

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 : Microbiologie appliquée

Thème

# **Production des molécules d'intérêt biotéchnologique par des isolats d'actinobactéries**

*Présenté par :*

***IKRAM BOUSSAADA***

***MEROUA NEMEUR***

*Mémoire soutenu publiquement le 16 /06 / 2025* Devant le jury composé de :

**Dr, Yahia MASSINISSA**

MCA, Université Khenchela , Président

**Dr, Nassima LEULMI**

MCA, Université Khenchela, Encadrante

**Dr, Fatima Zahra SEBIHI**

MCA, Université Khenchela, Examinatrice

**Année Universitaire: 2024/2025**

# *REMERCIEMENTS*

Avant tout nous remercions "**Allah**" le tout puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné le courage, la volonté, la force, la santé et la persistance pour accomplir ce modeste travail.

Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous remercions **Mr.Yahia MASSINISSA** qui a accepté de présider ce jury

Nous sincères remerciements vont à

**Dr.SEBIHI Fatima,**

pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à notre encadrante,

**Dr.LEUMI Nassima,**

pour avoir proposé et dirigé ce sujet passionnant. Nous lui témoignons toute notre gratitude pour son aide précieuse, ses conseils avisés et ses orientations tout au long de notre travail, malgré ses nombreuses occupations.

Merci pour votre patience et votre grande générosité. Que Dieu vous récompense.

Nous souhaitons également exprimer nos remerciements les plus chaleureux à

**Dr. MERABTI Ryma,**

pour son aide et ses précieux conseils. Nous ne saurions vous témoigner suffisamment notre respect et notre profonde gratitude.

Nous tenons également à exprimer notre gratitude à l'ensemble du personnel des laboratoires pédagogiques de l'Université Abbès Laghrour Khenchela, et plus particulièrement à

**Mme CHORFI Rafika , Mme BOUMAARAF Fatima et Mme MIZANE Sara.**

Nous remercions aussi le personnel du département BMC ainsi que celui de la bibliothèque de biologie, qui ont contribué au bon déroulement de ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à nos enseignants qui nous ont accompagnés tout au long de notre parcours universitaire.

Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à toutes les personnes ayant, de près ou de loin, participé à la réalisation de ce travail.

***Ikram et Meroua***

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail, tout d'abord*

*A mes parents qui m'ont soutenu*

*Tout au long de mes études par leur dévouement et abnégation et  
Pour leurs amour, leurs sacrifices et leurs encouragements qui ont fait de moi ce que je  
Suis aujourd'hui.*

*À ma grand-mère paternelle, douce lumière de mon enfance*

*À mon grand-père paternelle, étoile silencieuse dans mon ciel, Ce travail est pour vous.*

*Que vos âmes reposent en paix.*

*À ma grand-mère maternelle*

*Mes Adorables frères Akram, Djamel, Islem, Fouad.*

*À ma petite sœur Ibtihal qui n'a jamais cessé de m'encourager pour qui je souhaite que du  
Bonheur et la réussite pour ses études.*

*À mes tantes Aida, Naima, Rosiya, Tiba, Samya, Lamyia , maissa spécialement pour ma  
tante Rabiaa, ta présence est une chaleur, ton amour est un trésor.*

*À Mes Adorable Cousins Fouzi, Fateh, Abdenour et Youcef pour leur disponibilité et leur  
soutien moral et à leur épouses respectibles khadidja, khouloud, Nassima et Ahlem.*

*À mes chères cousines Habiba, Firouz ,Zahia, Badra, Samiha, Nessrine, Lila, Hanane ,  
Khouloud, Nabila et Loudjayne à celle qui nous a quittés Latifa qu'Allah lui accorde Sa  
miséricorde et lui ouvre les portes de Son Paradis Vous êtes les fleurs qui ont parfumé les  
jours de mon enfance, Et les compagnes de route dans la joie comme dans l'épreuve .*

*À mes oncles Abdelhamide, Azouz , Mouhamed et Houssin*

*À tous les membres de ma famille Boussaada et Reghis .*

*À mes chères amies Salsabil, Aya, Aridj, Ghaliya, AYA Melek, Khawla, Rayhana, Imen et  
mon binôme Meroua .*

*À mon amie Anfel devenue une sœur de cœur, que Dieu  
garde Notre amitié pour toujours.*

*À Tous Les Group De Ma Spécialité Microbiologie Appliquer*

*À Tous Mes Enseignant De Tous Les Années De Mes Étude En Fin A Tous Ceux Que  
Ont Contribue De Prés Ou De Loin Pour l'élaboration De Ce Travail .*

*BOUSSAADA Ikram*

# *Dedicaces*

*Je dédie ce travail, tout d'abord :*

*À mon père,*

*Toute ma reconnaissance pour ton soutien constant, ta sagesse et ta force qui m'ont toujours guidé. Merci pour ta patience et tes encouragements tout au long de mon parcours.*

*À ma mère,*

*Tout mon amour et ma gratitude pour ta tendresse, ta générosité et ton soutien inconditionnel. Ta présence à mes côtés a été une source de réconfort et de motivation.*

*À mon grand-père bien-aimé, Baba Salah,*

*Avec tout mon amour et mon respect, en espérant que tu restes toujours une source de sagesse et de force dans nos vies.*

*À mes neveux, Loui, Ânes, Ranim,*

*Avec tout mon amour et mon espoir que vous poursuivrez vos rêves avec courage et passion.*

*À ma grande sœur, Imen, ma deuxième maman,*

*Tout mon amour et ma gratitude. Tu n'es pas seulement ma sœur, mais aussi mon soutien, mon refuge, et une source infinie de tendresse et d'encouragement. Merci d'être toujours là pour moi .*

*À mon frère précieux, Issam,*

*Merci d'être toujours à mes côtés. Je te souhaite une vie pleine de joie et de réussites. Ta présence et ton soutien ont été essentiels tout au long de mon parcours, et je suis profondément reconnaissante pour tout ce que tu fais .*

*À ma chère petite sœur, Safa,*

*Tout mon amour et ma fidélité pour toi. Tu es la fleur de ma vie et le battement de mon cœur. Je te souhaite un avenir radieux, rempli de succès et de bonheur*

*Je remercie chaleureusement ma tante, Habiba, pour son soutien et ses encouragements tout au long de mes études.*

*À celui qui a toujours été mon pilier Karim*

*Je te remercie du fond du cœur pour toute l'aide et le soutien que tu m'as apportés. Ce travail est une modeste expression de ma profonde gratitude*

*À mes meilleures amies, Manel ,Zahra ,Houda ,Romaïssa ,Aridje ,Aya ,ghalya ,fatima ,Aya khaoula et mon binôme Ikram*

*Merci d'avoir toujours été à mes côtés. Je vous souhaite bonheur et succès à chaque étape de votre vie.*

**NEMEUR Meroua**

## Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des Tableaux

RESUME

ABSTRACT

ملخص

INTRODUCTION ..... 1

### ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### CHAPITRE I: LES ACTINOBACTERIES

1. Introduction aux actinobactéries .....5

2. Biologie des actinobacteries ..... 6

2.1 Taxonomie des actinobactéries ..... 7

2.1.1 Classification morphologique ..... 8

2.1.2 Classification chimiotaxonomique ..... 12

2.2 Classification moléculaires ..... 13

2.2.1 Le genre *Tropheryma* ..... 15

2.2.2 Le genre *Propionibacterium* ..... 16

2.2.3 Le genre *Micromonospora* ..... 16

2.2.4 Le genre *Mycobacterium* ..... 17

2.2.5 Le genre *Streptomyces* ..... 18

4. Recherche de nouvelles espèces d'actinobactérie dans un écosystème donné ..... 19

5. Les sites d'échantillonnage algériens fournissant des actinobactéries cultivables .....23

#### CHAPITRE II:MOLECULES D'INTERET BIOTECHNOLOGIQUE

##### PRODUITES PAR LES ACTINOBACTERIES

1. Production des enzymes ..... 28

1.1 Chitinase .....	28
1.2 Pectinases .....	30
1.3 Cellulase .....	31
1.4 Xylanases .....	32
1.5 Protéases .....	34
1.6 Amylases .....	35
2. Molécules antifongiques .....	37
3. Molécules antibactériennes .....	39
4. Exopolysaccharides (EPS ) .....	42

## **ETUDE EXPERIMENTALE**

I-Matériel et méthodes .....	49
I.1. Objectif du travail .....	49
1. Les isolats d'actinobactéries .....	49
2. Souches test .....	50
2.1 Souches test l'activité antibactérienne .....	50
2.2 Champignons phytopathogènes .....	51
3. Activité antibactérienne des souches d'actinobactéries par la technique de cylindre d'agar .....	51
4. Activité antifongique des souches d'actinobactéries .....	51
5. Extraction des molécules bioactives produites par les isolats d'actinobactéries .....	51
6. L'activité antimicrobienne des extraits .....	52
7. La mise en évidence de l'activité enzymatique .....	52
7.1 Recherche de l'activité amylolytique .....	52
7.2 Recherche de l'activité protéolytique .....	53
7.3 Recherche de l'activité pectinolytique .....	53
7.4 Recherche d'activité cellulosique .....	53
7.5 Recherche de xylanase .....	53

7.6 Recherche d'activité gélatinase .....	54
8. La production des exopolysaccharides (EPS) .....	54
II-Résultats et discussion .....	56
1. Activité antibactérienne des isolats d'actinobactéries AB1-AB5 .....	56
2. L'activité antibactérienne des extraits des isolats étudiés .....	58
3. Activité antifongique des isolats d'actinobactéries étudiés .....	60
4. l'activité antifongique des extraits des isolats purs d'actinobactéries contre <i>Aspargillus niger</i> .....	62
5. Mise en évidence de l'activité enzymatique des isolats d'actinobactéries .....	64
5.1 Activité amylolytique .....	64
5.2 Activité protéolytique .....	65
5.3 Activité pectinolytique .....	66
5.4 Activité cellulolytique .....	67
5.5 Activité xylanase .....	67
5.5 Activité gélatinase .....	68
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</b> .....	<b>73</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>77</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>97</b>

## Liste des abréviations

**ATCC** : American Type Culture Collection.

**CMC** : Carboxyméthylcellulose

**UV** : Ultra violet

**NaCl** :Chlorure de soduim

**NaNo 3** :Nitrat de soduim

**Rpm** :Revolution par minute

**EPS** : exo polysaccharides

**PBS** : Phosphate Buffered Saline

**YMEA** : Yeast malt extract agar

**PDA** :Potato Dextrose Agar

**MgSO4** :Sulfat de magnisuim

**CaCO3** :Carbonate de calcium

**K2HPO4** :L'hydrogénophosphate de potassuim

**KCl** : Chlorure de potassuim

**NaCo3** : Carbonate de soduim

**MgSO47H2O** : Sulfate de magnésuim heptahydraté

Unités et mesures

**h** : Heur

**ml** : Millilitre

**°C** : Degré Celsius

**mm** : Millimètre

**Tr /min** :Tour par minute

**g** : Gramme .

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries sporulantes	8
<b>Figure 02:</b> Caractéristiques morphologiques des spores de différents genres d'actinobactéries	10
<b>Figure 03 :</b> Un arbre phylogénétique génomique basé sur 97 séquences génomiques de phylum <i>Actinobacteria</i>	14
<b>Figure 04 :</b> Les sites d'échantillonnage les plus explorés pour les actinobactéries en Algérie	24
<b>Figure 05 :</b> Variation du nombre de publications traitant de l'isolement et du profil métabolique des actinobactéries en Algérie ,sur la base de données de 2002 à nos jours .	38
<b>Figure 06 :</b> Les actinobactéries source de biomolécules d'intérêt biotechnologique.	28
<b>Figure 07 :</b> Structure d'une chaîne linéaire de chitine.	29
<b>Figure 08 :</b> Résumé de certaines des avancées récentes de l'application des xylanases dans l'industrie alimentaire.	34
<b>Figure 09 :</b> Liste graphique des principaux composés dérivés des actinobactéries et de leur mode d'action principal.	40
<b>Figure 10 :</b> Adhésion bactérienne via la production des exopolysaccharides.	42
<b>Figure 11 :</b> Propriétés des EPS bactériens, activité biologique, applications et sources	43
<b>Figure 12 :</b> Aspect sur milieu solide YMEA + CACO 3 des isolats purs d'actinobactérie	49
<b>Figure 13 :</b> photographie des souches bactériennes utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne .	50
<b>Figure 14 :</b> La production des EPS par des isolats d'actinobactéries .	55
<b>Figure 15 :</b> Centrifugation des EPS produites par les actinobactéries.	55
<b>Figure 16 :</b> Les extraits actifs produits par les isolats d'actinobactéries.	58
<b>Figure 17:</b> photographies de l'activité antibactérienne sur milieu Mueller Hinton des extraits des isolats purs d'actinobactéries .	60
<b>Figure 18 :</b> Activité antifongique des isolats d'actinobactérie, évaluée par la technique des cylindres d'agar , contre <i>Aspergillus niger</i> .	62
<b>Figure 19 :</b> Activité antifongique des extraits provenant des isolats purs d'actinobactéries contre <i>Aspergillus niger</i> .	63
<b>Figure 20 :</b> Activité amylolytiques des isolats d'actinobactéries AB1,AB2,AB3,AB4 et AB5.	65
<b>Figure 21 :</b> Activité protéolytique de nos isolats étudiés.	66
<b>Figure 22 :</b> Activité pectinolytique des isolats AB1,AB2,AB3,AB4 et AB5.	66
<b>Figure 23 :</b> Activité cellulolytiques des isolats AB1, AB2, AB3, AB4 et AB5.	67

