactéries, tels que la polycétide synthase. Elle utilise dCas9 fusionné à des activateurs pour améliorer l'expression des BGC, permettant l'activation ciblée et la découverte de nouveaux métabolites à partir d'actinobactéries. (Koech *et al.*,2025).

Les stratégies actuelles comprennent la comparaison des métabolites bioactifs de mutants knockout avec le type sauvage d'actinobactéries à l'aide d'outils bioinformatiques, de l'expression de voies hétérologues, de l'imagerie MALDI-TOF et de la reconstitution *in vitro* des voies complète (Koech *et al.*,2025).

*Amycolatopsis japonicum* (actinobactérie) a été génétiquement manipulé par l'insertion d'un gène *bbr* codant pour l'activateur responsable de la biosynthèse du glycopeptide

balhimycine à partir d'*Amycolatopsis balhimycina*. Les résultats de la RMN et de la chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS) ont montré qu'*Amycolatopsis japonicum* génétiquement modifié produisait de la ristomycine A, qui n'était auparavant pas produite dans des conditions normales du laboratoire (Figure 14) (Koech *et al.*,2025).

**Tableau 9 :** Actinobactéries rares cultivées (Koech *et al.*,2025).

Souches ( strain)	Inducteur	Composé induit	Activité
<i>Nocardiopsis sp.</i>	<i>Rhodococcus Wratilaviensis</i>	Ciromicines A et B	Cytotoxicité
<i>Micromanaspota sp.</i>	<i>Rhodococcus sp.</i>	Keyicine	Antibactérienne
<i>Microrumaspota sp.</i>	<i>Takamurella pulmonis</i>	Dracolactames A et B	Antibactérienne
<i>Catenulaplana sp.</i>	<i>Takamurella pulmonis</i>	Catenalobactines A et B	Sidérophore
<i>Pseudonocardiales Umezawaca sp.</i>	<i>Takamurella pulmonis</i>	Umezawamides A et B	Cytotoxique
<i>Actinorynnona mirun</i>	<i>Takamurella pulmonis</i>	Mirilactames C, D, E	Inconnu
<i>Nocardiopsis sp.</i>	<i>Actinokineospota sp.</i>	N-(2-Hydroxyphényl) acétamide 1,6-Dihydroxyphénazine 5a,6,11a,12-Tetrahydro-5a,11a-diméthyl (1,4) benzoxazino(3,2-b) (1,4) benzoxazine	Antibactérien et antitrypanosomal
<i>Rhodococcus fascians</i>	<i>Streptomyces padanes</i>	Rhodosterptomycines A et B	Antibactérienne
<i>Actinokineospota spheciospongiae</i>	<i>Rhodococcus sp.</i>	Actinosporine E Actinosporine G Actinosporine H	Antipaludique

		Tétragulol	
		Capillastérquinone B	
<i>Saccharomonospora</i> <i>sp.UR22</i>	<i>Dietzia sp.URxx</i>	Saccharomonosporine A,	Antiproliférative
		ConvolutamydineF,	Actibactérienne
<i>Micromanaspora</i> <i>sp.UA17</i>	<i>Gordonia sp. UA19,</i> <i>Nocardia sp.UA 23</i>	Chlorocardicine A,	Antifongique
		Néocopiomycine A	Antibactérienne
<i>Micronanaspora sp.</i>		1,6- Dicarborilate,	Cytotoxique
		Phéncomycine,	
		Tabermycine,	
		p- Anisamide	

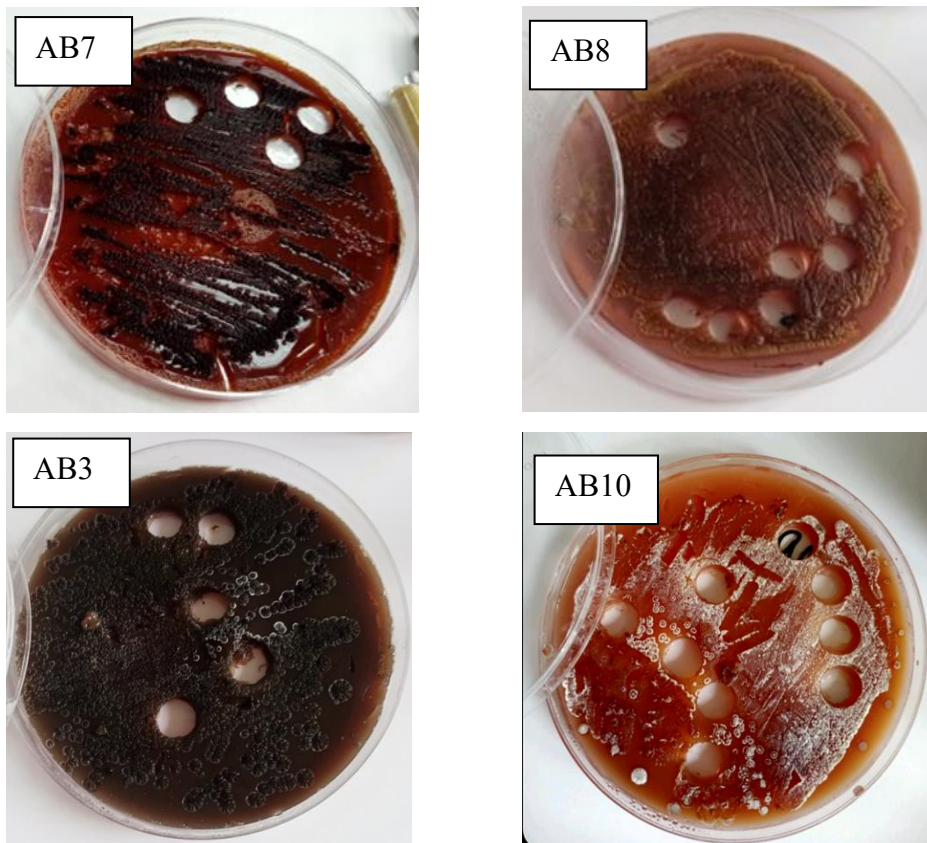
# **ETUDE EXPERIMENTALE**

## **I. Matériel et Méthodes**

### **1. Matériel biologique**

#### **1.1. Isolats d'actinobactéries**

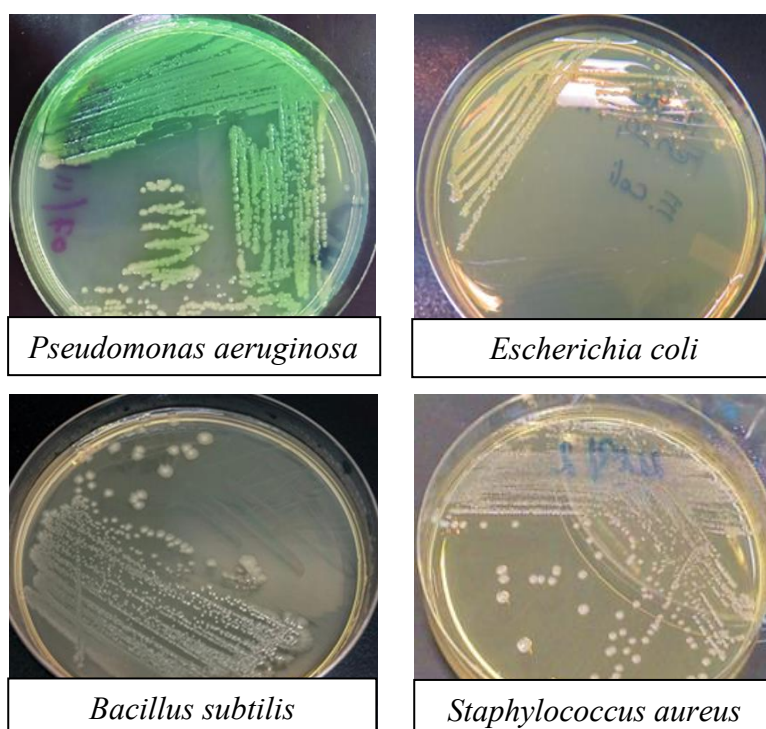
Les isolats étudiées d'actinobactéries, codés AB7, AB8, AB3 et AB10 ont été obtenus à partir d'un sol semi-aride de la wilaya de Tébessa. **(Figure15)**



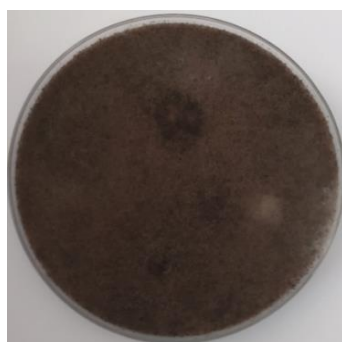
**Figur15 :** Les quatre isolats d'actinobactéries étudiés dans ce travail.

## 1.2. Souches Test

- L'activité antibactérienne a été testée contre des bactéries ATCC : *Escherichia coli* NCTC 10538, *Staphylococcus aureus* ATCC65 38, *Bacillus subtilis* ATCC 66 33, et *Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 86 26 (**Figure16**).
- Une souche d'*Aspergillus niger* ATCC 16404, a été utilisé comme champignon test pour la détermination de l'activité antifongique (**Figure17**).



**Figure 16 :** Les bactéries test utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne.



**Figure 17 :** Souche d'*Aspergillus niger* phytopathogène utilisée pour évaluation l'activité antifongique.

## **2.Méthodes**

### **2.1. Activité antibactérienne des isolats d'actinobactéries évaluer par la technique de cylindre d'agar**

À partir d'une culture de 24h sur gélose nutritive, une suspension de chaque bactérie test est préparée. Les isolats purs d'actinobactéries sont ensemencés sur milieu solide YMEA en stries très serrées, puis incubés pendant 7 jours à 30 °C. Par la suite, des cylindres de culture d'actinobactéries bien sporulées à raison de 108 spores/ml sont découpés stérilement, déposés à la surface du milieu Mueller Hinton (**Annexe1**) préalablement ensemencé par le germe cible. Les boîtes ensemencées sont maintenues à +4 0C pendant 2h avant d'être incubées pour permettre la diffusion des substances bioactives (Leulmi,2018).

### **2.2. Activité antifongique des isolats d'actinobactéries**

La capacité des isolats d'actinobactéries à inhiber le développement d'une moisissure phytopathogène *Aspergillus niger*, est déterminée sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA : Annexe 1), en utilisant la technique des cylindres d'agar. Un disque issu d'une culture pure de l'agent phytopathogène est déposé au centre de la boîte. Ensuite, des disques de l'actinobactérie sont placés parallèlement et autour à une distance de 3 cm du disque de champignon. Ces boîtes sont incubées à 30 °C pendant 14 jours (Leulmi,2018).