<b>Figure 24</b> :Activité xylanase des isolats AB1,AB2,AB3,AB4 et AB5.	<b>68</b>
<b>Figure 25</b> : Activité gélatinase présentée par les isolats d'actinobactéries étudiés dans ce travail.	<b>68</b>
<b>Figure 26</b> : Photographie des EPS après l'ajoute d'éthanol.	<b>69</b>
<b>Figure 27</b> : Pouvoir émulsifiant des EPS produit par les isolats étudiés .	<b>70</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Quelques nouvelles souches d'actinobactéries récemment isolées et identifiées	<b>21</b>
<b>Tableau 02</b> : Des souches d'actinobactéries productrices de pectinase.	<b>30</b>
<b>Tableau 03</b> : les applications les plus récentes de l'alpha-amylase dans différents secteurs industriels.	<b>36</b>
<b>Tableau 04</b> : Souches d'actinobactéries productrices de substances antifongiques.	<b>38</b>
<b>Tableau 05</b> : Exemples des antibiotiques produits par <i>Streptomyces</i> sp	<b>41</b>
<b>Tableau 06</b> : Souche bactériennes utilisées dans l'étude.	<b>50</b>
<b>Tableau 07</b> : Activité antibactérienne des isolats purs d'actinobactéries évaluée par la technique de cylindre d'agar	<b>57</b>
<b>Tableau 08</b> : Activité antibactérienne des extraits des isolats purs d'actinobactéries	<b>59</b>
<b>Tableau 09</b> : Activité antifongique des isolats d'actinobactérie contre <i>Aspergillus niger</i>	<b>61</b>
<b>Tableau 10</b> : Pourcentage d'inhibition d' <i>Aspergillus niger</i> par les extraits d'actinobactéries	<b>62</b>
<b>Tableau 11</b> : Résultats d'activités hydrolytiques des isolats d'actinobactéries codés (AB1-AB5).	<b>64</b>
<b>Tableau 12</b> : Le rendement de production des EPS par des isolats d'actinobactéries.	<b>69</b>
<b>Tableau 13</b> :L'activité émulsifiante des EPS produits par les isolats d'actinobactéries	<b>71</b>

## RESUME

Les actinobactéries sont des bactéries Gram-positif, caractérisés par leur production des molécules bioactifs ayant une grande importance dans le domaine biotechnologique. Ce travail comporte la mise en évidence de l'activité antimicrobienne à savoir antifongique et antibactériens des isolats d'actinobactéries codés AB1 à AB5 provenant du sol semi arid de la wilaya de Tébessa. Egalement, cette étude a porté sur le pouvoir de dégradation de cinq isolats différents substrats ainsi que leurs capacité à produire des EPS à partir d'un milieu submergé. L'étude de l'activité antibactérienne des isolats d'actinobactérie a montré que les cinq isolats ont présenté une activité antibactérienne importante vis à vis *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtilis* , *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* . En revanche, leur capacité à inhiber la croissance de *Aspergillus niger* s'est avéré très faible. L'activité enzymatique des isolats d'actinobactéries a montré que les cinq isolats possèdent une bonne capacité de production d'enzymes hydrolytiques, notamment amylases, protéases, pectinases, cellulases, xylanases et gélatinases. Parmi eux, l'isolat AB3 s'est avéré potentiellement très active. Les exopolysaccharides (EPS) produits par nos isolats présentent un fort pouvoir émulsifiant, ce qui leur confère un intérêt particulier dans diverses applications industrielles. En particulier, l'EPS de l'isolat AB4 s'est distingué par un indice d'émulsification élevé de 92,3 %, indiquant une grande efficacité pour stabiliser des émulsions. Ces résultats suggèrent que ces EPS pourraient être exploités comme agents naturels d'émulsification dans les domaines pharmaceutiques cosmétiques, agroalimentaires ou encore pour le traitement des eaux usées. D'après les résultats obtenus, nous concluons que les isolats issus d'un sol semi-aride de la wilaya de Tébessa représentent un potentiel important de molécules d'intérêt biotechnologiques.

**Mots clés :** Actinobactéries, Molécules bioactives, Enzymes, EPS, Sol semi-aride.

## ABSTRACT

*Actinobacteria* are Gram-positive bacteria, characterized by their production of bioactive molecules of great importance in the biotechnological field. This work includes the demonstration of the antimicrobial activity namely antifungal and antibacterial of *Actinobacteria* isolates coded AB1 to AB5 from the semi-arid soil of the wilaya of Tébessa. Also, this study focused on the degradation power of five different substrate isolates as well as their ability to produce EPS from a submerged environment. The study of the antibacterial activity of actinobacterium isolates showed that the five isolates exhibited significant antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. On the other hand, their ability to inhibit the growth of *Aspergillus niger* was found to be very low. The enzymatic activity of the actinobacterial isolates showed that the five isolates possess a good capacity for producing hydrolytic enzymes, including amylases, proteases, pectinases, cellulases, xylanases and gelatinases. Among them, isolate AB3 was found to be potentially very active. The exopolysaccharides (EPS) produced by our isolates exhibit a strong emulsifying power, which makes them of particular interest in various industrial applications. In particular, the EPS of isolate AB4 was distinguished by a high emulsification index of 92.3%, indicating a high efficiency in stabilizing emulsions. These results suggest that these EPS could be exploited as natural emulsifying agents in the pharmaceutical, cosmetic, food and wastewater treatment fields. Based on the results obtained, we conclude that isolates from a semi-arid soil of the wilaya of Tébessa represent a significant potential for molecules of biotechnological interest.

**Keywords:** Actinobacteria, Bioactive molecules, Enzymes, EPS, Semi-arid soil.

## ملخص

لبكتيريا الشُعاعِيَّة (الأكتينوبكتيريا) هي بكتيريا موجبة الجرام، وتتميّز بقدرتها على إنتاج جزيئات حيوية نشطة لها أهمية كبيرة في المجال البيوتكنولوجي. يتناول هذا العمل الكشف عن النشاط المضاد للميكروبات (ضد الفطريات والبكتيريا) للعزلات الخمس من الأكتينوبكتيريا والمُرمّزة بـ AB1 إلى AB5، والمستخرجة من تربة شبه جافة بولاية تبسة. بالإضافة إلى ذلك، تناولت هذه الدراسة قدرة هذه العزلات على تحلّل مجموعة من الركائز المختلفة، فضلاً عن قدرتها على إنتاج السكريات الخارجية (EPS) من وسط تخمير. أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا لعزلات الأكتينوبكتيريا أن العزلات الخمس تمتلك نشاطاً مضاداً قوياً ضد كل من *Staphylococcus aureus*، و *Bacillus subtilis*، و *Escherichia coli*، و *Pseudomonas aeruginosa* في المقابل، فإن قدرتها على تثبيط نمو *Aspergillus niger* كانت ضعيفة جداً. أما فيما يخص النشاط الإنزيمي لعزلات الأكتينوبكتيريا، فقد أظهرت جميع العزلات قدرة جيدة على إنتاج إنزيمات تحليلية، لا سيما: الأميلازات، والبروتيازات، والبيكتينازات، والسيلولازات، والزيلانازات، والجيلاتينازات. وقد تميز العزل AB3 بقدرته على إنتاج جميع هذه الإنزيمات، مما يدل على إمكانياته الكبيرة في المجال البيوتكنولوجي. أما السكريات الخارجية (EPS) التي تنتجها عزلاتنا فقد أظهرت قدرة استحلاب قوية، مما يمنحها أهمية خاصة في العديد من التطبيقات الصناعية. وعلى وجه الخصوص، تميزت الـ EPS المنتجة من العزل AB4 بمؤشر استحلاب مرتفع بلغ 92.3٪، مما يشير إلى فعاليتها الكبيرة في تثبيت المستحلبات. وتشير هذه النتائج إلى إمكانية استخدام هذه الـ EPS كمعوامل استحلاب طبيعية في المجالات الصيدلانية، والتجميلية، والصناعات الغذائية، وحتى في معالجة مياه الصرف الصحي. وبناءً على هذا العمل، يمكن القول إن العزلات المستخرجة من تربة شبه جافة بولاية تبسة تُظهر إمكانيات واعدة لإنتاج جزيئات ذات أهمية بيوتكنولوجية.

**الكلمات المفتاحية:** الأكتينوبكتيريا، الجزيئات الحيوية النشطة، الإنزيمات، السكريات الخارجية (EPS)، التربة شبه الجافة.

---

# *Introduction*

---

## **Introduction**

Les actinobactéries dont le patrimoine génétique est riche en guanine et en cytosine constituent le plus grand groupe de procaryotes (G.A. Aaisha et al .,2016). Elles comprennent des bactéries à Gram positif présentant des caractéristiques de croissance morphologiques variables (Bhatti et al., 2017). Ce sont des bactéries filamenteuses, aérobies ou anaérobies, sporulées, présentes dans les habitats aquatiques et terrestres. Elles sont connues pour donner au sol une odeur terreuse caractéristique, due à la production d'un produit organique appelé géosmine.

Les actinobactéries sont des candidats prometteurs pour la production de métabolites secondaires, explorés comme antibiotiques et immunosuppresseurs en médecine. Ces métabolites sont connus pour diverses activités biologiques. Environ 23 000 antibiotiques ont été découverts à partir de différents microbes et la contribution (~10 000) des actinobactéries est incontestée dans la communauté microbienne (Islam et al ., 2009 ). Ce groupe bactérien représentant *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Frankia*, *Micromonospora* et plusieurs autres membres constituent l'une des communautés microbiennes les plus économiques et les plus pertinentes sur le plan biotechnologique. Le genre *Streptomyces* constitue une source majeure de molécules bioactives et chaque souche est estimée produire 10 à 20 métabolites secondaire. (Barka et al., 2016).

Les actinobactéries comptent également, parmi les candidats importants impliqués dans la décomposition de la biomasse végétale en tant que symbiotes nutritionnels et libérant des produits naturels comme agents défensifs (Lewin et al., 2016). *Streptomyces*, l'un des genres d'actinobactéries les plus étudiés, est un puissant producteur de diverses enzymes lytiques qui contribuent à ses propriétés antagonistes contre les agents pathogènes des plantes. Les actinobactéries ont la capacité de dégrader la biomasse végétale car elles contiennent un réservoir d'enzymes lytiques (Berlemont et Martiny, 2013 ; Lewin et al., 2016 ; Salwan et Sharma, 2018). De nombreux *Streptomyces* produisent des enzymes lytiques extracellulaires qui sont également responsables de l'inhibition de la croissance fongique et d'autres agents pathogènes (Chater et al., 2010). Des enzymes lytiques comme les chitinases et les glucanases ont été signalées comme agents de lutte biologique, car l'antracnose du poivron a été supprimée en présence de *S. cavourensis* SY224 (Lee et al., 2012).

Les actinobactéries, en particulier les genres *Streptomyces* et *Rhodococcus* sont connues également pour leur capacité à sécréter des exopolysaccharides (EPS) de haute valeur, notamment dans des conditions extrêmes (**Bhat et al., 2022**). Ces biopolymères présentent un large éventail d'applications industrielles, pharmaceutiques et environnementales en raison de leurs propriétés rhéologiques, bioadhésives, antioxydantes et immunomodulatrices (**Kaur et al., 2019**).

Cette richesse biologique, fait des actinobactéries une cible majeure dans la recherche biotechnologique et pharmaceutique contemporaine.

Le travail présenté ici vise un double intérêt. La compréhension du métabolisme des actinobactéries, producteurs d'une grande diversité de métabolites secondaires à savoir antibiotiques et antifongiques. Également, l'étude de la capacité des isolats d'actinobactéries à produire de substances hydrolytiques et de polymères de type EPS.

Le chapitre I de l'étude bibliographique sur les généralités des actinobactéries. Le chapitre II est consacré aux molécules d'intérêt biotechnologiques à savoir antibiotiques, antifongiques, les enzymes et la production des EPS.

L'étude expérimentale décrit le matériel et l'ensemble de techniques utilisées pour la réalisation de ce travail suivie par les résultats obtenus et discussion.

---

***ETUDE  
BIBLIOGRAPHIQUE***

---

---

# **Chapitre I**

## **Les actinobactéries**

---

## 1. Introduction aux actinobactéries

Les actinobactéries sont des bactéries Gram positives dont le patrimoine génétique est riche en guanine et en cytosine. Morphologiquement, elles sont étroitement liées aux champignons et aux firmicutes, et sont souvent confondues avec eux. Les actinobactéries ne possèdent généralement pas de paroi cellulaire distincte, mais produisent un mycélium non séparé et fin. Elles se reproduisent par différents mécanismes : fission binaire, conidies et sporulation. La morphologie typique des actinobactéries se compose de deux régions, judicieusement nommées mycélium aérien et mycélium de substrat. Les actinobactéries jouent un rôle majeur dans l'écosystème, car elles interviennent dans la décomposition de la matière organique, la bioremédiation et la bioaltération, et surtout, produisent un grand nombre de métabolites secondaires aux applications thérapeutiques étendues (**Farda et al., 2022**).

Le nom actinobactéries dérive du grec ancien ἀκτίς (aktís, « rayon ») et μύκης (múkēs, « champignon ») d'après la formation du mycélium et la croissance induite par l'extension de la pointe des hyphes. Les membres de l'ordre des Actinomycetales présentent une diversité physiologique considérable. La plupart des actinobactéries sont des micro-organismes aérobies saprophytes aux cycles de vie complexes (**Prudence et al., 2020**).

L'histoire des actinobactérie peut être divisée en 5 grandes périodes.

- ❖ La première Période qui va de 1877 à 1890 environ, a été nommée « période médicale » du fait que l'intérêt porté à ces microorganismes était dû presque exclusivement aux propriétés pathogènes qu'on leur attribuait.
- ❖ La seconde période (1900-1919) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinobactéries du sol, avec les travaux de Kraisky, de Cohn, de Waksman et de Curtis.
- ❖ C'est ensuite la période (1919-1940) au cours de laquelle une meilleure connaissance des germes a été acquise grâce aux recherches de Waksman, de Lieske, de Krassilnikov.
- ❖ La dernière époque historique est celle des antibiotiques produits par les actinobactéries. Elle commence en 1940 et le nom de Selman Waksman lui est indissolublement lié (**Ouargli, 2018**).

## 2. Biologie des actinobactéries

La plupart des *Actinobacteria* (les streptomycètes en particulier) sont des organismes saprophytes vivant dans le sol qui passent la majeure partie de leur cycle biologique sous forme de spores semi-dormantes, notamment dans des conditions défavorables (**Mayfield et al.,1972**) . Cependant, cet embranchement s'est adapté à une grande variété écologiques : les actinobactéries sont également présents dans les sols, l'eau douces et alée, et également dans l'air. Ils sont plus abondants dans les sols que dans d'autres milieux, en particulier dans les sols alcalins riches en matière organique, où ils constituent une part importante de la population microbienne.

Les *Actinobacteria* peuvent être trouvées à la fois à la surface du sol et à des profondeurs supérieures à 2 m. La densité de population des *Actinobacteria* dépend de leur habitat et des conditions climatiques. Leur densité est généralement de l'ordre de  $10^6$  à  $10^9$  cellules par gramme de sol. Les populations du sol sont dominées par le genre *Streptomyces*, qui représente plus de 95 % des souches d'*Actinomycetales* isolées du sol . D'autres facteurs, tels que la température, le pH et l'humidité du sol, influencent également la croissance des Actinobactéries (**Barka et al .,2016** ).

Comme les autres bactéries du sol, les Actinobactéries sont principalement mésophiles, avec une croissance optimale à des températures comprises entre 25 et 30 °C. Cependant, les Actinobactéries thermophiles peuvent se développer à des températures comprises entre 50 et 60 °C (**Barka et al .,2016**). La croissance végétative des Actinobactéries dans le sol est favorisée par une faible humidité, en particulier lorsque les spores sont immergées dans l'eau. Dans les sols secs où la tension hydrique est plus élevée, La croissance est très limitée et peut être stoppée. La plupart des Actinobactéries poussent dans des sols à pH neutre. Leur croissance est optimale à un pH compris entre 6 et 9, avec une croissance maximale autour de la neutralité. Cependant, quelques souches de *Streptomyces* ont été isolées dans des sols acides (pH 3,5) (**Kim et al., 2003** ).

La première étude sur l'effet du climat sur la répartition des Actinobactéries a été réalisée par Hiltner et Strömer (**Barka et al .,2016**). qui ont montré que ces bactéries représentent 20 % de la flore microbienne du sol au printemps et plus de 30 % en automne, en raison des importantes quantités de résidus de culture disponibles à cette période de l'année. Cependant, en hiver, le gel réduit leur abondance relative à seulement 13 %.

## 2.1 Taxonomie des actinobactéries

Les Actinobactéries représentent l'une des plus grandes unités taxonomiques parmi les 18 principales lignées actuellement reconnues dans le domaine des bactéries, comprenant 5 sous-classes, 6 ordres et 14 sous-ordres (Ludwing et al., 2012). Les genres de ce phylum présentent une grande diversité en termes de morphologie, de physiologie et de capacités métaboliques.

La taxonomie des Actinobactéries a considérablement évolué au fil du temps, grâce à l'accumulation des connaissances. L'ordre des *Actinomycetales*, établi par Buchanan en 1917 (Barka et al., 2016), appartient à ce groupe d'organismes procaryotes.

Le phylum des Actinobactéries est défini sur la base de sa position ramifiée dans les arbres génétiques de l'ARNr 16S. Cependant, les séquences d'ARNr ne permettent pas de distinguer clairement les espèces étroitement apparentées, ni même les genres, ce qui peut créer une ambiguïté.

Par exemple, le statut taxonomique du genre *Kitasatospora* au sein de la famille des *Streptomycetaceae* est contesté depuis de nombreuses années (Barka et al., 2016, Ludwing et al., 2012) bien qu'une analyse génétique détaillée récente ait fourni des preuves solides qu'il devrait être considéré comme un genre distinct (Grard et al., 2014). Une relation similaire et étroite existe entre *Micromonospora* et *Verrucosispota* et *Salinispora*. D'autres marqueurs génétiques ont donc été utilisés pour distinguer les genres étroitement apparentés, notamment *rpoB* et, plus récemment, *ssgB*, particulièrement utile pour distinguer les genres étroitement apparentés (Girard et al., 2013). De plus, l'augmentation récente et massive de la disponibilité des informations sur les séquences génomiques a fourni des informations détaillées sur l'évolution du génome et a permis d'identifier des gènes spécifiques aux organismes au niveau des genres et des familles (Kiby, 2011). La mise à jour de la taxonomie du phylum des *Actinobacteria*, basée sur les arbres d'ARNr 16S, a récemment été publiée (Ludwing et al., 2012). Le phylum est ainsi divisé en six classes : *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria* et *Thermoleophila*. La classe des *Actinobacteria* comprend 16 ordres, dont les deux ordres précédemment proposés, les *Actinomycetales* et les *Bifidobacteriales* (Zhi Xy et al., 2009).

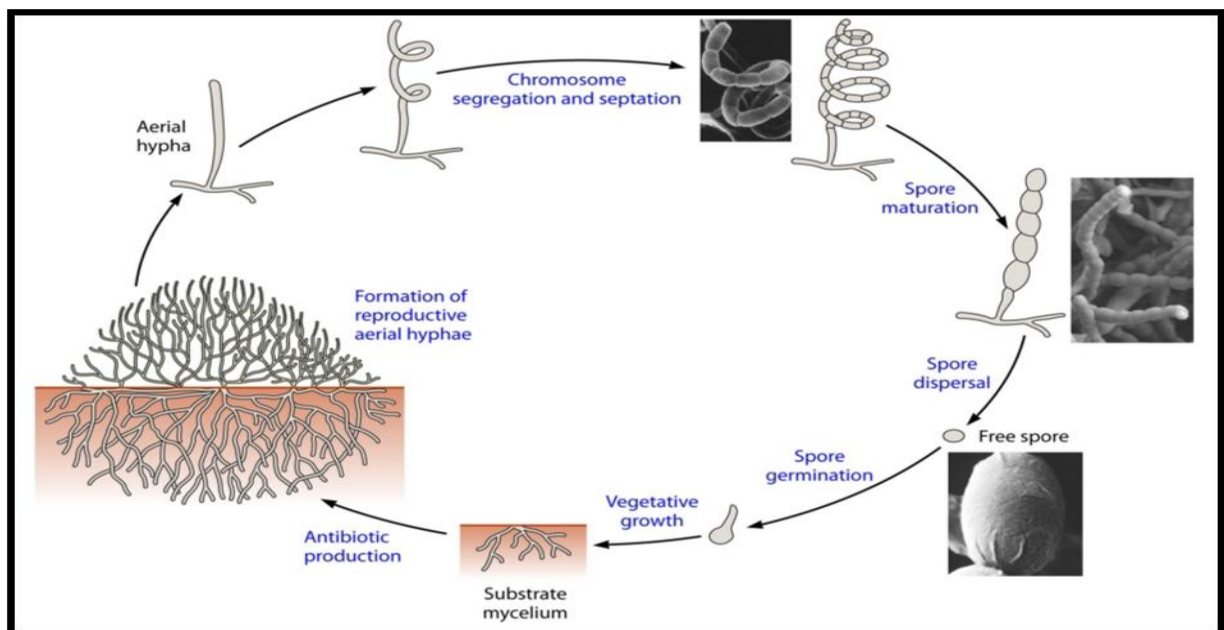
L'ordre des *Actinomycetales* est désormais restreint aux membres de la famille des *Actinomycetaceae*, et les autres sous-ordres qui en faisaient auparavant partie sont désormais

désignés comme des ordres distincts (Gao et Gupta ., 2012). Par conséquent, 43 des 53 familles du phylum des Actinobactéries sont classées dans une seule classe, les Actinobactéries, tandis que les cinq autres classes ne comptent que 10 familles (Goodflow et al., 2012).

### 2.1.1 Classification morphologique

Les principales caractéristiques utilisées pour définir la taxonomie des Actinobactéries au niveau du genre et de l'espèce sont l'observation microscopique et la chimiotaxonomie. Cette dernière concerne principalement la composition de la paroi cellulaire et la distribution des sucres dans la cellule entière. La fragmentation mycélienne peut être considérée comme une forme particulière de reproduction végétative. Cependant, les Actinobactéries à mode de vie principalement mycélien se reproduisent généralement en formant des spores asexuées.

Les Actinobactéries présentent une grande variété de morphologies, différant principalement par la présence ou l'absence de mycélium de substrat ou de mycélium aérien, la couleur du mycélium, la production de pigments mélanoïdes diffusibles, ainsi que la structure et l'apparence de leurs spores (Figure 01).



**Figure 01:** Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries sporulantes (Barka et al ., 2016).

### 2.1.1.1 Morphologie du mycélium

À l'exception de *Sporichthya sp.*, qui produit des hyphes aériens initiés verticalement à la surface du milieu par des crampons, les Actinobactéries forment un mycélium de substrat dans les cultures immergées et en milieu solide. Cependant, sur les surfaces solides, nombre d'entre elles se différencient pour former des hyphes aériens, dont le rôle principal est de produire des spores reproductrices (**Van Dissel et al ., 2014**).

Le mycélium du substrat se développe à partir de la croissance d'une spore en germination. Ce mycélium de substrat ramifié est souvent monopodial, mais dans certains cas, les Actinobactéries, telles que *Thermoactinomyces*, présentent une ramification dichotomique (**Kalakoutskii et Agre, 1976**). En revanche, les membres de la famille des *Micromonosporacées* produisent un mycélium de substrat étendu, avec un mycélium aérien absent ou rudimentaire.

Les actinobactéries présentent une grande variété morphologique, notamment coccoïdes (*Micrococcus*) et coccoïdes en bâtonnets (*Arthrobacter*), ainsi que des formes hyphales fragmentées (*Nocardia spp.*) et des formes à mycélium ramifié permanent et hautement différencié (par exemple, *Streptomyces spp.*, *Frankia*) (**Atlas , 1997**). Les rhodocoques forment des filaments allongés sur le substrat et ne produisent pas de véritable mycélium (**Locci et Schaal ., 1980** ) tandis que les corynébactéries ne produisent pas de mycélium du tout.