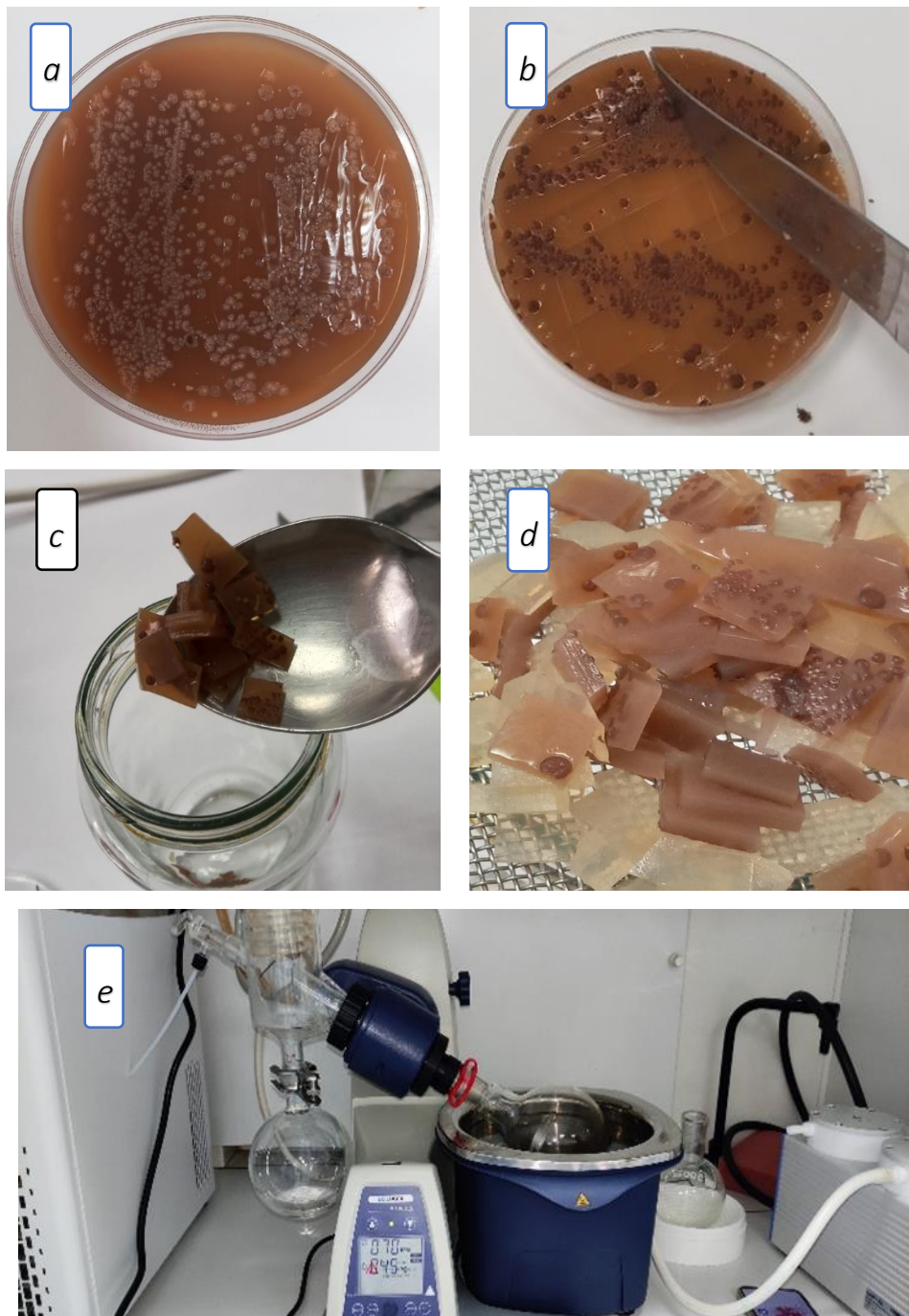
Des boîtes contenant justes le cylindre de champignon sont incubées dans les mêmes conditions, elles servent de contrôles. Après les périodes d'incubation, l'évaluation de l'inhibition est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition (I%) de la croissance mycélienne selon la formule suivante  $I\% : (C-T/C) \times 100$  où C : la croissance de la moisissure dans la boîte contrôle ; T : croissance d'*A. niger* en présence des souches étudiées (Leulmi,2018).

### **2.3. Extraction des molécules bioactives produites par les isolats d'actinobactéries**

En milieu YMEA gélosé, réparti en boîtes de Pétri, 20 boîtes pour chaque souche ont été, ensemencés en stries serrées. Après incubation à 30 °C pendant 7 jours, la gélose est fragmentée puis additionnée d'acétate d'éthyle (choisi comme meilleur solvant).

La macération est réalisée, 3 fois, afin de récupérer au maximum les molécules bioactives produites. Les extraits bruts sont filtrés puis concentrés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif

sous vide (à 40 C0) (**Figure18**), puis repris dans 1ml de MeOH dans le but de rechercher leurs activités antimicrobiennes par la technique de diffusion des disques de papier.



**Figure 18** : Les étapes de l'extraction des molécules bioactives : a ; la souche Actinobactérie après l'incubation, b ; la gélose est fragmentée, c ; La macération, d ; Filtration, e ; concentrés par l'évaporateur rotatif.

## **2.4. L'activité antimicrobienne des extraits des quatre isolats (AB7, AB8, AB3, AB10)**

Les extraits, obtenus à partir de culture de souches sur YMEA, sont testés leur sensibilité vis à vis des souches test en suivant la même technique des disques en papier. Ces disques sont imbibés par chaque extrait puis séchés au courant d'air chaud. Les disques sont ensuite déposés stérilement :

- À la surface des géloses PDA, préalablementensemencée par *Aspergillus niger*.
- À la surface Mueller-Hintonensemencé par écouvillon pour les souches bactériennes test.

Les boîtes sont ensuite mises 2H à 4°C pour permettre une pré-diffusion des substances bioactives puis incubées à 37 °C pour les bactéries, à 30°C pour le champignon. Toute zone d'inhibition de croissance autour des disques, même de faible diamètre, est considérée comme résultat positif.

## **2.5. Séparation des molécules bioactives de deux extraits sélectionnés provenant des isolats (AB7 et AB8)**

### **2.5.1. Chromatographie sur couches mince**

Afin d'identifier quelles étaient les molécules responsables de l'activité antibactérienne des extraits étudiés (AB7 et AB8), nous avons adapté une séparation sur CCM (Silica gel 60 F254 0,25mm Merck).

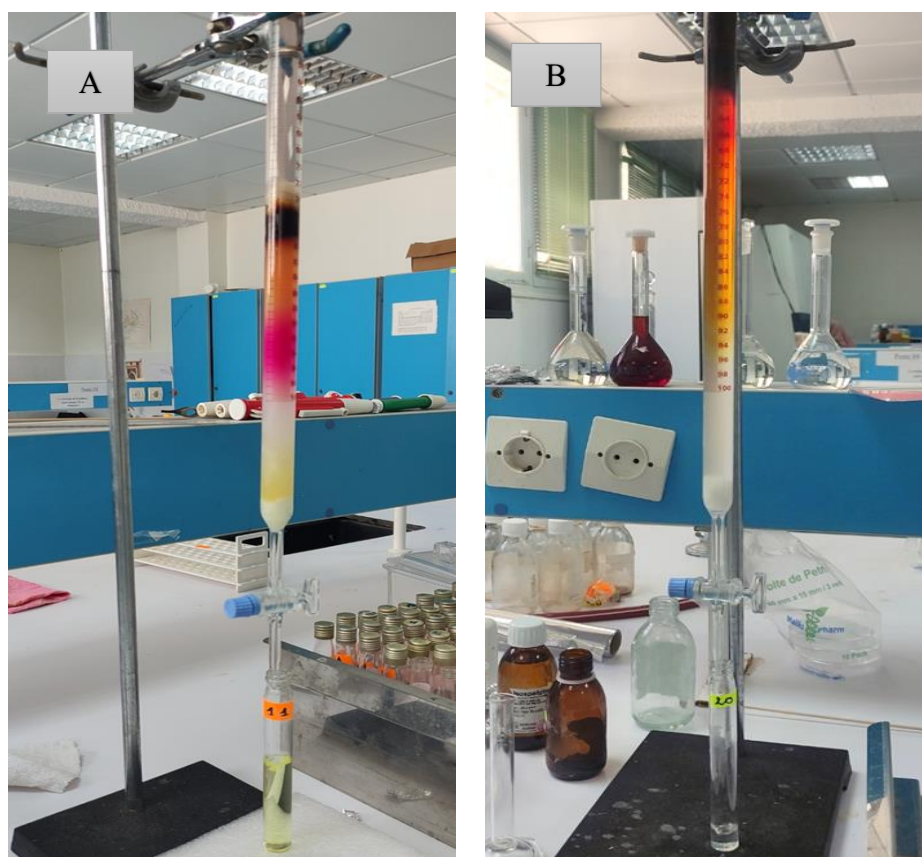
- Des microlitres de chaque extrait méthanolique de souches d'actinobactérie sont déposés au bas de la plaque CCM (5cm X 20 cm) sur une bande de 1 cm située à 1,5 cm du bord de la plaque. L'atmosphère de la cuve est saturée pendant 2 heures avec la vapeur du solvant choisi avant d'introduire la plaque.
- Les deux plaques ont ensuite été développées dans une cuve qui contient le système d'éluant (Ether de pétrole/ acétone 6/4) pour l'extrait AB7 et de (l'éther de pétrole/ chloroforme 7/3) pour l'extrait (AB8) jusqu'à ce que le front du solvant soit à 1 cm du haut de la plaque de CCM.
- Le solvant est éliminé soit par simple évaporation à température ambiante soit sous courant d'air chaud.
- Les spots apparaissent comme suit : une tache après visualisation sous UV si la molécule contient une unité chromophore ; une tache visible à l'œil nu pour les

pigments colorés et formation des taches brunes après une réaction d'oxydation (n'a pas été faite).

- Le rapport frontal est calculé après la séparation et la révélation qui s'effectuera sous lampe UV.

### 2.5.2. Chromatographie sur colonne

L'extraits bruts biologiquement actifs de deux isolats ont été fractionnés par chromatographie sur colonne en gel de silice élué par un gradient allant de 100% d'éther de pétrole jusqu'à 100% acétone puis 100 % acétone jusqu'à 100% méthanol pour l'extrait provenant de la souche AB7. Et de 100% éther de pétrole jusqu'à 100% chloroforme puis 100 % chloroforme jusqu'à 100% méthanol pour l'extrait provenant de la souche AB8. **La figure19** montre la séparation des extraits AB7 et AB8 par chromatographie sur colonne.



**Figure19** : La chromatographie sur colonne ; A : Séparation l'extrait de AB7, B : Séparation l'extrait de AB8.

## **2.6. Regroupement des fractions présumées identiques**

Afin de regrouper les fractions identiques, des CCM des fractions ont été réalisés dans les mêmes conditions que les extraits bruts

## **2.7. Activité antibactérienne et antifongiques des fractions obtenues**

Les fractions obtenues ont été testées par leurs activités antimicrobiennes en utilisant la technique de diffusion des disques en papier.