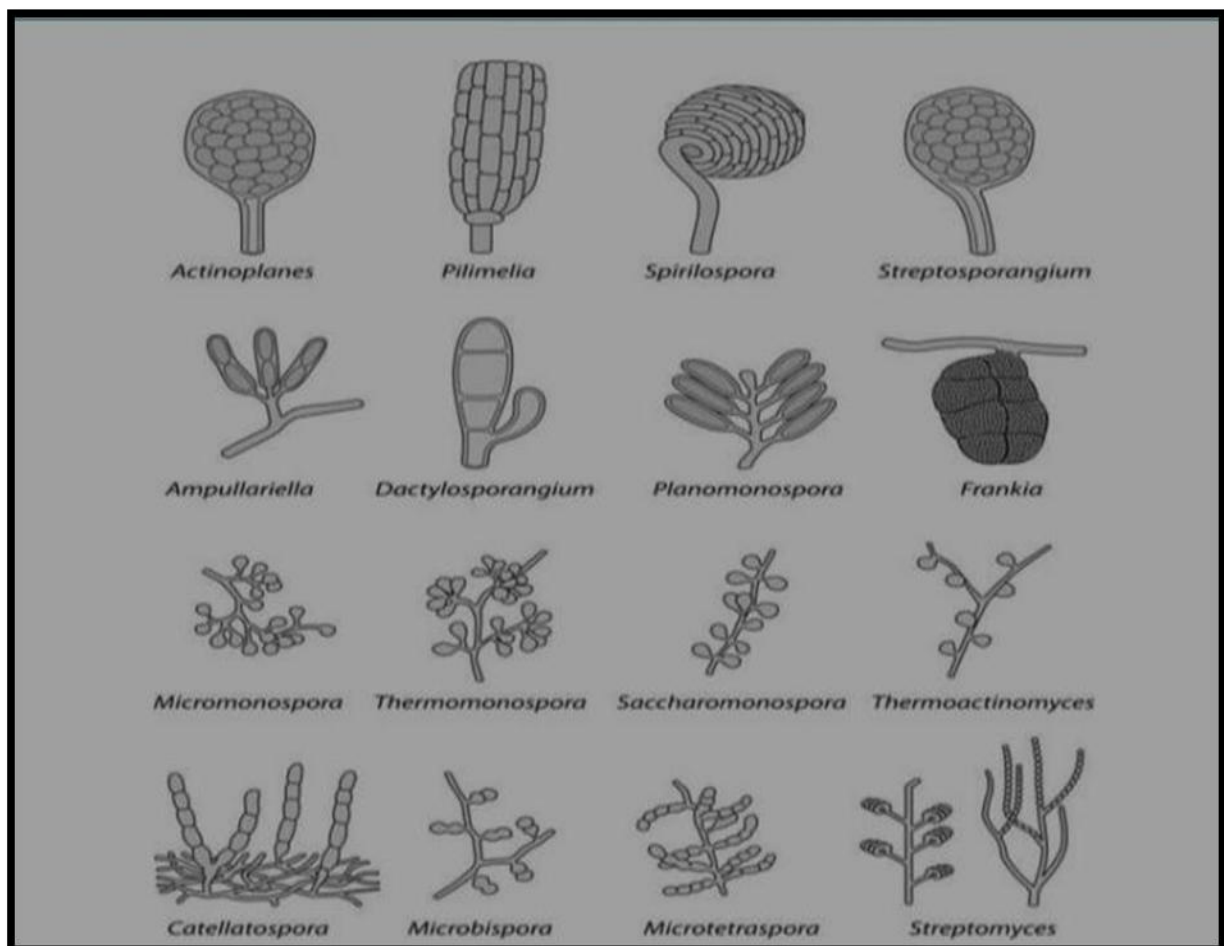
Cependant, comme chez les autres actinobactéries, les filaments se développent à l'apex plutôt que par extension latérale de la paroi (**Lelek et al ., 2008**). Les actinobactéries appartenant au genre *Oerskovia* se caractérisent par la formation d'hyphes ramifiés sur le substrat qui se décomposent en éléments flagellés mobiles . De plus, les mycobactéries et les rhodocoques ne forment généralement pas d'hyphes aériennes, bien qu'il existe quelques exceptions (**Barka et al ., 2016**).

### 2.1.1.2 Morphologie de la chaîne de spores

Les spores jouent un rôle crucial dans la taxonomie des actinobactéries (**Locci et Sharples , 1984**). Les premières étapes de la sporulation chez plusieurs Actinobactéries oligosporiques peuvent être considérées comme des processus de bourgeonnement, car elles

répondent aux principaux critères utilisés pour définir le bourgeonnement chez d'autres bactéries (**Figure 02**).

Les spores peuvent se former sur le substrat et/ou le mycélium aérien, sous forme de cellules individuelles ou en chaînes de différentes longueurs. Dans d'autres cas, les spores peuvent être hébergées dans des vésicules spéciales (sporangies) et dotées de flagelles. Ainsi, chez les genres *Micromonospora*, *Micropolyspora* et *Thermoactinomyces* la formation des spores se produit directement sur le mycélium du substrat, tandis que chez *Streptomyces*, les spores se développent à partir du mycélium aérien. Les groupes *Actinoplanes* et *Actinosynnema* sont caractérisés par des spores mobiles, tandis que *Thermoactinomyces* possède des endospores thermorésistantes uniques (**Barka et al ., 2016** ).



**Figure 02** : Caractéristiques morphologiques des spores de différents genres d'actinobactéries (**Mohammadipanah et al ., 2017**).

D'autres genres d'Actinobactéries possèdent des sclérotés (*Chainia*), des synnémés (*Actinosynnema*), des vésicules contenant des spores (*Frankia*) ou des vésicules dépourvues

de spores (*Intrasporangium*). D'autres genres, tels qu'*Actinoplanes*, *Ampulariella*, *Planomonospora*, *Planobispora*, *Dactylosporangium* et *Streptosporangium*, sont classés selon la morphologie de leurs spores (**Figure 02**) .illustre les différents types de spores que l'on trouve dans les genres actinobactéries. Enfin, la morphologie des spores elles-mêmes peut également être utilisée pour caractériser les espèces : elles peuvent avoir des surfaces lisses, verruqueuses, épineuses, velues ou rugueuses (**Dietz et Mathews ,1971**).

### 2.1.1.3 Longueur de la chaîne de spores

Le nombre de spores par chaîne varie considérablement d'un genre à l'autre. Les genres *Micromonospora*, *Salinispora*, *Thermomonospora*, *Saccharomonospora* et *Promicromonospora* produisent des spores isolées, tandis que les espèces de *Microbispora* produisent des spores en paires longitudinales.

Les membres des genres *Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Sporichthya* et certaines espèces de *Nocardia* ont de courtes chaînes de spores, tandis que les membres des genres *Streptomyces*, *Nocardioides*, *Kitasatospora*, *Streptoverticillium* et certaines espèces de *Nocardia* produisent de très longues chaînes pouvant contenir jusqu'à 100 spores.

En revanche, les espèces de *Frankia* produisent des sporanges, qui sont essentiellement des sacs de spores. Les chaînes de spores des *Streptomycètes* peuvent être classées comme étant droites à flexueuses (Rectus-Flexibilis), en boucles ouvertes (Reli aculam-Apertum), en spirales ouvertes ou fermées (spira) ou verticillées (**Pridham et al . ,1958**).

### 2.1.1.4 Pigments mélanoides

Les mélanines sont des polymères aux structures moléculaires diverses, généralement noires ou brunes, formés par la polymérisation oxydative de composés phénoliques et indoliques. Elles sont produites par un large éventail d'organismes, des bactéries à l'homme.

Les actinobactéries sont connues depuis longtemps pour produire des pigments qui peuvent être rouges, jaunes, oranges, roses, brunâtres, bruns distincts, bruns verdâtres, bleus ou noirs, selon la souche, le milieu utilisé et l'âge de la culture (**Lechevalier HA et Lechevalier MP.,1965**).

Généralement appelés mélanines, ou pigments mélanoides, ces polymères métaboliques brun-noir sont importants non seulement pour leur utilité dans les études taxonomiques, mais

aussi pour leur similitude avec les substances humiques du sol . Les mélanines ne sont pas essentielles à la croissance et au développement des organismes, mais elles jouent un rôle crucial dans l'amélioration de leur survie et de leur compétitivité.

### 2.1.2 Classification chimiotaxonomique

La chimiotaxonomie est l'utilisation de la distribution des composants chimiques pour regrouper les organismes en fonction des similarités de leurs chimies cellulaires. Les composants chimiques les plus couramment utilisés dans cette systématique sont les acides aminés des parois cellulaires, les lipides, les protéines, les ménaquinones, les types d'acide muramique, les sucres et la composition en bases de l'ADN (**Manivasagam Pet al ., 2013**). La classification et l'identification chimiotaxonomiques peuvent également être réalisées à partir d'informations issues des techniques d'empreinte chimique de l'organisme entier.

L'analyse de la composition de la paroi cellulaire des *Actinobacteria* est précieuse d'un point de vue taxinomique, car elle diffère selon les sous-ordres (**O'Donnell ., 1988**). En particulier, les informations sur l'architecture chimique du peptidoglycane dans la paroi cellulaire sont précieuses pour la classification des actinobactéries, car elles facilitent la distinction entre les groupes d'*Actinobacteria* au-delà du genre. De multiples caractéristiques discriminantes relatives à la structure et à la composition de leurs peptidoglycanes ont été identifiées, notamment l'identité de l'acide aminé en position 3 de la chaîne latérale du tétrapeptide, la présence ou l'absence de glycine dans les ponts interpeptidiques et la teneur en sucres du peptidoglycane (**Willey et al ., 210**). La présence ou l'absence d'isomères optiques spécifiques de l'acide aminé chiral non protéinogène 2,6-diamino-opimélique (DAP) est une autre caractéristique chimiotaxonomique importante des parois cellulaires des bactéries à Gram positif : le peptidoglycane des actinobactéries peut contenir soit du LL- ou du DL-(méso)-DAP, selon le genre.

En considérant l'isomérisation du DAP et la présence/absence d'autres acides aminés et (amino) sucres (**Lechevalier et Lechevalier ,1980**) ont identifié neuf chémotypes distincts de parois cellulaires d'actinobactéries.

Cependant, il est important de comprendre que si l'analyse du DAP et d'autres méthodes chimiotaxonomiques sont extrêmement importantes dans la taxonomie des actinobactéries, divers groupes partagent le même profil DAP. Par exemple, les genres *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Arachnia* et *Nocardioides* partagent le même chémotype (chémotype I),

même si leurs morphologies différentes indiquent qu'ils appartiennent à des familles différentes (**Bouizgarne et Ait Ben Aoumar ., 2014**).

## 2.2 Classification moléculaires

Plus récemment, la classification morphologique et chimique des actinobactéries a été remise en question par les données de taxonomie moléculaire, dont une grande partie a été obtenue grâce aux progrès rapides du séquençage du génome. Notamment, certains organismes, mal classés dans certains groupes taxonomiques, ont récemment été reclassés sur la base d'analyses moléculaires (**Zhi XY et al ., 2009**). Un exemple récent est la définition définitive de *Kitasatospora* comme genre distinct au sein des *Streptomycetaceae* (**Girard et al ., 2013**), le séquençage du génome a résolu un débat de longue date sur la relation de ce groupe avec le genre *Streptomyces* et a démontré de manière concluante qu'il s'agit bien d'un genre distinct (**Girard et al ., 2014**).

À l'heure actuelle, une nouvelle espèce ne peut être revendiquée sans analyse génétique basée sur le séquençage du gène de l'ARNr 16S et l'hybridation ADN-ADN, et même le séquençage du génome est devenu une pratique courante. Des critères de composition moléculaire et chimique ont été utilisés pour regrouper l'ordre des *Actinomycetales* en 14 sous-ordres : *Actinomycineae*, *Actinopolysporineae*, *Catenulisporineae*, *Corynebacterineae*, *Frankineae*, *Glycomycineae*, *Jiangellineae*, *Kineosporineae*, *Micrococcineae*, *Micromonosporineae*, *Propionibacterineae*, *Pseudonocardineae*, *Streptomycineae* et *Streptosporangineae* (**Euzéby jp , 1997**).

De plus, le séquençage des gènes de l'ARNr 16S a permis d'identifier 39 familles et 130 genres (**Figure 03**).

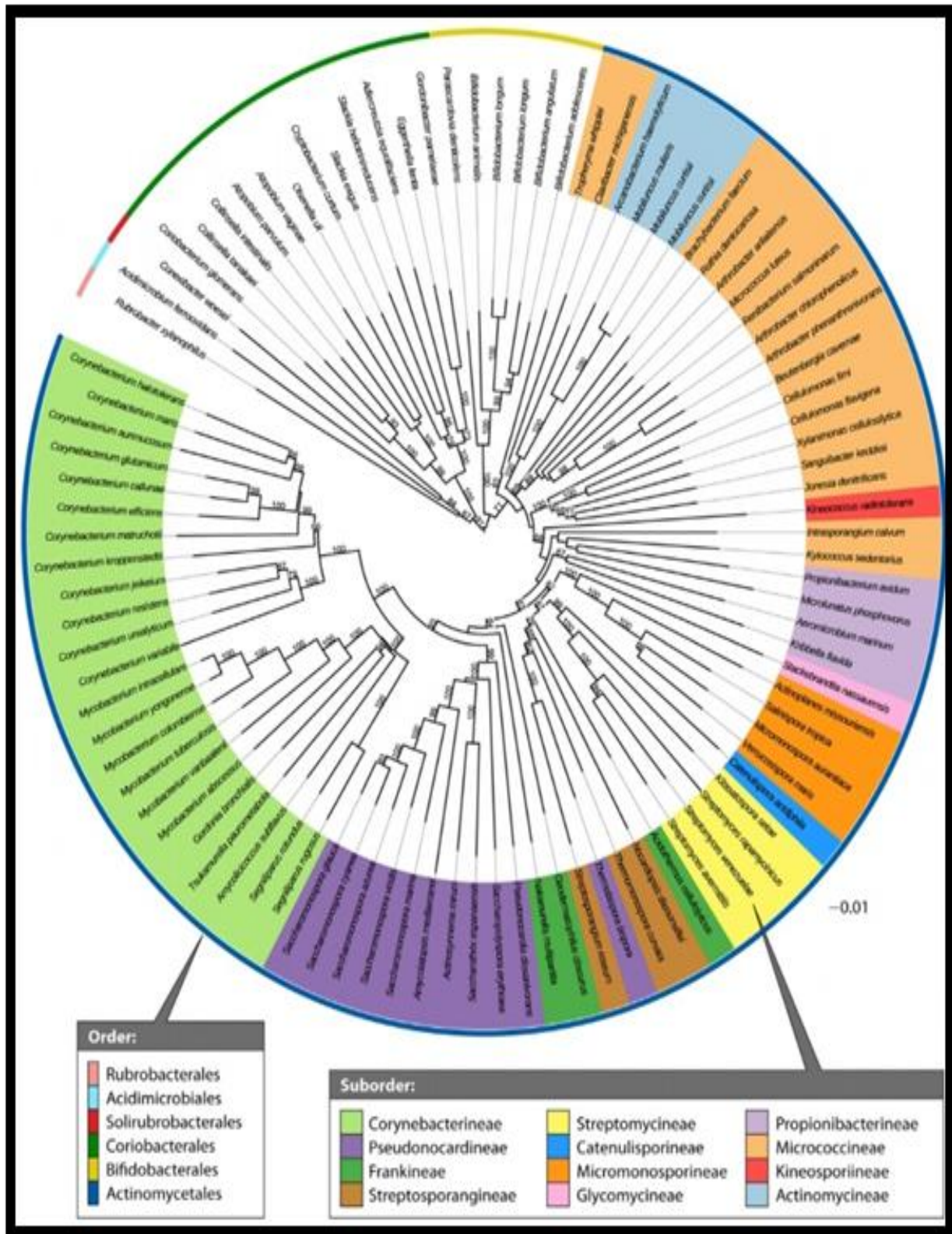


Figure 03: Un arbre phylogénétique génomique basé sur 97 séquences génomiques de phylum *Actinobacteria* (Baraka et al., 2016).

Tous les groupes précédemment assignés au rang taxonomique d'«ordre » ont été identifiés comme strictement monophylétiques sur la base de critères moléculaires et chimiques, mais certains groupes paraphylétiques ont été retrouvés au sein du rang de « sous-ordre ». Cela pourrait s'expliquer par le fait que la classification reposait principalement sur des arbres géniques de l'ARNr 16S, générés sans support bootstrap et pouvant donc donner des résultats trompeurs.

Ces approches moléculaires sont souvent utilisées pour leur rapidité et efficacité. En effet, l'application des méthodes d'analyses génétiques et moléculaires, notamment l'hybridation ADN-ADN et le séquençage de l'ARN ribosomique 16S ont permis de tracer toute la phylogénie des *Actinobacteries*. Malgré que l'hybridation ADN-ADN est une technique utile dans l'identification des espèces du genre *Streptomyces* elle ne devrait pas être employée seule, en raison de l'instabilité du génome de ces dernières, mais en combinaison avec d'autres techniques (Ouargli, 2018).

Les caractéristiques de certains de ces genres sont résumées ci-dessous.

### 2.2.1 Le genre *Tropheryma*

Le membre le plus étudié du genre *Tropheryma* est *T. whipplei*, l'agent responsable de la maladie de Whipple, caractérisée par une malabsorption intestinale entraînant une cachexie et la mort. Les isolats de *T. whipplei* se trouvent généralement dans des niches intracellulaires humaines, telles que les macrophages intestinaux et les monocytes circulants (Raoult et al., 2001). Son génome condensé ne compte que 925 938 pb, avec une teneur en G C de seulement 46 % (Raoul et al., 2003), alors que d'autres génomes d'actinobactéries ont des génomes beaucoup plus grands (jusqu'à 10 MBp) et des teneurs en G C plus élevées. *T. whipplei* a un tropisme pour les cellules myéloïdes, en particulier les macrophages, bien qu'il puisse être présent dans divers types cellulaires. De plus, le séquençage du génome a révélé une absence de voies de biosynthèse clés et une capacité réduite de métabolisme énergétique. Son petit génome et son absence de capacités métaboliques suggèrent que *T. whipplei* a un mode de vie restreint à son hôte (Bentley et al., 2003). Des découvertes récentes ont montré que *T. whipplei* survit à la destruction par les phagocytes et se réplique dans les macrophages en interférant avec l'activation immunitaire innée (Desnues et al., 2010).

### 2.2.2 Le genre *Propionibacterium*

Le genre *Propionibacterium* comprend diverses espèces appartenant aux propionibactéries cutanées humaines, notamment *P. acnes*, *P. avidum*, *P. granulosum*, *P. innocuum* et *P. propionibacterium*. *Propionibacterium acnes* est un bâtonnet pléomorphe anaérobie non sporulé dont les produits finaux de fermentation comprennent l'acide propionique. La bactérie est omniprésente sur la peau humaine, principalement dans les follicules sébacés, où elle est généralement un commensal inoffensif. Néanmoins, *P. acnes* pourrait être un pathogène opportuniste (Ingham, 1999). En effet, la bactérie a été isolée de sites d'infection et d'inflammation.

### 2.2.3 Le genre *Micromonospora*

Les espèces de *Micromonospora* sont largement répandues dans la nature et vivent dans différents environnements. Elles sont connues depuis longtemps comme une source importante de métabolites secondaires en médecine, et il a été récemment démontré que les espèces de *Micromonospora* peuvent également influencer la croissance et le développement des plantes (Hirsch et valdés, 2009). Des souches de *Micromonospora* ont été identifiées comme endophytes naturels des nodules de légumineuses, bien que la nature et le mécanisme précis de leurs effets sur le développement et la productivité des plantes restent encore flous. Bien que le genre présente une diversité physiologique et biochimique considérable, *Micromonospora* constitue un groupe bien défini en termes de morphologie, de phylogénie et de chimiotaxonomie.

Ses colonies peuvent être de couleurs variées, notamment blanches, orange, roses ou brunes. Cependant, les espèces du genre *Micromonospora* ne sont pas toujours faciles à différencier sur la seule base de leur morphologie. Par conséquent, les phylogénies et les identifications d'espèces sont désormais plus couramment obtenues par l'analyse de la séquence du gène de l'ARNr 16S ou *gyrB* (le gène codant pour l'ADN topoisomérase). Le genre *Micromonospora* est principalement composé d'actinobactéries du sol, qui représentent 32 de ses espèces, selon la dernière version du manuel de Bergey (Genilloud O., 2012), bien que 50 actinobactéries du sol de ce genre aient été décrites de manière valide à la date de rédaction de cet article. La plupart de ces espèces ont été isolées de sols alcalins ou neutres et, dans une moindre mesure, de milieux aquatiques.

La population de spores de *M. echinospora* est connue pour être hétérogène en ce qui concerne ses caractéristiques de réponse à la chaleur, ce qui suggère qu'une activation thermique de routine pourrait être utilisée pour éliminer la variabilité naturelle existant au sein des populations de cette espèce et de ses apparentées (**Hoskisson et al ., 2000**). De plus, l'analyse du génome de *M. lupini* Lupac 08 a révélé une diversité de gènes susceptibles d'aider la bactérie à survivre dans le sol ou dans les tissus végétaux. Cependant, malgré la présence de nombreux gènes codant pour des enzymes putatives de dégradation du matériel végétal, cette bactérie n'est pas considérée comme un phytopathogène (**Hoskisson et al ., 2014**). De plus, des comparaisons génomiques ont montré que *M. lupini* Lupac 08 est métaboliquement étroitement apparentée aux souches ACN14a, CcI3 et EAN1pec de *Frankia* sp. Ces résultats suggèrent que le genre *Micromonospora* a subi un processus d'adaptation jusqu'alors non identifié, passant d'un mode de vie purement terrestre à un mode de vie endophyte facultatif.

Ce genre est également connu pour produire un grand nombre d'antibiotiques (**Berdy, 2005**) et se classe au deuxième rang après *Streptomyces* à cet égard, synthétisant jusqu'à 500 molécules différentes aux propriétés variées (**Genilloud O ., 2012**). Les espèces de *Micromonospora* peuvent produire des enzymes hydrolytiques, ce qui leur permet de jouer un rôle actif dans la dégradation de la matière organique dans leurs habitats naturels. Les espèces marines de *Micromonospora* ont récemment été étudiées quant à leur large répartition et à leur utilisation potentielle comme probiotiques. Comme d'autres actinobactéries endophytes, *Micromonospora* peut supprimer un certain nombre d'agents pathogènes in vitro et in planta en activant des gènes clés des voies de résistance systémique acquise (SAR) ou de jasmonate/éthylène (JA/ET). Malheureusement, il existe peu d'études génomiques sur les espèces de *Micromonospora* et il existe un manque d'outils pour leur analyse génétique malgré leur capacité reconnue à produire des métabolites secondaires (**Hirsch et Valdés ., 2009**).

#### 2.2.4 Le genre *Mycobacterium*

La morphologie relativement simple de mycobactéries explique en partie pourquoi elle est parfois négligée lors de l'élaboration des critères de classification des actinobactéries. Avec les genres *Corynebacterium* et *Nocardia*, *Mycobacterium* (CMN) forme un taxon monophylétique au sein des *Actinobacterium*, le groupe CMN. Ce groupe partage une enveloppe cellulaire cireuse inhabituelle contenant des acides mycoliques, ce qui signifie que ces bactéries sont acido-résistantes et alcool-résistantes (**Baraka et al ., 2016**).

La paroi cellulaire des mycobactéries contient divers polymères polysaccharidiques, dont l'arabinogalactane, le lipomannane, le lipoarabinomannane et les phosphatidyl-inositol-mannosides (**Chatterjee et al ., 1992**). Des représentants du genre *Mycobacterium* ont fait l'objet de trois études majeures de séquençage de l'ARNr 16S (**Pitulle et al ., 1992**).

Les mycobactéries sont généralement des saprophytes libres (**Falkinham,1996**) et sont responsables d'un large éventail de maladies humaines. Les maladies mycobactériennes sont très souvent associées aux patients immunodéprimés, en particulier ceux atteints du sida. De plus, *M. bovis* et *M. tuberculosis*, initialement isolés chez des animaux infectés, sont très probablement des parasites obligatoires de l'homme (**Collins ., 2000**). Les deux espèces peuvent survivre dans les macrophages et provoquent une maladie pulmonaire, bien que d'autres organes que les poumons puissent être touchés. *M. leprae*, responsable de la lèpre, vit dans les cellules de Schwann et les macrophages ; l'infection par cette espèce entraîne une maladie granulomateuse chronique de la peau et des nerfs périphériques (**Hayman , 1991**).