## **2.8. La bioautographie des fraction actives**

La bioautographie est une technique efficace utilisée pour détecter les composés à activité antimicrobienne directement après leur séparation chromatographique. Elle combine l'analyse chromatographique et le test biologique en plaçant le chromatogramme en contact direct avec un milieu géloséensemencé avec des micro-organismes cibles, permettant ainsi de localiser les substances actives par l'apparition de zones d'inhibition (Zhao *et al.*, 2023).

- Les chromatogrammes sont alors récupérés par grattage de la couche puis déposés délicatement à la surface de la gélose. Après 2 heures à 4°C les boîtes sont incubées. Les zones d'inhibition ont été notées après écoulement de la durée d'incubation.

## II. Résultats et discussion

### 1. Activité antibactérienne des isolats d'actinobactéries étudiés dans ce travail

L'évaluation de l'activité antibactérienne des isolats AB3, AB10, AB7 et AB8 a révélé des résultats variables selon la souche bactérienne cible. Comme l'indique le **tableau 10**, certains isolats ont montré une activité inhibitrice marquée contre certaines souches, tandis qu'aucune zone d'inhibition n'a été observée pour les autres souches pathogènes.

Les résultats montrent que les isolats AB3, AB7 et AB8 ont présenté une activité inhibitrice contre *Bacillus subtilis*, avec des diamètres de zones d'inhibition de 18 mm, 20 mm et 15 mm respectivement, ce qui témoigne de leur capacité à produire des composés bioactifs efficaces contre cette souche. L'isolat AB10, quant à lui, a montré une activité spécifique contre *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre d'inhibition de 15 mm. En revanche, aucun des quatre isolats n'a montré d'effet contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, aucune zone d'inhibition n'ayant été observée autour des disques.

Les isolats d'actinobactéries étudiés ont montré une variabilité marquée dans leur activité antibactérienne. Cette diversité peut être attribuée aux différences génétiques et fonctionnelles entre les isolats, qui influencent directement la nature et la quantité des métabolites secondaires produits. Ces métabolites jouent un rôle crucial dans les interactions microbiennes et sont à l'origine de nombreuses molécules bioactives d'intérêt thérapeutique. En effet, il a été démontré que les actinobactéries sont responsables de la production d'environ 70 % des antibiotiques naturels utilisés actuellement en médecine humaine, soulignant ainsi leur rôle essentiel dans la lutte contre les maladies infectieuses (Barka et al., 2016).

**Tableau10** : Activité antibactérienne des isolats d'actinobactéries.

Les isolats	Diamètre d'inhibition (mm)			
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>E. coli</i>
<b>AB3</b>	18	-	-	-
<b>AB10</b>	-	15	-	-
<b>AB7</b>	20	-	-	-
<b>AB8</b>	15	-	-	-

## 2. Activité antifongique des isolats d'actinobactérie

L'activité antifongique de quatre isolats d'actinobactéries (AB3, AB7, AB8, AB10) a été évaluée contre le champignon pathogène *Aspergillus Niger*, en utilisant la méthode des cylindres sur milieu PDA. Les diamètres de croissance mycélienne ont été mesurés en présence et en absence des extraits, permettant ainsi le calcul du pourcentage d'inhibition.

Le **tableau 11** montrent que les isolats AB3 et AB10 ont induit une inhibition notable de la croissance fongique, avec des pourcentages d'inhibition de 43,82 % et 55,06 % respectivement. En revanche, aucune activité antifongique n'a été observée pour les isolats AB7 et AB8. La **figure 20** illustre visuellement l'inhibition de la croissance d'*Aspergillus niger*.

L'absence d'activité antifongique observée chez certaines isolats étudiées, telles que AB7 et AB8, peut être expliquée par divers facteurs biologiques et environnementaux. Bien que les actinobactéries soient largement reconnues pour leur capacité à produire une grande variété de composés bioactifs, notamment des antibiotiques, cette capacité n'est pas universelle à tous les isolats. En effet, la production de métabolites secondaires antifongiques dépend fortement du profil génétique de chaque souche ainsi que des conditions environnementales liées à leur culture. À ce sujet, Lee et al. (2020) ont souligné que la capacité à produire des composés antifongiques est régulée par des facteurs internes, tels que les voies métaboliques et les clusters de gènes biosynthétiques, ainsi que par des conditions externes, comme le type de milieu de culture, la température et les conditions d'incubation, qui peuvent moduler l'expression de ces gènes (Lee et al., 2020).

**Tableau 11** : Activité antifongique des isolats d'actinobactéries.

Les isolats	Diamètre de croissance de contrôle (mm)	Diamètre de croissance des isolats (mm)	Le pourcentage d'inhibition (I%)
AB3	89	50	43,82
AB10	89	40	55,06
AB7	89	89	0
AB8	89	89	0

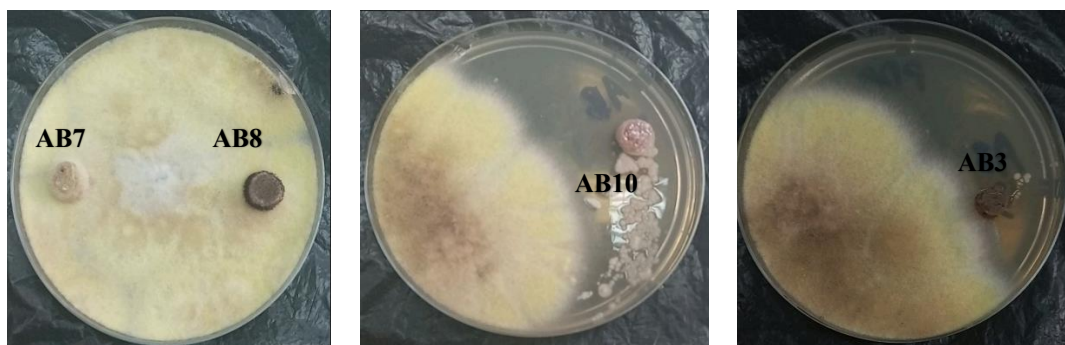


Figure 20 : Activité antifongique des isolats contre *Aspergillus niger* dans le milieu PDA.

### 3. Activité antimicrobienne des extraits des isolats étudiés

#### 3.1. Activité antibactérienne des extraits des isolats d'actinobactéries

Les extraits bruts obtenus à partir des isolats d'actinobactéries AB3, AB10, AB7, AB8 ont été évalués pour leur activité antibactérienne selon la méthode de diffusion sur disque, contre quatre souches bactériennes de référence : *Bacillus subtilis* ATTC 66 33, *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38, *Escherichia coli* NCTC 10538 et *Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 86 26.

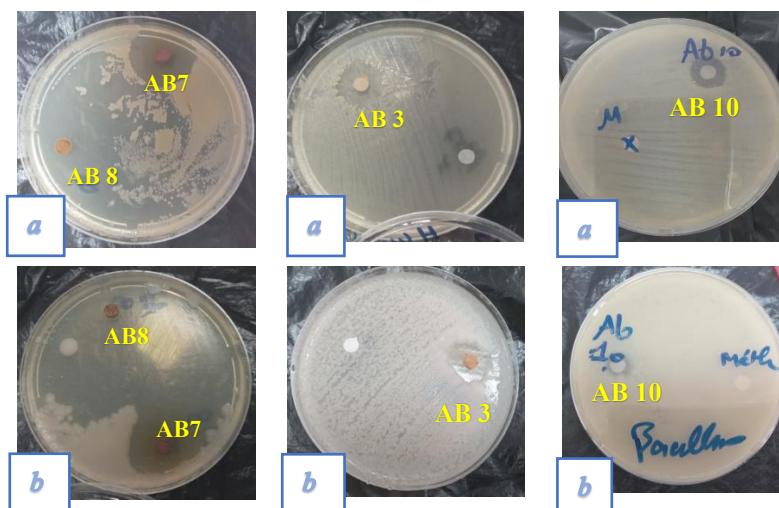
Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) ont été mesurés après 24 heures d'incubation à 37 °C, comme illustré dans le **Tableau 12**.

Les résultats indiquent que les extraits des isolats AB7 et AB8 présentent une activité antibactérienne plus marquée, en particulier contre les bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (**Figure 21**), avec des diamètres de zone d'inhibition atteignant respectivement 25 mm et 25 mm pour AB7, et 20 mm et 55 mm pour AB8 respectivement. En revanche, une absence d'activité contre les bactéries à Gram négatif *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui est cohérent avec la résistance naturelle accrue des bactéries Gram négatif en raison de la structure particulière de leur membrane externe.

**Tableau 12** : Activités antibactérienne des extraits des isolats d'actinobactéries.

Les extraits d'isolats	Diamètre d'inhibition (mm)			
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>E. coli</i>
AB3	17	22	-	-

AB10	10	14	-	-
AB7	25	25	-	-
AB8	55	20	-	-



**Figure21** : Les zones d’inhibition pour chaque extrait : a ; contre *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38, b ; contre *Bacillus subtilis* ATCC 66 33.

### 3.2. Activités antifongiques des extraits provenant des isolats d’actinobactéries

L’activité antifongique des extraits a été évaluée contre *Aspergillus Niger* par la technique de diffusion. Les résultats montrent que les extraits des isolats AB7 et AB8 n’ont présenté aucune activité antifongique. Cependant, les extraits prvenant des isolats AB3 et AB10 ont induit une inhibition notable de la croissance fongique (**Figure 22**). Ces résultats suggèrent que les isolats AB7 et AB8 sont probablement dépourvues de métabolites antifongiques actifs dans les conditions expérimentales utilisées.

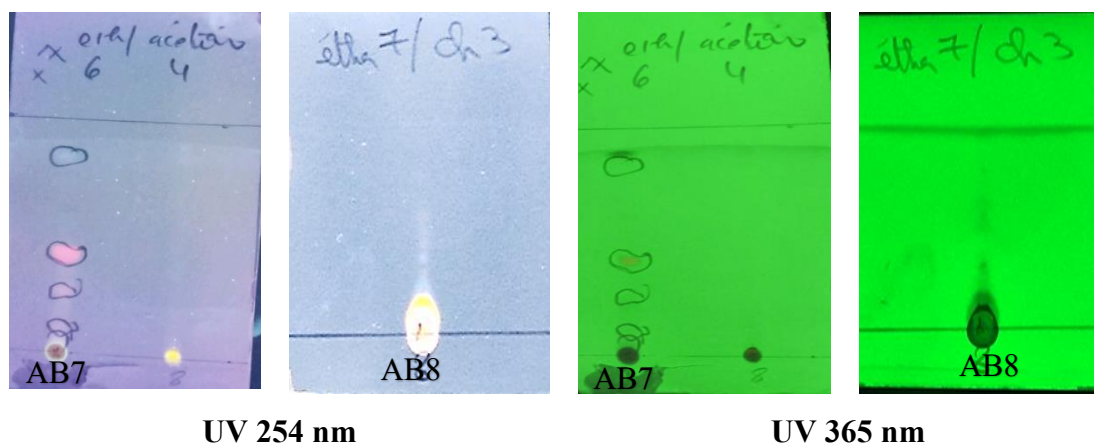


**Figure22** : Activités antifongiques (*Aspergillus Niger*) des extraits provenant des isolats étudiés dans ce travail.

#### 4. Séparation des molécules bioactives des deux extraits sélectionnés pour les isolats (AB7 et AB8)

##### 4.1. Chromatographie sur couches mince

La CCM des extraits méthanoliques des extraits AB7 et AB8 a été révélée la présence de plusieurs taches distinctes sous la lampe UV (254 nm et 365 nm) (**Figure 23**), indiquant la diversité métabolites secondaires produits par AB7 et AB8.