Il est intéressant de noter que *M. ulcerans*, est un agent responsable de la majorité des maladies mycobactériennes, a également été isolé comme un habitant du sol qui vive en symbiose avec les racines de certaines plantes dans les forêts tropicales humides et autres environnements similaires (**Van der werf et al ., 1999**). *Mycobacterium marinum* a été initialement identifié comme agent responsable de la tuberculose chez les poissons en 1926 (**Aronson ,1926**) et il a ensuite été démontré qu'il provoquait également des maladies cutanées chez l'homme (**Norden et Linell , 1951**).

### 2.2.5 Le genre *Streptomyces*

Les différents genres mycéliens d'Actinobactéries abritent certaines des bactéries les plus complexes connues (**Miyadoh , 1997**), telles que *Streptomyces*, *Thermobifida* et *Frankia*. Parmi les trois genres, *Streptomyces* a fait l'objet d'une attention particulière pour trois raisons principales.

**Premièrement**, les streptomycètes sont abondants et importants dans le sol où ils jouent un rôle majeur dans le cycle du carbone piégé dans les débris organiques insolubles, notamment ceux des plantes et des champignons. Cette action est rendue possible par la production de diverses exoenzymes hydrolytiques.

**Deuxièmement**, le genre présente une répartition phylogénétique assez large (**Aderem.,2005**).

**Troisièmement**, les streptomycètes considérés comme le genre le plus compétent dans la nature par la production d'une multitude et une diversité étonnantes de métabolites secondaires bioactifs, par conséquent, ils présentent un grand intérêt en médecine et dans l'industrie (Hopwood ,2007).

### 3. Cycle de développement des actinobactéries

Les actinobactéries présentent un cycle biologique semblable à celui de certains champignons, mais leur structure procaryotique sans noyau distinct, les a classés parmi les bactéries. Sur un milieu solide, le cycle commence par la germination d'une spore qui donne lieu à un mycélium végétatif formé d'hyphes multi-nucléoïde, ramifiés et ancrés dans le milieu solide (Ibrahimi , 2020).

Le cycle de vie de *Streptomyces* (Figure 01) commence par la germination d'une spore par la croissance d'un ou deux tubes germinatifs qui se développent en hyphes. Les hyphes se développent par ramification et extension de la pointe, établissant ainsi un réseau d'hyphes qui forment conjointement le mycélium végétatif. En réponse à des stress tels que l'épuisement des nutriments, une partie du mycélium est sacrifiée, suite à une dégradation autolytique par mort cellulaire programmée (PCD) ; cela conduit à la libération de nutriments dans l'environnement qui seront utilisés pour la formation d'hyphes et de spores aériennes.

Le début de la différenciation cellulaire coïncide avec la production d'antibiotiques, qui offre une protection contre les micro-organismes concurrents attirés par les nutriments libérés pendant la PCD (Van der Meij et al ., 2017 ).

### 4. Recherche de nouvelles espèces d'actinobactérie dans un écosystème donné

La biodiversité des actinobactéries dans un écosystème donné a traditionnellement été axé sur un échantillonnage intensif provenant d'une grande diversité de lieux géographiques et d'habitats. De nombreux échantillons ont été traités empiriquement par des méthodes d'isolement générales, aboutissant dans la plupart des cas à l'isolement récurrent des espèces prédominantes dans ces habitats, malgré la biogéographie des échantillons utilisés.

Des millions de souches ont été isolées et criblées au fil des décennies dans des laboratoires industriels et la probabilité d'isoler de nouveaux composés à partir d'espèces apparentées communes et fréquemment rencontrées est aujourd'hui trop faible.

Malgré les estimations concernant la production potentielle de nouvelles molécules inconnues par *Streptomyces* (Watve MG et al ., 2001), un grand nombre d'espèces sont largement réparties dans de nombreux environnements différents et produisent fréquemment de molécules bien connues et structurellement apparentées qui doivent être identifiées et éliminées le plus tôt possible dans les programmes de découverte de médicaments.

Contrairement à la théorie selon laquelle tout est partout, des conditions environnementales spécifiques constituent d'importants facteurs de sélection. Des assemblages microbiens spécifiques et la distribution de certaines espèces microbiennes, même parmi les taxons les plus répandus, présentent des schémas biogéographiques principalement déterminés par ces conditions microenvironnementales, qui peuvent se traduire par une nouvelle chimie (Thornburg CC et al ., 2010).

Les données suggèrent fortement que des espèces mineures ou des souches génétiquement distinctes d'actinobactéries, qui n'ont pas encore été cultivées au laboratoire, sont encore présentes dans la plupart des environnements, et que de nouvelles espèces sont systématiquement décrites, susceptibles d'être à l'origine d'une nouvelle molécule avec de nouvelles activités.

Sur la base de cette hypothèse du travail, la majorité des chercheurs ont orienté leurs explorations vers une grande variété de sources, notamment des niches terrestres spécifiques, des associations avec les végétaux comme hôtes et vers des environnements marins. Ces approches ont mis l'accent sur l'exploration de communautés d'actinobactéries inexploitées qui pourraient être associées aux rhizosphères, aux endophytes végétaux, aux lichens et aux bactéries endolithiques (Salazar O et al ., 2006) ainsi qu'aux sédiments marins et aux actinomycètes associés aux invertébrés, ce qui pourrait guider l'isolement de nouvelles communautés microbiennes susceptibles de produire de nouveaux composés avec de potentialité importante (Tableau 01).

Cette approche combinée à de nouvelles méthodes d'isolement développées a permis l'isolement d'espèces nouvelles ou moins fréquentes parmi les actinomycétales qui sont aujourd'hui des membres courants (Tamaki H et al ., 2005). La plupart de ces méthodes étaient axées sur l'isolement sélectif de membres de ces taxons grâce à l'utilisation de milieux pauvres en nutriments, dépourvus de sources de carbone, et incluant dans certains cas des

concentrations sous-inhibitrices d'antibiotiques susceptibles de favoriser le développement de souche à croissance lente.

Alors que des enrichissements spécifiques de certains taxons ont été décrits au cours des 15 dernières années (Zakharova OS et al., 2003). Les approches les plus productives ont résulté de l'isolement systématique de colonies morphologiques distinctes présentes dans des plaques d'isolement pauvres en nutriments et à croissance lente (Janssen PH et al., 2002) indépendamment de leur aspect filamenteux.

**Tableau 01** : Quelques exemples des nouvelles souches d'actinobactéries récemment isolées et identifiées

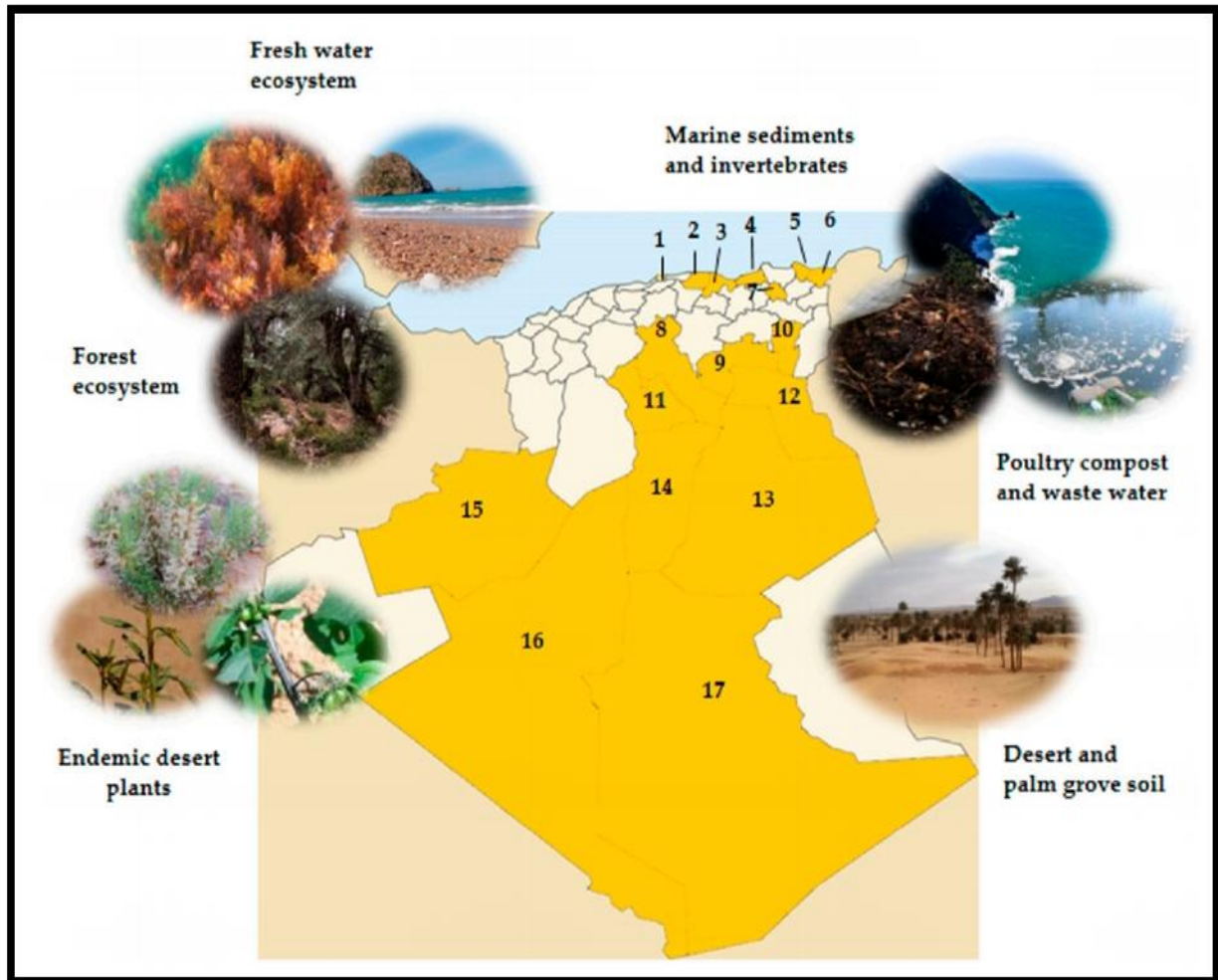
Souches	Origines (genre)	Caractéristiques
<i>Micromonospora palythoïcola</i>	<i>Micromonospora</i> Un habitant de Palythoa	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Bactérie filamenteuse aérobie à Gram positif</li> <li>➤ Il produit des mycéliums de substrat largement ramifiés</li> <li>➤ La colonie apparaît dans un ton jaune orangé.</li> <li>➤ L'hydrolyse de l'amidon est positive</li> <li>➤ La croissance se produit à pH 7–10 et à une température de 25–37 °C. Croissance en présence de NaCl jusqu'à 5 % (p/v).</li> <li>➤ De faibles activités enzymatiques sont observées pour l'estérase (C4), l'<math>\alpha</math>-chymotrypsine, la phosphatase acide (Kanchanasin et al., 2024).</li> </ul>
<i>Streptomyces poriticola</i>	<i>Streptomyces</i> Habitant de Porites	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Actinobactérie filamenteuse, aérobie, à Gram positif</li> <li>➤ Forme des mycéliums aériens et de substrat largement ramifiés</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Une masse aérienne blanche peut être observée sur tous les milieux gélosés.</li> <li>➤ Les activités enzymatiques sont positives pour la phosphatase alcaline, la leucine arylamidase et la N-acétyl-β-glucosaminidase.</li> <li>➤ La croissance se produit à un pH de 6 à 10 et à une température de 25 à 37 °C. Tolère le NaCl jusqu'à 7 % (p/v) (<b>Kanchanasin et al ., 2024</b>).</li> </ul>
<b><i>Actinopolyspora biskrensis</i></b>	<i>Actinopolyspora a</i>  Habitant à Biskra	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Actinomycète Gram positif, aérobie, extrêmement halophile.</li> <li>➤ Le mycélium aérien est blanc à blanc jaunâtre</li> <li>➤ Le mycélium du substrat est bien développé et se fragmente avec l'âge en bâtonnets non mobiles.</li> <li>➤ La croissance sont de 20 à 37 °C (optimales à 30 °C) et de pH 6,0 à 8,0 (optimales à pH 7,0) (<b>Saker et al ., 2015</b>).</li> </ul>
<b><i>Prauserella oleivorans</i></b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Les cellules sont positives à la coloration de Gram et strictement aérobies.</li> <li>➤ Forme des colonies jaune clair et un mycélium de substrat fragmenté en forme de bâtonnet avec un mycélium aérien blanchâtre.</li> <li>➤ Elle forme des spores non mobiles.</li> <li>➤ La croissance optimale se produit à 45 C, 3–5 %(p/v) de NaCl et pH 7,0 (<b>Dastgheib et al ., 2017</b>).</li> </ul>

## 5. Les sites d'échantillonnage algériens fournissant des actinobactéries cultivables

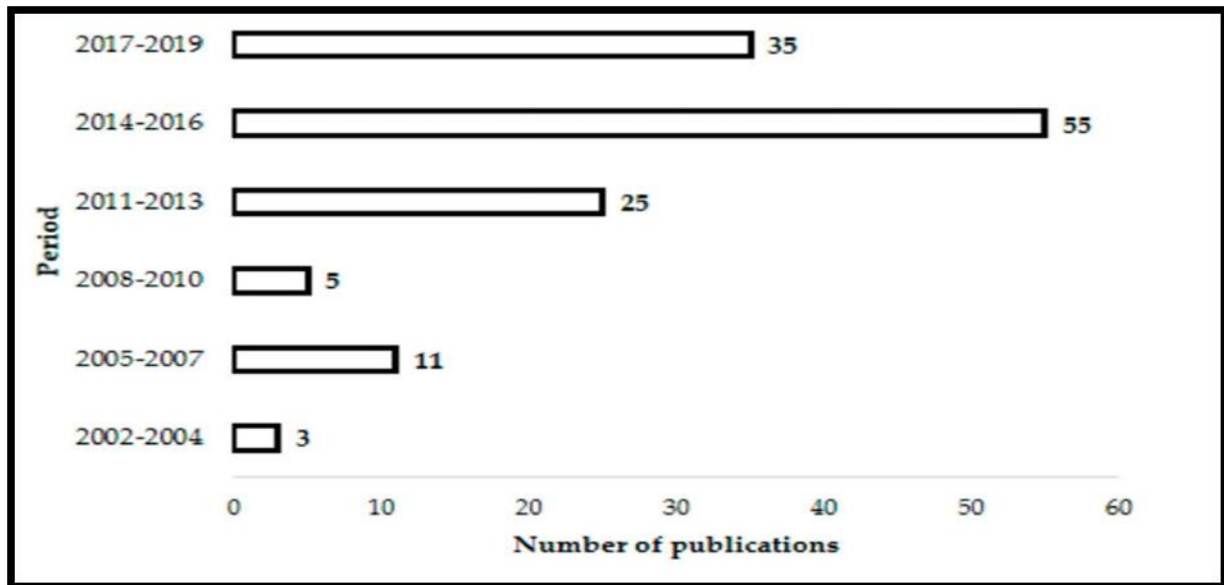
L'Algérie se distingue par une diversité climatique notable, allant des chaînes montagneuses enneigées du nord, bordant la mer Méditerranée, jusqu'au sud extrême où s'étend le désert du Sahara, considéré comme l'une des régions les plus chaudes au monde. Cette variation climatique contribue à une richesse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

Ce groupe bactérien a été isolé de divers écosystèmes, tels que les plantes sahariennes, (Zamoum M *et al.*, 2015), les grottes (Belyagoubi *et al.*, 2018), les eaux usées (Souagui S *et al.*, 2019) les sédiments fluviaux (Djinni I *et al.*, 2018) les zones hyper salées (Souagui Y *et al.*, 2015) les sols désertiques sahariens (Sabaou N *et al.*, 1998), ainsi que des algues dérivées (Cragg GM *et al.*, 2013). Cette diversité écologique est associée à une grande chimiodiversité de métabolites produits par ces actinobactéries. Les sites d'échantillonnage les plus couramment étudiés pour l'isolement de ces bactéries sont représentés dans la (Figure 04).



**Figure 04 :** Les sites d'échantillonnage les plus explorés pour les actinobactéries en Algérie .1: Alger, 2 : TiziOuzou, 3 : Bejaia, 4 : Jijel, 5 : Annaba, 6 : El Taref, 7 : Constantine,8 Djelfa, 9 : Biskra, 10 : Khenchela, 11 :Laghouat, 12 : El Oued, 13 : Ouargla, 14 : Ghardaia, 15 :Bechar, 16 : Adrar, et 17 : Tamarasset . **(Ibtissem Djinni et al .,2019 ) .**

Depuis 2002, un total de 134 articles ont été publiés sous le thème de la recherche sur les actinobactéries en tant que source de nouveaux agents thérapeutiques potentiels **(Figure 05)** Ces publications abordent divers aspects, notamment l'isolement et la diversité des actinobactéries, ainsi que l'étude de la production de métabolites secondaires. Ces métabolites présentent un large spectre d'activités biologiques, principalement antimicrobiennes, mais aussi cytotoxiques et capables de favoriser la croissance des plantes. Par ailleurs, ces travaux mettent en lumière les perspectives d'applications biotechnologiques offertes par ces micro-organismes **(Harir M et al ., 2018) .**



**Figure 05** : variation du nombre de publications traitant de l'isolement et du profil métabolique des actinobactéries en Algérie (Ibtissem Djinni et *al.*, 2019).

---

**Chapitre II**

**Molécules d'intérêts**

**biotechnologique produites**

**par les actinobactéries**

---

Les actinobactéries sont connus pour leur puissant pouvoir de dégradation des macromolécules, de la biomasse végétale, de la lignine, de la cellulose, du xylène, de la pectine et d'autres polysaccharides complexes. Parmi ces microbes, les actinobactéries constituent une part importante de la population microbienne responsable de la décomposition de diverses biomolécules en produisant des enzymes extracellulaires. Les actinobactéries sont également connues comme des bio-usines à enzymes, avec des applications dans les industries textile, agroalimentaire, papetière, agricole, des détergents et pharmaceutique **(Barka et al ., 2016)**.

Les actinobactéries issus d'environnements extrêmes ou peu exploités produisent également des enzymes aux propriétés innovantes, telles qu'une grande stabilité et une spécificité de substrat. Ces enzymes métaboliques, l'amylase, la lipase et la cellulase, issues de ces microbes offrent un potentiel de production élevé et répondent aux exigences industrielles en matière de commercialisation et de bénéfices sociétaux. Un grand nombre d'enzymes issues d'actinobactéries ont été identifiées et sont utilisées dans les industries biotechnologiques **(Bhatti et al ., 2017)**.

Les actinobactéries sont également de candidats prometteurs pour la production de métabolites secondaires **(Figure 06)**, comme antibiotiques, antifongiques et des polymères de types exopolysaccharides. En agriculture, la capacité des actinobactéries à produire des acides organiques, à fixer l'azote atmosphérique et à décomposer la matière organique est d'une importance vitale **(Bhatti et al ., 2017)**.

Les métabolites secondaires des actinobactéries constituent environ les deux tiers de tous les produits bioactifs d'origine naturelle ayant une importance pharmaceutique **(Tiwari et Gupta, 2012)**. Parmi les 23 000 métabolites bioactifs issus de micro-organismes, environ 10 000 métabolites sont rapportés chez les actinobactéries.

Ce chapitre met en lumière les dernières avancées sur les molécules d'intérêts produites par actinobactéries, en accordant une attention particulière aux enzymes d'intérêts industriels, aux molécules antimicrobiens et aux exopolysaccharides.

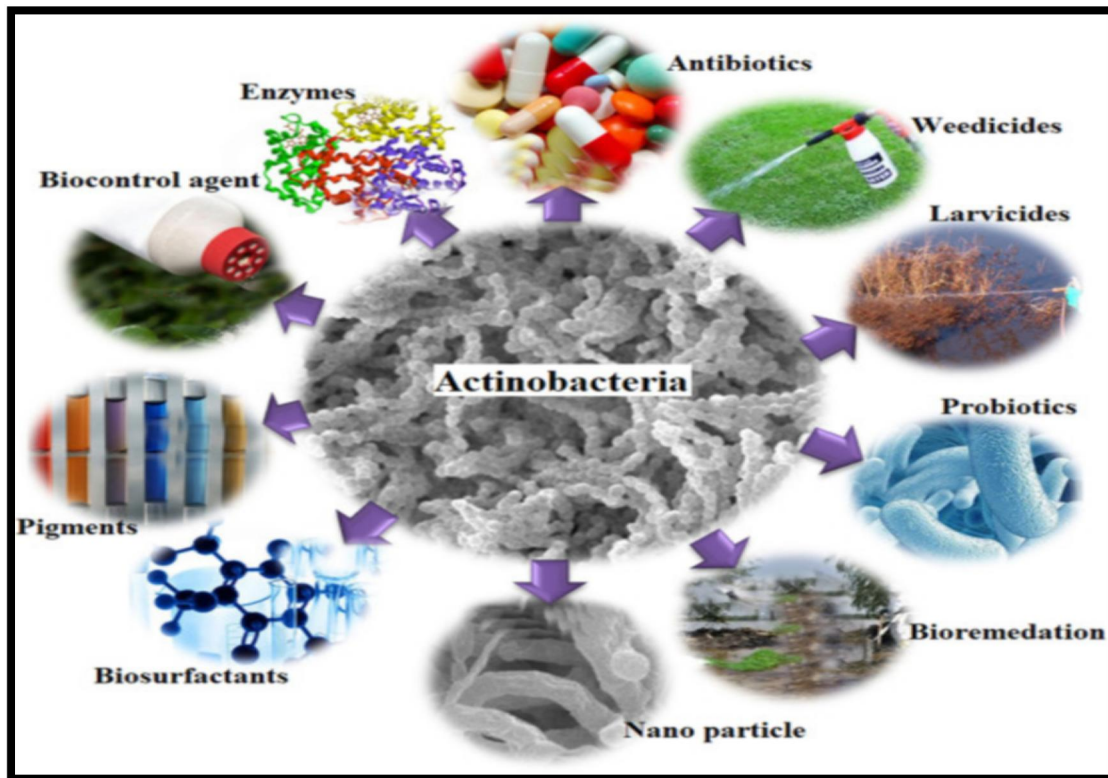


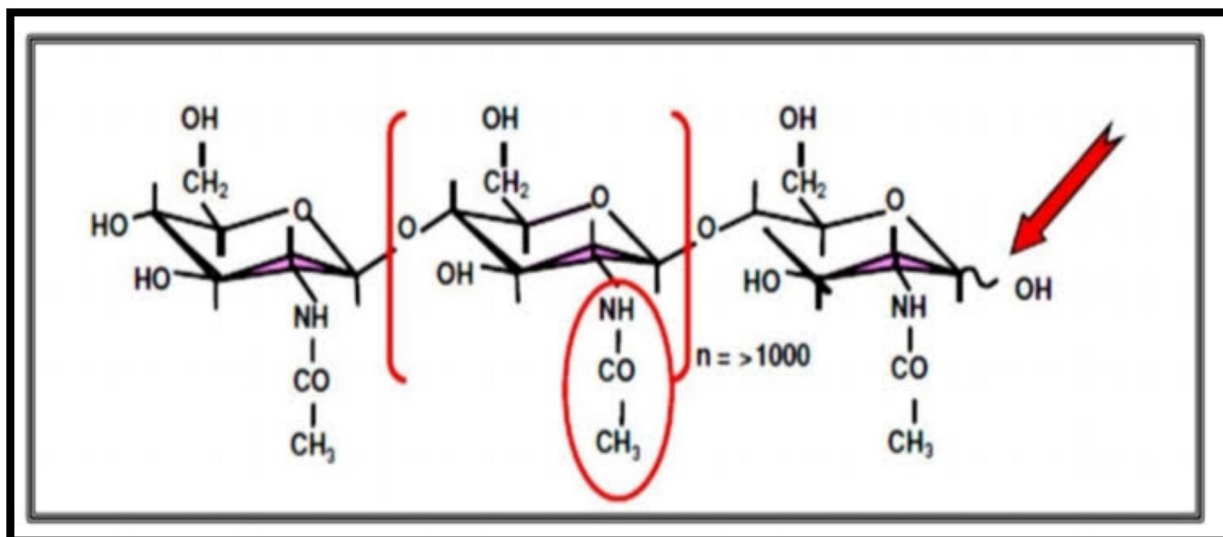
Figure 06 : Les actinobactéries source de biomolécules d'intérêt biotechnologique (Deka P et *al.*, 2020)

## 1. Production des enzymes

### 1.1 Chitinase

La chitinase est une enzyme hydrolytique qui catalyse la dégradation de la chitine, un polysaccharide présent dans les parois cellulaires des champignons et dans l'exosquelette des arthropodes. Elle est produite par divers organismes, notamment les actinobactéries, qui sont bien connues pour leur capacité à produire des enzymes extracellulaires et des composés bioactifs. Chez les actinobactéries, les chitinases jouent un rôle important dans la biodégradation de la chitine (Bhattacharya et *al.*, 2007).