**Figure 23** : CCM des extraits AB7 et AB8 sous la lampe UV.

##### 4.2. Chromatographie sur colonne

Les extraits bruts méthanoliques des isolats AB7 et AB8, sélectionnés pour leur activité antimicrobienne marquée, ont été soumis à une séparation par chromatographie sur colonne sur gel de silice afin de purifier les composés bioactifs. Deux systèmes d'élution par gradients de polarité croissante ont été appliqués pour chaque extrait, permettant la récupération de fractions distinctes.

• **Pour l'extrait provenant de l'isolat AB7**, un gradient allant de 100 % éther de pétrole à 100 % acétone a été suivi par un second gradient de 100 % acétone à 100 % méthanol. Cette procédure a permis l'obtention de 56 fractions :

- Les fractions 1 à 38 ont été récupérées durant l'élution éther/acétone, correspondant à des composés de faible à moyenne polarité.
- Les fractions 39 à 56 ont été obtenues durant l'élution acétone/méthanol, riches en composés polaires.
- Ces résultats sont illustrés dans **la Figure 24**, qui montrent l'ensemble des fractions collectées de l'extrait provenant de l'isolat AB7.

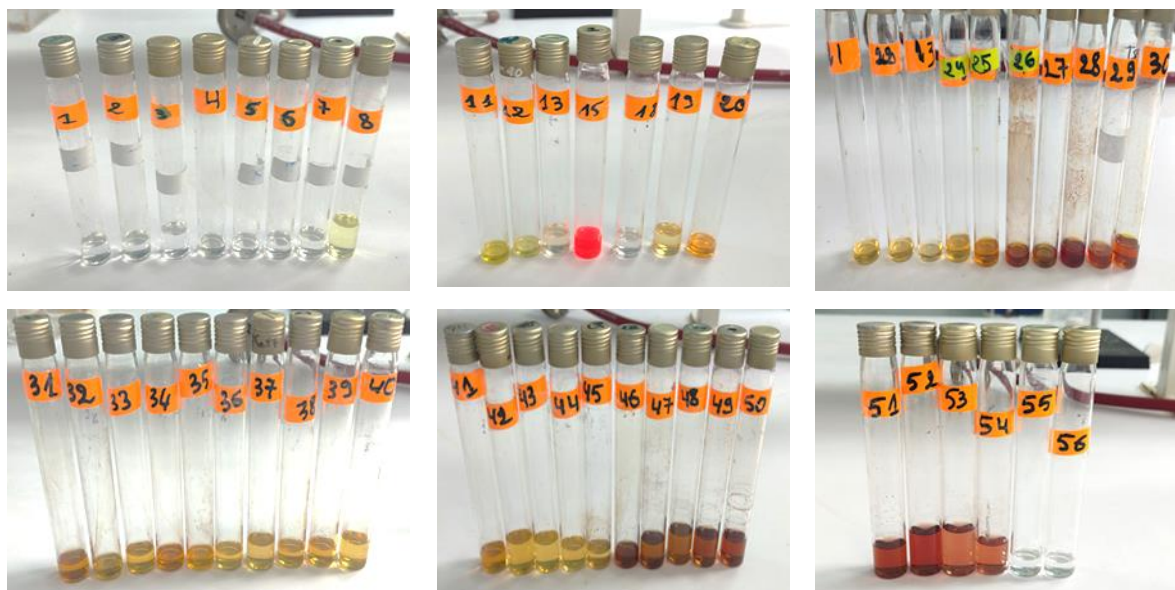
• Concernant l'extrait provenant de l'isolat AB8, deux gradients ont été utilisés : d'abord 100 % éther de pétrole à 100 % chloroforme, suivi de 100 % chloroforme à 100 % méthanol. Cela a permis de collecter 40 fractions, réparties comme suit :

-Les fractions 1 à 20 (élution éther/chloroforme) ont montré des teintes plus claires, indiquant des composés peu polaires.

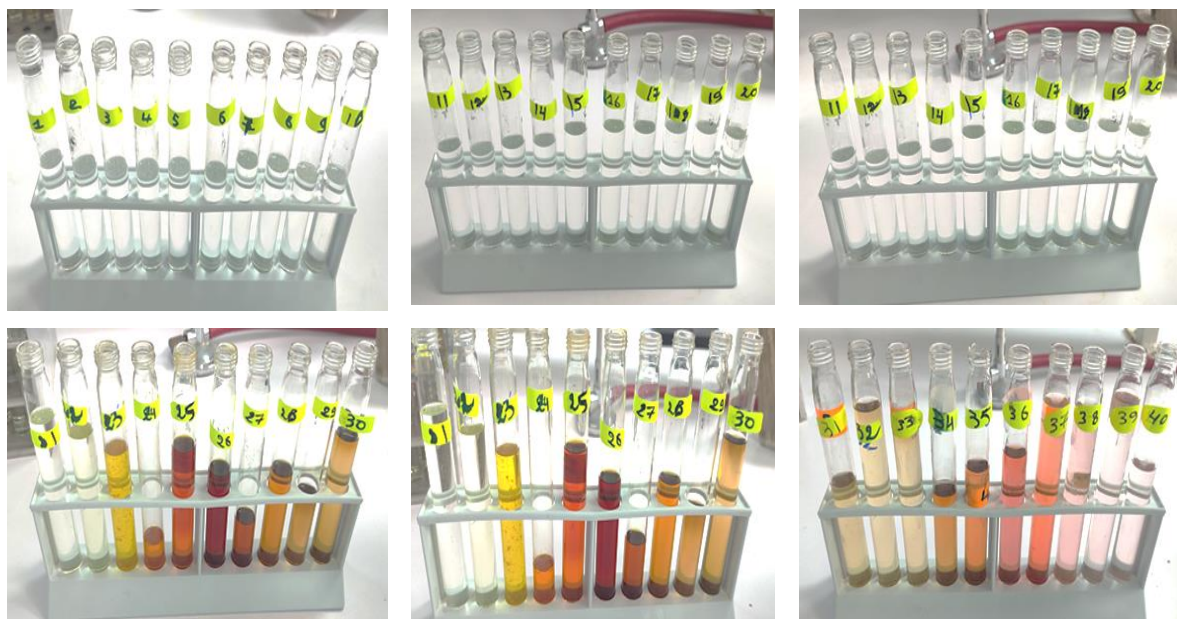
-Les fractions 21 à 40 (élution chloroforme/méthanol) étaient plus foncées, associées à des composés polaires.

-La diversité des profils visuels entre les fractions obtenues est illustrée dans la **Figure 25**, montrant l'ensemble des fractions issues de l'extrait AB8.

La prochaine étape consiste à cribler ces fractions individuellement afin d'identifier celles responsables de l'activité antimicrobienne observée dans les extraits bruts.



**Figure 24** : Les fractions provenant de l'extrait AB7 séparées par chromatographie sur colonne.



**Figure 25 :** Les fractions provenant de l'extrait AB8 séparées par chromatographie sur colonne.

## 5. Regroupement des fractions présumées identiques

Une analyse chromatographique sur couche mince (CCM) a été réalisée sur les fractions obtenues par chromatographie sur colonne des isolats AB7 et AB8, afin de détecter la présence de composés actifs et de regrouper les fractions présentant des caractéristiques similaires. Chaque fraction a été déposée sur des plaques de gel de silice, puis exposée à des rayons ultraviolets à des longueurs d'onde de 254 nm et 365 nm. Les résultats, documentés dans le **Tableau 13** pour AB7 et le **Tableau 14** pour AB8, ainsi que dans **les figures 26 à 29** (plaques CCM sous UV), ont montré des différences notables en termes de nombre de taches, de couleurs et d'intensité d'absorption, ce qui a été utilisé pour classer et regrouper les fractions.

**Pour l'isolat AB7**, les fractions 1 à 7, 12 à 14, 21, ainsi que les intervalles de 40 à 45 et de 47 à 56 n'ont montré aucune tache visible, indiquant l'absence de composés détectables, et ont donc été exclues du classement. Les fractions 8 à 10 ont montré le même nombre de taches et la même couleur (orange clair), ce qui justifie leur regroupement. De même les fractions 15 à 17, d'un autre côté les fractions 18 et 19 ont été regroupées en raison de leur similitude en nombre et en nature de taches. Alors, on trouve les fractions identiques pratiquement contenant les mêmes molécules ont été regroupées à l'aide de la CCM : F8(F8+ F9+F10) et F15(F15+F16 +F17) et F19(F18 + F19).

Les fractions 31 à 33 ont été regroupées, ainsi que les fractions 34 à 39, en raison de leur proximité en termes de nombre de taches et de leur couleur orange. Les autres fractions qui ont présenté des motifs uniques en termes de nombre ou de couleur des taches ont été analysées individuellement.

**Concernant l'isolat AB8**, les fractions de 1 à 22, ainsi que les fractions 39 et 40, n'ont montré aucune tache visible sous les rayons ultraviolets, indiquant l'absence de composés détectables, et ont donc été exclues du classement. Les fractions de 23 à 28 ont montré des taches variées en termes de nombre, de couleur ou d'intensité, et n'ont donc pas été regroupées, chaque fraction ayant été analysée indépendamment. En revanche, les fractions de 29 à 38 ont montré un motif similaire de taches orange, ce qui a permis de les regrouper.

Ces résultats permettent de conclure que les isolats AB7 et AB8 contiennent une variété de composés chimiques qui pourraient être responsables de l'activité biologique observée. Les fractions ayant montré des couleurs variées peuvent contenir des composés biologiquement actifs contre les bactéries ou les champignons, ce qui nécessite des études supplémentaires pour purifier ces composés et analyser plus en détail leur activité.

**Tableau 13** : Résultats de la chromatographie sur couche mince des fractions de l'extrait l'isolat AB7.

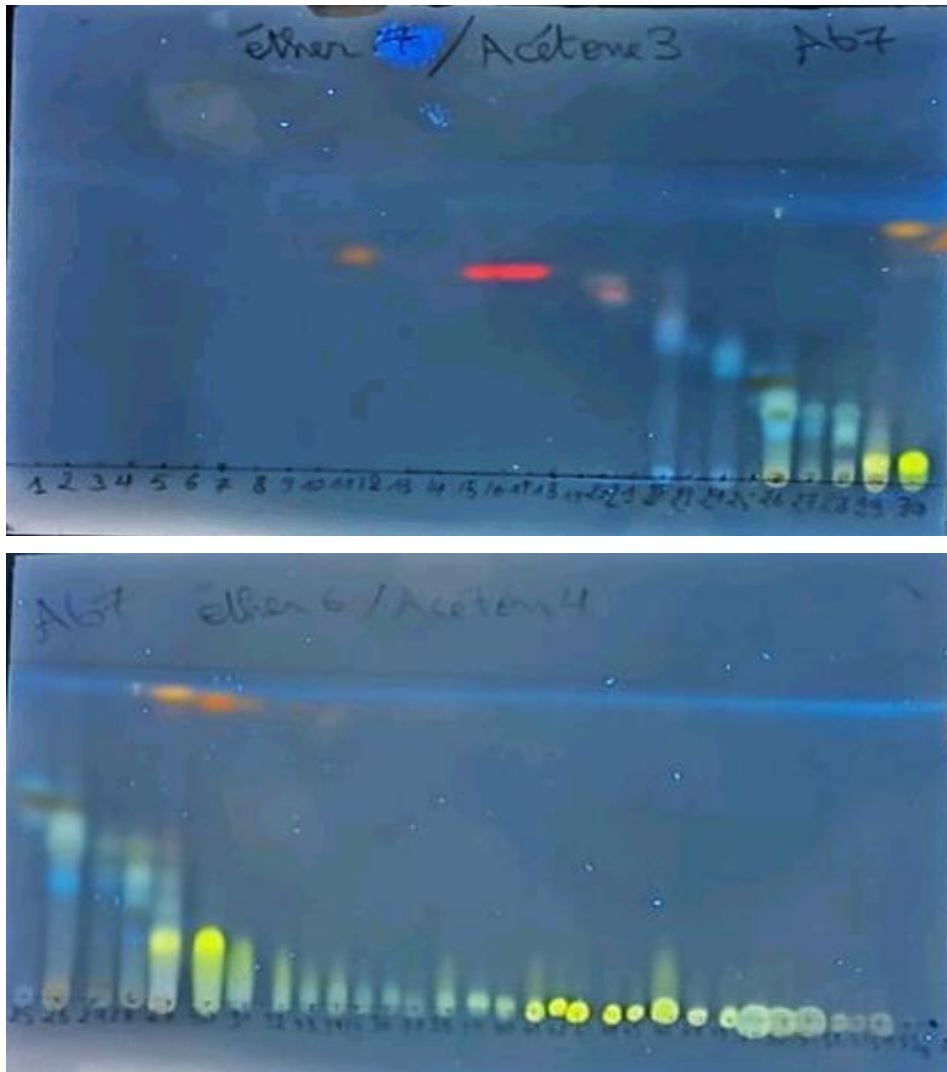
Fractions AB7	UV à 365 nm			UV à 254 nm	
	Absorbance	Nbr des taches	Couleurs	Absorbances	Nbr des taches
<b>1 à 7</b>	-	0	Aucune	-	0
<b>8,9,10</b>	-	0	Aucune	+	1
<b>11</b>	+	1	Orange	+	1
<b>12 ,13,14</b>	-	0	Aucune	-	0
<b>15,16,17</b>	+	1	Rose foncé	+	1
<b>18,19</b>	+	1	Blanc claire	-	0
<b>20</b>	+	2	1Rose claire, 1Blanc	+	1
<b>21</b>	-	0	Aucune	-	0
<b>22</b>	+	2	1Bleu claire,1 blanc	+	2
<b>23</b>	+	1	Blanc	-	0
<b>24</b>	+	3	1Vere claire, 1blanc, 1maron	+	3

25	+	3	2Blanc,1 Maron		
26	+	5	1Maron, 3blanc, 1bleu claire	+	3
27	+	2	1blanc,1 bleu claire	+	1
28	+	5	1June, 2 blancs, 1marone claire, 1 bleu claire	+	3
29	+	5	1 June, 2 blancs, 1 rose claire, 1 orange	+	3
30	+	2	1Orange, 1june	+	1
31,32,33	+	1	Orange claire	-	0
34 à 39	+	1	Orange claire	+	1
40 à 45	-	0	Aucune	-	0
46	+	1	Orange claire	-	0
47 à 56	-	0	Aucune	-	0

**Tableau 14 :** Résultats de la chromatographie sur couche mince des fractions de l'extrait l'isolat AB8.

Fractions AB8	UV à 365 nm			UV à 254 n m	
	Absorbance	Nbr des taches	Couleurs	Absorbance	Nbr des taches
1 à 22	-	0	Aucune	-	0
23	+	3	1 orange foncé, 2 orange claire	+	1
24	+	4	Orange	+	4
25	+	6	4 orange claire 1 orange foncé 1 blanc	+	6
26	+	4	1 orange foncé, 2 orange claire, 1 blanc	+	3
27	+	3	1 Orange foncé, 2 Orange claire	+	1
28	+	2	Orange claire	+	1

29 à 38	+	1	Orange claire	-	0
39, 40	-	0	Aucune	-	0



**Figure 26** : Plaques CCM des fractions de l'isolat AB7 observées sous UV à 254 nm.

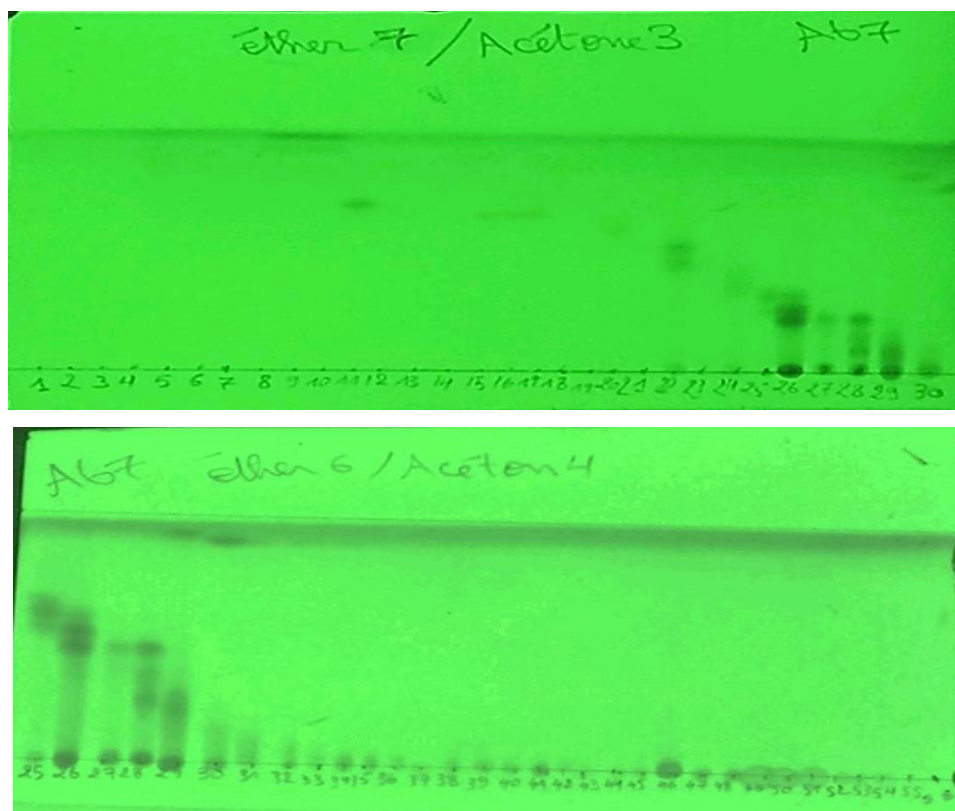


Figure 27 : Plaques CCM des fractions de l'isolat AB7 observées sous UV 365nm.

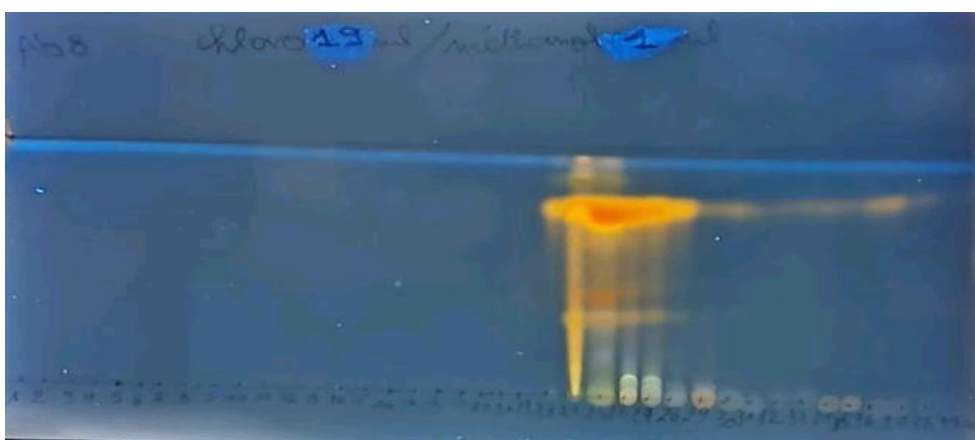
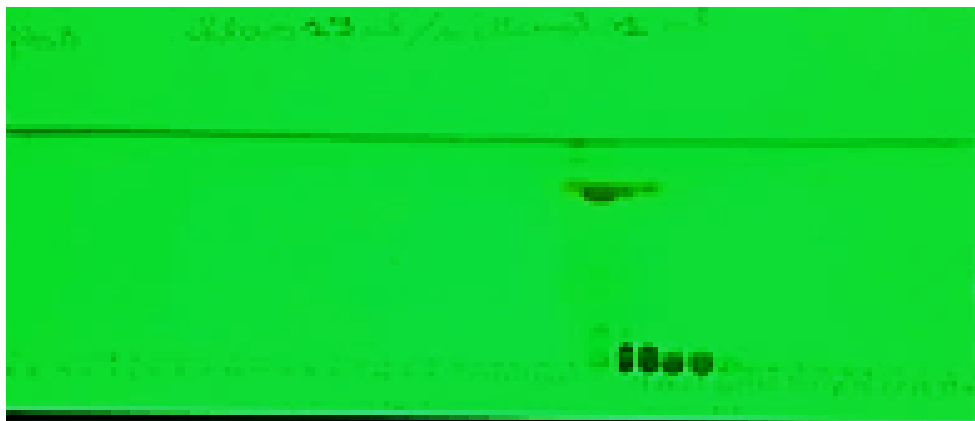


Figure 28 : Plaque CCM des fractions de l'isolat AB8 observées sous UV à 254 nm .



**Figure 29** : Plaque CCM des fractions de l'isolat AB8 observées sous UV à 365nm.

## 6. Activité antibactérienne et antifongiques des fractions obtenues

Dans cette étude, l'activité biologique des fractions issues des isolats AB7 et AB8, a été évaluée après séparation par chromatographie sur colonne. Les tests ont été réalisés contre deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, ainsi que contre le champignon pathogène *Aspergillus niger*.

Pour la souche AB7, les résultats, présentés dans le **tableau15** et la **figure 30**, montrent que les fractions allant de 8 ,12 ,15 ,19, 20 et 21, ainsi que les fractions 23, 24 et de 31 34,37, 40, n'ont présenté aucune activité antimicrobienne ni antifongique. En revanche, les fractions 22 et 27 ont montré une activité spécifique contre *S. aureus*, tandis que les fractions 25, 26, 28 et 29 ont démontré une activité contre *S. aureus* et *B. subtilis*. Et La fraction 30 était active uniquement contre *B. subtilis*. Cependant, aucune fraction de AB7 n'a montré d'activité antifongique contre *Aspergillus niger*.

Concernant l'isolat AB8, comme illustré dans le **tableau16** et la **figure31**, les fractions 6, 8, 12, 17, 20 et 22 étaient inactives. Par contre, les fractions 23,24, 25, 27 et 36 ont montré une activité antibactérienne contre *S. aureus* et *B. subtilis*. Les fractions 30,32,34 et 37 ont activé contre *S. aureus*. Aucune des fractions de AB8 n'a montré d'activité antifongique contre *Aspergillus niger*.

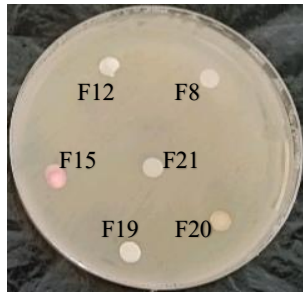
**Tableau 15 :** Activité antimicrobienne des fractions AB7 obtenues.

Les fractions De AB7	Activité antimicrobienne		Activité antifongique
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	
8	-	-	-
12	-	-	-
15	-	-	-
19	-	-	-
20	-	-	-
21	-	-	-
22	+	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-
25	+	+	-
26	+	+	-
27	+	-	-
28	+	+	-
29	+	+	-
30	-	+	-
31	-	-	-
34	-	-	-
37	-	-	-
40	-	-	-

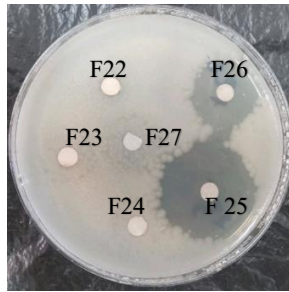
**Tableau 16 :** Activité antimicrobienne des fractions AB8 obtenues par chromatographie sur colonne.

Les fractions De AB8	Activité antimicrobienne		Activité antifongique
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	
6	-	-	-
8	-	-	-
12	-	-	-
17	-	-	-
20	-	-	-
22	-	-	-
23	+	+	-
24	+	+	-
25	+	+	-
27	+	+	-
30	+	-	-
32	+	-	-

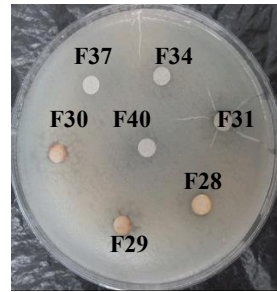
34	+	-	-
36	+	+	-
37	+	-	-



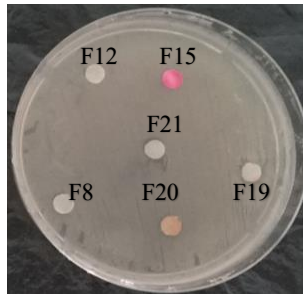
*Bacillus*



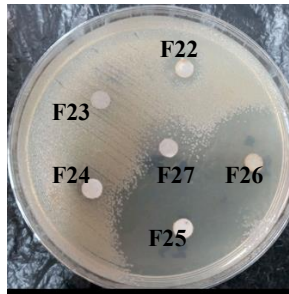
*Bacillus*



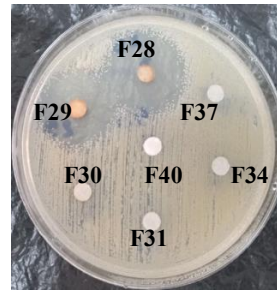
*Bacillus*



*S. aureus*

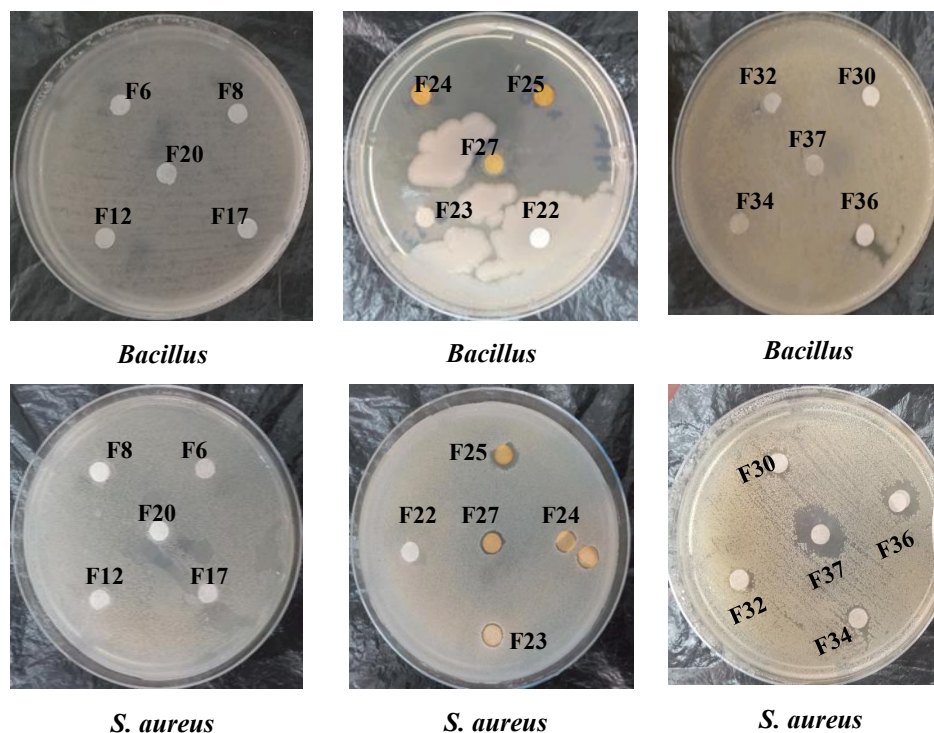


*S. aureus*



*S. aureus*

**Figure 30 :** Activité antibactérienne des fractions AB7 contre *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38, et *Bacillus subtilis* ATTC 66 33.



**Figure 31** : Activité antibactérienne des fractions AB8 contre *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38, et *Bacillus subtilis* ATTC 66 33.

### 7. Les résultats de la bioautographie des fractions actives

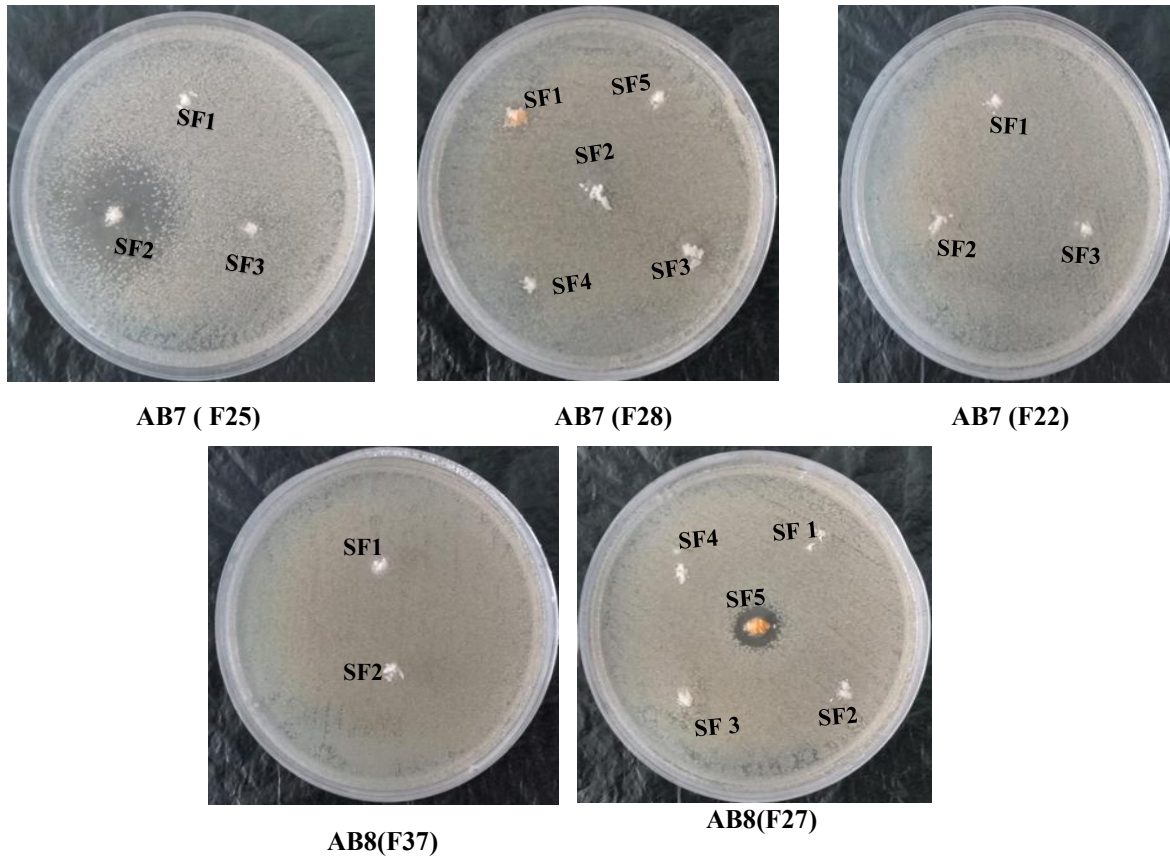
La technique de bioautographie a été appliquée aux sous-fractions obtenues par chromatographie sur colonne classique (CCM) des fractions actives issues des isolats d'actinobactéries AB7 et AB8, en vue de détecter les composés présentant une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*. La majorité des sous-fractions testées n'a montré aucune activité inhibitrice, à l'exception de la sous-fraction 2 de la fraction 25 (AB7) et de la sous-fraction 5 de la fraction 27 (AB8). Les valeurs de rapport frontal (RF) ont été calculées lors de CCM pour les sous-fractions actives contre *Staphylococcus aureus*, et étaient respectivement de 0,66 et 0,72. En revanche, les sous-fractions issues des fractions, F22, F28 (AB7) et F37 (AB8) n'ont montré aucun effet inhibiteur (**Figure32**). Ces résultats ont été présentés dans le **Tableau17**, indiquant l'activité antibactérienne observée pour chaque sous-fraction.

La bioautographie s'est révélée extrêmement efficace pour la détection rapide et précise des molécules bioactives, contribuant ainsi à renforcer la fiabilité des résultats d'inhibition observés lors des étapes précédentes, notamment contre la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans une étude publiée dans la revue *Brazilian Archives of Biology and Technology*, où la technique de bioautographie a été utilisée pour analyser les métabolites secondaires produits par des souches d'actinobactérie isolées de sols de l'Amazonie. L'étude a montré que plusieurs extraits, en particulier ceux appartenant au genre *Streptomyces*, contenaient des composés actifs différents de ceux déjà connus commercialement, mettant ainsi en évidence l'importance de cette méthode dans la découverte de nouvelles molécules potentiellement utilisables comme antibiotiques à l'avenir (Moura et al., 2017).

**Tableau 17** : Activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* des sous-fractions.

Les isolats	Les fractions	Les sous fractions	Activité antimicrobienne Contre <i>Staphylococcus aureus</i>	Rf
AB7	22	1	-	
		2	-	
		3	-	
	25	1	-	
		2	+	0,66
		3	-	
	28	1	-	
		2	-	
		3	-	
		4	-	
		5	-	
AB8	27	1	-	
		2	-	
		3	-	
		4	-	
		5	+	0,72
	37	1	-	
		2	-	



**Figure 32:** Activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38 de sous-fractions de AB7 et AB8.

**CONCLUSION**  
**ET**  
**PERSPECTIVES**

## **Conclusion et perspectives**

Au terme de cette étude, il apparaît que le travail accompli constitue une étape significative dans le cadre des efforts de recherche visant à explorer le potentiel biologique des isolats d'actinobactéries et à évaluer leur aptitude en tant que source naturelle prometteuse de molécules bioactives, notamment face aux défis croissants liés à la diminution de l'efficacité des antibiotiques conventionnels à l'échelle mondiale. Ce mémoire nous a permis de mettre en lumière un ensemble sélectionné d'isolats issus du sol de la wilaya de Tébessa, et d'étudier leur activité antimicrobienne contre des microorganismes tests, ainsi que contre un champignon pathogène, en recourant à des techniques biologiques et chimiques rigoureuses et progressives.

Ce travail se distingue par l'intégration de deux approches complémentaires : d'une part, l'évaluation biologique directe, et d'autre part, les techniques d'extraction, de séparation et d'analyse. Les résultats ont révélé que certains isolats, notamment AB7 et AB8, produisent des extraits présentant une activité marquée contre des bactéries à Gram positif, en particulier *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. De plus, les isolats AB3 et AB10 ont démontré une capacité supplémentaire à inhiber la croissance de champignon testé.

En raison de la puissance de leur activité biologique, les extraits des isolats AB7 et AB8 ont été soumis à une séparation chromatographique, ayant permis d'obtenir plusieurs fractions. L'activité antimicrobienne de ces fractions a été évaluée, et celles présentant un effet notable ont été soumises à une bio-autographie, ce qui nous a permis d'identifier les sous-fractions dotées d'une activité biologique, indiquant la présence potentielle de composés actifs responsables de l'effet antimicrobien observé.

Ainsi, cette étude met clairement en évidence le potentiel des actinobactéries en tant que ressource biologique précieuse dans la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. Elle souligne également l'importance de valoriser la diversité environnementale locale comme un réservoir stratégique pour le développement biotechnologique et les applications médicales.

Dans cette optique, nous recommandons d'élargir les recherches au futur afin d'inclure une caractérisation approfondie des composés isolés à l'aide de techniques analytiques avancées telles que HPLC, la GC-MS et RMN, permettant de mieux comprendre la structure chimique de molécules actives ainsi que leurs propriétés physico-chimiques et biologiques.

Il serait également pertinent de tester ces composés sur un éventail plus large de souches microbiennes, y compris des souches multirésistantes, et d'évaluer leur efficacité et leur toxicité afin d'envisager leur éventuelle application thérapeutique.

D'un autre côté, il est recommandé d'effectuer une identification moléculaire précise des isolats étudiés (AB7, AB8, AB9, AB10) à l'aide des techniques de séquençage de l'ADN, en particulier l'analyse du gène 16S ARNr, qui constitue un outil central dans la classification moléculaire des actinobactéries. Cette approche permettrait de confirmer l'identité taxonomique des isolats et pourrait conduire à la découverte de nouvelles espèces, rares ou encore inconnues, dotées de potentiels biologiques prometteurs. L'intégration des données moléculaires et biochimiques de ces isolats constituerait par ailleurs une base de connaissance solide pour le développement de programmes de recherche visant à explorer davantage les ressources microbiennes présentes dans les environnements naturels encore peu exploités, notamment les sols des zones arides et semi-arides d'Algérie.

Dans le même ordre d'idées, il demeure essentiel de renforcer l'interdisciplinarité entre diverses branches scientifiques telles que la microbiologie, la biochimie, la pharmacologie et la biotechnologie, en vue de traduire ces découvertes fondamentales en applications concrètes. Une telle synergie contribuerait à accélérer le développement de solutions alternatives et efficaces face à la crise des antibiotiques, qui représente l'un des plus grands défis sanitaires du XXI<sup>e</sup> siècle.

Nous clôturons ainsi ce mémoire en ayant apporté une contribution modeste mais significative à la connaissance scientifique sur les actinobactéries comme source naturelle de composés bioactifs. Nous espérons que cette étude servira de point de départ à des recherches au future plus approfondies, capables de valoriser le potentiel microbien autochtone dans le développement de solutions thérapeutiques innovantes, contribuant ainsi à la sécurité sanitaire mondiale et à un progrès scientifique durable, enraciné dans le contexte local et ouvert sur des perspectives globales.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

**A**

- AbuHamdia, A. A., Riad, D. H., Shaheen, S. I., & Yusuf, W. S. (2025). Genomic approaches: An effective approach to determine the biosynthetic genes in Actinobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*.
- Al-shaibani, M. M., Radin Mohamed, R. M. S., Sidik, N. M., El Enshasy, H. A., Al-Gheethi, A., Noman, E., Al-Mekhlafi, N. A., & Mohamad Zin, N. (2021). Biodiversity of secondary metabolites compounds isolated from phylum Actinobacteria and its therapeutic applications. *Molecules*, 26(15), 4504.
- Amin, D. H., Abdallah, N. A., Abolmaaty, A., Tolba, S., & Wellington, E. M. H. (2020). Microbiological and molecular insights on rare Actinobacteria harboring bioactive prospective. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1), 5.

**B**

- Bano, N., Siddiqui, S., Amir, M., & Roohi. (2019). House of industrially important bioactive metabolites: A review on actinobacteria. *Indian Journal of Biotechnology*, 18, 293–304.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gavaut-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., ... & Clément, C. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43.

**D**

- Djinni, I., Defant, A., Kecha, M., & Mancini, I. (2019). Actinobacteria derived from Algerian ecosystems as a prominent source of antimicrobial molecules. *Antibiotics*, 8(4), 143.
- Díez, B. H., Torres, C. A. V., & Gaudêncio, S. P. (2025). Actinomycete-derived pigments: A path toward sustainable industrial colorants. *Marine Drugs*, 23(1), 39.

**F**

- Fernandes, C. J., Doddavarapu, B., Harry, A., Srikakulam Dilip, S. P., & Ravi, L. (2021). Isolation and identification of pigment producing Actinomycete *Saccharomonospora azurea* SJCJABS01. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 14(4), 2261–2269.

**G**

- Genilloud, O. (2017). Actinomycetes: Still a source of novel antibiotics. *Frontiers in Microbiology*, 8, 73.

- Gohain, A., Manpoong, C., Saikia, R., & De Mandal, S. (2020). Actinobacteria: Diversity and biotechnological applications. In S. De Mandal & P. Bhatt (Eds.), *Recent advancements in microbial diversity* (Chapter 9). Academic Press.
- Golińska, P., Wypij, M., Agarkar, G., Rathod, D., Dahm, H., & Rai, M. (2015). Endophytic actinobacteria of medicinal plants: Diversity and bioactivity. *Antonie van Leeuwenhoek*, 108(2), 267–289.
- Gong, Y., Zhou, D., Zeng, L., Zhang, W., & Lu, S. (2022). Some volatile organic products with antifungal activity from *Streptomyces setonii* WY228 could control black spot disease of sweet potato. *Microorganisms*, 10(2), 349.

## H

- Halawa, E. M., Fadel, M., Al-Rabia, M. W., Behairy, A., Nouh, N. A., Abdo, M., Olga, R., Fericean, L., Atwa, A. M., El-Nablaway, M., & Abdeen, A. (2024). Antibiotic action and resistance: Updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Frontiers in Pharmacology*, 14, Article 1305294.
- He, Y.-W., Law, J. W.-F., Mazhari Azad, S., Hu, W.-D., Song, K., Chua, K.-O., Jiang, L., Jin, Y., Lee, L.-H., & Zhou, L. (2025). Identification and genomic analyses of a novel actinobacterium *Streptomyces shaowuensis* sp. nov. with biocontrol potential for rice bacterial blight. *Phytopathology Research*, 7(24).
- Hui, M. L.-Y., Tan, L. T.-H., Letchumanan, V., He, Y.-W., Fang, C.-M., Chan, K.-G., Law, J. W.-F., & Lee, L.-H. (2021). The extremophilic actinobacteria: From microbes to medicine. *Antibiotics*, 10(6), 682.

## I

- Imada, C., & Taki, S. (2024). Taxonomic Characteristics and Anticancer Activity of Actinomycetes Isolated from the Marine Environment of Izu Akazawa. *OTEC*, 29, 1–9.

## J

- Jain, S., Gupta, I., Walia, P., & Swami, S. (2022). Application of Actinobacteria in agriculture, nanotechnology, and bioremediation. Dans: W. N. Hozzein (éd.), *Actinobacteria: Diversity, applications and medical aspects* (chapitre 8). IntechOpen.
- James, G., Geetha, P. P., Puthiyedathu, S. T., & Jayadradhan, R. K. V. (2023). Applications of Actinobacteria in aquaculture: Prospects and challenges. *3 Biotech*, 13(42).
- Javed, Z., Tripathi, G. D., Mishra, M., & Dashora, K. (2021). Actinomycetes – The microbial machinery for the organic-cycling, plant growth, and sustainable soil health. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101893.

- Jose, P. A., Maharshi, A., & Jha, B. (2021). Actinobacteria in natural products research: Progress and prospects. *Microbiological Research*, 246, 126708.

## K

- Kanchanasin, P., Salahong, T., Sripreechasak, P., Suriyachadkun, C., Harunari, E., Igarashi, Y., Tanasupawat, S., Tawinwung, S., Vimolmangkang, S., Chaotham, C., & Phongsopitanun, W. (2024). Discovery of two new actinobacteria, *Micromonospora palythoicola* sp. nov. and *Streptomyces poriticola* sp. nov., isolated from marine invertebrates. *Scientific Reports*, 14(1), Article 22140.
- Keskitalo, J., Rintala, H., & Nevalainen, A. (2023). Identification of environmental Actinobacteria in buildings by means of MALDI-TOF MS, chemotaxonomy, and 16S rRNA gene sequencing. *Microbiology Spectrum*, 11(1), e03596-23.
- Koech, S. C., Plechatá, M., Pathom-aree, W., Kamenik, Z., & Jaisi, A. (2025). Strategies for Actinobacteria isolation, cultivation, and metabolite production that are biologically and industrially relevant. *Biotechnology Advances*, 67, 108328.
- Kumari, S., Mishra, A., & Gond, S. K. (2021). Isolation, characterization and antimicrobial activity of endophytic actinobacteria from medicinal plants. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 83(1), 65–73.

## L

- Law, J. W.-F., Letchumanan, V., Tan, L. T.-H., Ser, H.-L., Goh, B.-H., & Lee, L.-H. (2020). The rising of “Modern Actinobacteria” era. *Progress in Microbes and Molecular Biology*, 3(1),
- Lee, L.-H., Goh, B.-H., & Chan, K.-G. (2020). Editorial: Actinobacteria: Prolific Producers of Bioactive Metabolites. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1612.
- Leulmi, N. (2018). Identification polyphasique des souches d’actinobactéries isolées d’échantillons de sols semi-arides. Caractérisation structurale des antibiotiques produits [Thèse de doctorat, Université des Frères Mentouri Constantine]. Université des Frères Mentouri Constantine.
- Li, Y., Wang, X., Zhang, L., & Liu, Q. (2022). Membrane-active antibiotics from Actinobacteria: Mechanisms and potential applications. *Antibiotics*, 11(3), 33.
- Lipko, I. A. (2020). Phylogeny of the freshwater lineages within the phyla Actinobacteria (Overview). *Limnology and Freshwater Biology*, 1, 358-363.

## M

- Maud, L., Barakat, N., Bornot, J., Snini, S. P., & Mathieu, F. (2024). Biocontrol of mycotoxigenic fungi by actinobacteria. *Fungi*, 11(4).

- Mitra, D., Mondal, R., Khoshru, B., Senapati, A., Radha, T. K., Mahakur, B., Uniyal, N., Myo, E. M., Bouta, H., Guerra Sierra, B. E., Panneerselvam, P., Ganeshamurthy, A. N., Anejelković, S., Vasić, T., Das Mohapatra, A. R., Dutta, S., & Kumar, P. (2022). Actinobacteria-enhanced plant growth, nutrient acquisition, and crop protection: Advances in soil, plant, and microbial multifactorial interactions. *Pedosphere*, 32(1), 149–170.
- Moura, L. M. C., Oliveira, A. C. F., Melo, I. S., Pellizari, V. H., & Rosa, L. H. (2017). Antimicrobial activity of actinomycetes isolated from Amazonian soils. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, e17160430.
- Munita, J. M., Araos, R., & Bayer, A. S. (2022). The antibiotic potential of actinobacteria from unconventional habitats. *Microorganisms*, 10(2), 373.

## N

- Nazari, M. T., Machado, B. S., Marchezi, G., de Oliveira, J. C., de Castro, R. J. S., & Contesini, F. J. (2022). Use of soil actinomycetes for pharmaceutical, food, agricultural, and environmental purposes. *3 Biotech*, 12(232).
- Ngamcharungchit, C., Chaimusik, N., Panbangred, W., Euanorasetr, J., & Intra, B. (2023). Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes. *Molecules*, 28(15), 5915.

## O

- Olano, C., & Rodríguez, M. (2024). Actinomycètes associés aux arthropodes comme source de nouveaux composés bioactifs. *Problèmes actuels en biologie moléculaire*, 46(5), 3822–3838.

## P

- Patani, A., Pandya, J., Vaghela, A., Thakor, J., Raval, V., Rajput, K., & Panchal, R. (2025). Isolation and characterization of cellulase-producing actinomycetes from agricultural soils of Gujarat, India: Potential for liquid lignocellulosic waste degradation. *Peer-Reviewed, Multidisciplinary & Multilingual Journal*, 4(1), 148.

## Q

- Qin S., Li W-J., Klenk H-P., Hozzein W. N. & Ahmed I. (2019). Actinobacteria in Special and Extreme Habitats: Diversity, Function Roles and Environmental Adaptations, Second Edition. *Frontiers in Microbiology*, 10:944.

R

- Rao, M. P. N., & Li, W.-J. (2022). Diversity of Actinobacteria in various habitats. In L. Karthik (Ed.), *Actinobacteria: Microbiology to Synthetic Biology* (pp. 37-58). Springer Nature Singapore.

S

- Sáhó, A., Karikás, V., Ásványi, B., Lakatos, E., Varga, L., & Greff, B. (2024). Bioactive Potential of Actinobacteria Strains Isolated from the Rhizosphere of Lavender, Lemon Balm, and Oregano. *Agriculture*, 14(10), 1758.
- Salam, N., Jia, J.-Y., Zhang, X.-T., & Li, W.-J. (2020). Update on the classification of higher ranks in the phylum Actinobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(1).
- Selim, M. S. M., Abdelhamid, S. A., & Mohamed, S. S. (2021). Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 72.
- Shepherdson, J. M., et al. (2022). *Streptomyces* behavior and competition in the natural environment. *Current Opinion in Microbiology*, 67, 102257.
- Shuikan, A., Hozzein, W. N., & Alkhatami, H. D. (2025). Marine actinobacteria: A potential avenue to novel pharmaceutically active compounds. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 25(3), AJBSR MS.JD003326.
- Smaoui S. (2010). Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse. France, P.25
- Sutaria, D., Shah, K. R., Arora, S., & Saxena, S. (2021). Actinomycetes as an environmental scrubber. IntechOpen.

T

- Tezuka, T., Nitta, Y., & Ohnishi, Y. (2022). Characterization of the developmental cycle of *Streptomyces* spp. in solid media. *Journal of Microbial Development*, 28(4), 1021–1035.

W

- Wang, Z., Kumar, A., Singh, P., & Solanki, M. K. (2023). Editorial: Actinobacteria plant interaction: Recent molecular tools and biology. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1209699.
- World Health Organization (WHO). (2023). Antimicrobial resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

X

- Xie, F., & Pathom-aree, W. (2021). Actinobacteria from desert: Diversity and biotechnological applications. *Frontiers in Microbiology*, 12, 765531.

Z

- Zhang, Y., Chen, H., Liu, X., Wang, J., & Li, B. (2023). Small molecule inducers of actinobacteria natural product biosynthesis. *Frontiers in Microbiology*, 14, 105.
- Zhao, C., Li, Z., Zhao, X., et al. (2023). Application of effect-directed analysis using TLC–bioautography for deep annotation of hydroxycinnamic acid amides in plants. *Phytochemical Analysis*, 34(5), 1234–1245.
- Zou, N., Zhou, D., Chen, Y., Lin, P., Chen, Y., Wang, W., ... & Wang, M. (2021). A novel antifungal actinomycete *Streptomyces* sp. strain H3-2 effectively controls banana Fusarium wilt. *Frontiers in Microbiology*, 12, 706647.

# ANNEXES

**Annexe 1 : Composition des milieux de cultures utilisés**

1.Milieu YMEA		2.Milieu MH	
Extrait de levure	4g	MH	39g
Extrait de malt	10g	Eau distillée	1000ml
Glucose	4g		
CaCO <sub>3</sub>	1g		
Agar	20g		
Eau distillée	1000ml		
PH= 7.3			
3.Milieu PDA			
PDA	39g		
Eau distillée	1000ml		

Année Universitaire : 2024/2025 | Présenté par : Ouannassa OUANNES Hassna ACHOUR

**Thème : Production et séparation des molécules bioactives produites par des isolats d'actinobactéries isolés du sol de la wilaya de Tébessa**

**Mémoire présenté en vue d'obtention du diplôme de master académique En Biochimie appliquée**

Les actinobactéries sont un groupe de bactéries filamenteuses à Gram-positives, reconnues pour leur capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires présentant une activité biologique significative. Dans cette étude, nous avons évalué l'activité biologique de quatre isolats d'actinobactéries provenant du sol de la wilaya de Tébessa, en mettant un accent particulier sur l'extraction et la séparation de leurs métabolites par chromatographie sur colonne, dans le but d'identifier les sous-fractions actives.

Les résultats des tests préliminaires, obtenus par la technique du cylindre, ont révélé une activité antibactérienne variable selon les isolats. En effet, les isolats AB3, AB7 et AB8 ont montré une activité significative contre *Bacillus subtilis* ATCC 66 33 tandis que l'isolat AB10 a révélé une activité contre *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38. En revanche, aucune activité n'a été observée contre *Pseudomonas aeruginosa* NCIMB 86 26 et *Escherichia coli* NCTC 10538. Par ailleurs, l'activité antifongique a été observée uniquement pour les isolats AB3 et AB10, tandis qu'elle était absente chez AB7 et AB8.

Les métabolites secondaires ont ensuite été extraits puis concentrés. L'activité biologique des extraits a été évaluée par la méthode de diffusion en disque. Les résultats ont confirmé que les extraits conservaient une activité inhibitrice notable contre *B. subtilis* ATCC 66 33 et *S. aureus* ATCC 65 38, sans aucun effet contre *P. aeruginosa* NCIMB 86 26 et *E. coli* NCTC 10538. L'activité antifongique s'est maintenue uniquement chez AB3 et AB10. La séparation des molécules actives par chromatographie sur colonne a été limitée aux extraits AB7 et AB8. L'activité biologique des fractions a été testée contre *B. subtilis* ATCC 66 33 et *S. aureus* ATCC 65 38, révélant une activité marquée pour certaines d'entre elles. Enfin, une bioautographie a été réalisée afin de localiser précisément les sous-fractions actives et d'identifier les molécules responsables de l'effet biologique.

Ces résultats mettent en évidence le fort potentiel des isolats d'actinobactéries étudiés comme source de composés bioactifs, soulignant l'importance de leur valorisation dans les recherches futures pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens.

**Mots-clés :** Actinobactéries, métabolites secondaires, activité antibactérienne, activité antifongique, chromatographie sur colonne, bioautographie.

**Devant le jury**

Mme Ryma MERABTI	MCA, Univ. Abbès Laghrour- Khenchela-, Présidente
Mme Nassima LEULMI	MCA, Univ. Abbès Laghrour- Khenchela-, Encadrante
Mme Alima MASSAI	MCA, Univ. Abbès Laghrour- Khenchela-, Examinatrice