La chitine est un polysaccharide cristallin constitué de longues chaînes linéaires contenant plus de 1000 unités de N-acétyl- $\beta$ -Dglucosamine liées par des liaisons  $\beta$ 1-4 (Figure 07) (Ruiz-Herrera et SanBlas 2003) .



**Figure 07** : Structure d'une chaîne linéaire de chitine.L'unité N-acétylglucosamine, indiquée entre parenthèses, constitue l'unité répétitive du polymère de chitine. Le groupement acétylé est entouré en rouge. La flèche indique l'extrémité réductrice de la chaîne (**Ruiz-Herrera et SanBlas , 2003**) .

Les actinobactéries, notamment les espèces *Streptomyces griseus*, *Streptomyces albidoflavus*, *Streptomyces viridificans*, *Streptomyces plicatus*, *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces exfoliatu* sont démontré une activité chitinolytique significative et sont souvent étudiées pour leurs applications contre les champignons phytopathogènes comme agent de lutte biologique (**Sahai et Mani, 1993**).

### Applications

Les chitinases sont des enzymes ont de nombreuses applications dans des domaines variés. En agriculture, elles jouent un rôle clé dans la lutte biologique contre les champignons phytopathogènes, en hydrolysant la chitine de leurs parois cellulaires, ce qui en fait une alternative prometteuse aux fongicides chimiques (**Sahai et Mani, 1993 ; Bhattacharya et al., 2007**).

Dans le domaine médical, certaines chitinases, qu'elles soient d'origine microbienne ou humaine, sont étudiées pour leurs implications dans le traitement des maladies fongiques, des troubles inflammatoires et comme cibles potentielles dans la hérapie de l'asthme et du cancer (**Seidl, 2008**).

Sur le plan industriel, ces enzymes sont largement utilisées dans la valorisation des déchets riches en chitine, comme les carapaces de crustacés, pour produire des composés bioactifs tels que la glucosamine et les chitooligosaccharides, reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et immunostimulantes (**Hamid et al ., 2013; Synowiecki et Al-Khateeb, 2003**).

## **1.2 Pectinases**

Les pectinases sont des enzymes capables de dégrader la pectine, un polysaccharide essentiel des parois cellulaires végétales. Parmi les producteurs microbiens, les actinobactéries, notamment les espèces du genre *Streptomyces*, se distinguent par leur capacité à sécréter efficacement ce type d'enzymes (**Kashyap et al ., 2001**).

Plusieurs souches d'actinobactéries ont été identifiées comme productrices de pectinases. Parmi celles-ci (**Tableau 02** )

**Tableau 02** : Des souches d'actinobactéries productrices de pectinase.

<b>Souche</b>	<b>Caractéristique principale</b>	<b>Référence</b>
<b><i>Streptomyces sp. PG03</i></b>	Forte activité pectinolytique	<b>(Gummadi et Panda, 2003)</b>
<b><i>Streptomyces exfoliatus</i></b>	Utilisée pour la clarification des jus	<b>(El-Sersy et al., 2010)</b>
<b><i>Streptomyces lydicus</i></b>	Production d'enzymes pectolytiques à usage agricole	<b>(Hoondal et al., 2002)</b>
<b><i>Streptomyces avermitilis</i></b>	Contient des gènes codant pour la pectinase	<b>(Ikeda et al., 2003)</b>
<b><i>Streptomyces rochei</i></b>	Activité élevée sur milieux contenant de la pectine	<b>(Dahiya et al., 2001)</b>

## **Applications**

Les pectinases sont économiquement très importantes en raison de leurs vastes implications. La découverte de l'enzyme pectinase a entraîné une révolution dans les secteurs économique et commercial. Bien qu'elle ait été utilisée dans la fabrication de jus de fruits et de vin dans le passé.

Les pectinases jouent un rôle essentiel dans de nombreuses industries, notamment celles des jus de fruits, du vin, du papier et de la pâte à papier. Elles sont également largement utilisées dans le traitement des eaux usées, la production de bioéthanol, ainsi que dans des applications biologiques telles que l'extraction de l'ADN végétal et l'isolement des protoplastes.

Les pectinases sont également utilisées dans la préparation d'aliments pour animaux, la saccharification et la liquéfaction de la biomasse, le rouissage et le démuçilaginage des fibres végétales, le bioscourage des fibres du coton, la fermentation du café et du thé et l'extraction d'huile (**Kubra et al ., 2017 ; Shrestha et al ., 2021**).

### **1.3 Cellulase**

La cellulase est une enzyme produite principalement par les bactéries, qui catalysent la décomposition de la cellulose et d'autres polysaccharides apparentés (**Malhotra et Alghuthaymi, 2022**).

Les actinobactéries sont l'une des sources les plus prometteuses dans la production de la cellulase, car elles peuvent métaboliser la cellulose. Ce groupe de bactérie, produit les enzymes cellulases nécessaires à la dégradation de la cellulose pour leur propre utilisation et pour satisfaire leurs besoins énergétiques (**Samuel et al ., 2022**).

Les actinobactéries, notamment les genres *Streptomyces*, *Cellulomonas*, *Rhodococcus*, *Thermobifida*, *Nocardia*, *Paenibacillus*, *Microbacterium*, *Actinomyces*, *Dermatophilus*, *Kitasatospora*, *Dactylosporangium*, *Nonomurea* et *Streptosporangium*, sont reconnues pour leur capacité à produire des cellulases (**Korsa et al ., 2023**).

Les espèces (*Thermomonosporafusca*, *Thermobifidafusca* et *Thermobifidahalotolerans*) ont également été documentées comme une source efficace d'enzymes cellulases . Par exemple, *Thermobifidafusca*, une actinobactérie thermophile, produit une gamme variée de cellulases, dont des exoglucanases et des endoglucanases. Cette actinobactérie est capable de dégrader la cellulose cristalline grâce à l'action synergique de ces enzymes (**Saini et al ., 2023**).

*Actinoalloteichussp.* MHA15, sont également reconnues pour leur production de cellulases thermotolérantes, résistantes aux métaux et aux sels, ce qui les rend prometteuses pour la conversion de la biomasse lignocellulosique en bioénergie (**Rajagopal et al ., 2016**).

### **Applications**

La cellulase est une enzyme clé dans la dégradation de la cellulose, un composant principal des parois cellulaires végétales. Grâce à son action hydrolytique, elle est largement utilisée dans diverses industries.

Dans l'industrie alimentaire, la cellulase est exploitée pour améliorer l'extraction des jus de fruits. En facilitant la dégradation des parois cellulaires végétales, elle permet une augmentation significative du rendement en jus, ainsi qu'une amélioration de la clarté et de la stabilité des produits finis (**Kumar et al ., 2020**).

Un des rôles les plus stratégiques de la cellulase est bien la production de bioéthanol de seconde génération. Elle permet l'hydrolyse enzymatique de la cellulose présente dans les déchets lignocellulosiques (pailles, résidus agricoles, bagasse, etc.), produisant des sucres fermentescibles pouvant ensuite être transformés en éthanol par fermentation microbienne. Ce procédé contribue au développement de biocarburants durables, en valorisant des ressources non alimentaires et en réduisant les émissions de gaz à effet de serre (**Kumar et al ., 2020 ; Sukumaran et al ., 2005**).

En agriculture, l'utilisation de la cellulase permet d'accélérer la décomposition de la matière organique dans les composts et d'améliorer l'assimilation des nutriments dans les sols. Elle favorise ainsi la santé des sols et l'efficacité de l'amendement organique (**Bhat, 2000**).

### **1.4 Xylanases**

Les xylanases représentent des enzymes hydrolytiques capables de décomposer la structure  $\beta$ -1,4 du xylane, un complexe polysaccharide présent dans la paroi cellulaire des plantes (Bajpai, 2022). Elles jouent un rôle crucial dans la dégradation enzymatique de la biomasse lignocellulosique, afin de générer des biocarburants et d'autres produits à haute valeur ajoutée (Kim et al., 2023).

Les xylanases sont synthétisées par une vaste gamme de microorganismes. Cependant, les actinobactéries se révèlent être une excellente source pour la synthèse de ces enzymes. D'après la littérature, la xylanase dérivée d'actinobactéries a d'abord été identifiée à partir d'une actinobactérie marine de l'espèce *Thermomono sporafusca*, mais d'autres espèces ont également été mentionnées, comme : *Streptomyces thermoviolaceus* OpC-520, *Streptomyces viridosporus* T7A, *Streptomyces albus* et *Streptomyces hygroscopticus* (Souza et al., 2023).

### **Applications**

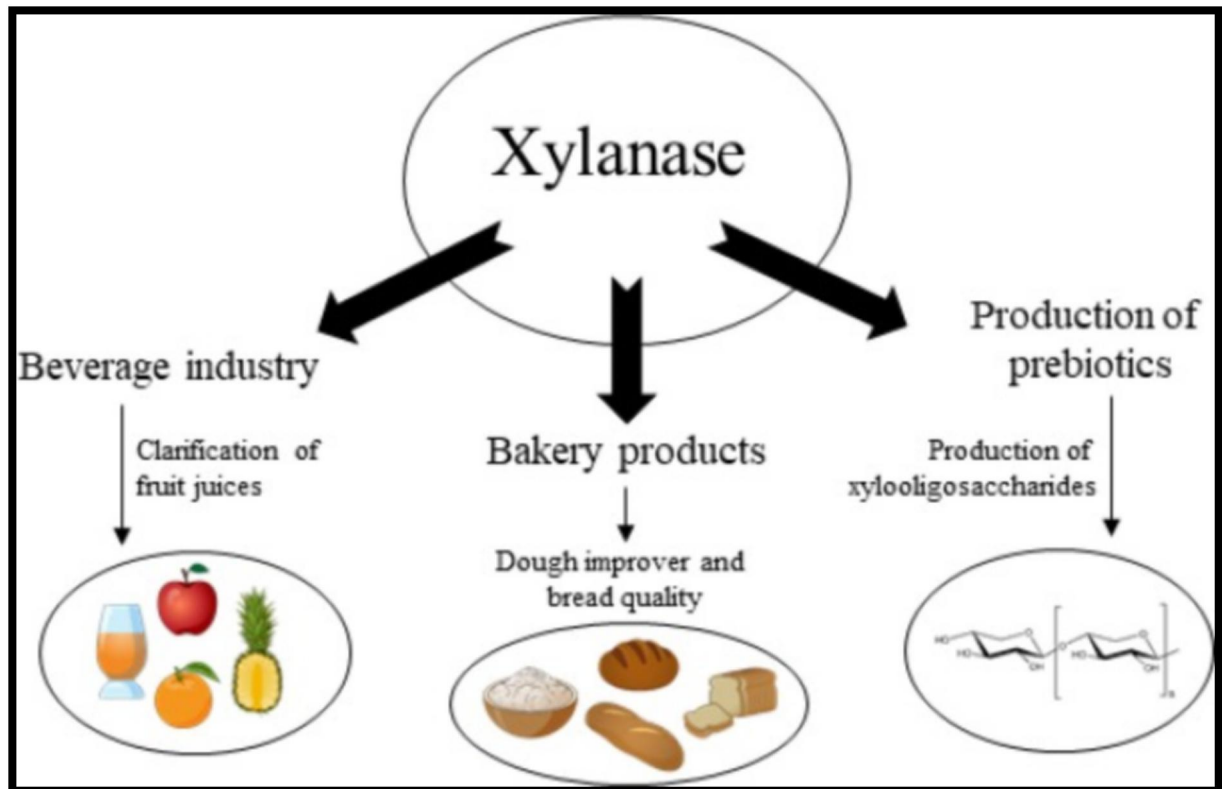
Les possibilités d'application des xylanases microbiennes dans diverses industries biotechnologiques (Figure 08) englobent les secteurs de l'alimentation humaine, de l'alimentation animale, des biocarburants, du textile, des produits de nettoyage, sans oublier le traitement des déchets (Rosmine et al., 2017).

Les xylanases jouent un rôle important dans l'optimisation de l'extraction, de la transparence, de la conservation et de la récupération des jus, des colorants, des huiles minérales, des vitamines, des huiles essentielles et des parfums (Arya et al., 2022).

Cette enzyme trouve également des applications dans le secteur des pâtes et papiers, le domaine textile, la nutrition animale, les médicaments et la fabrication de bioéthanol a produit un grand engouement industriel (Bajpai, 2022).

Elles ont été utilisées pour la synthèse d'un édulcorant naturel et le xylitol. En raison de la forte demande de xylanases dans les procédés industriels, l'exploration de souches surproductrices de xylanase est un sujet biotechnologique pertinent (Sohail et al., 2022).

Actuellement, divers procédés enzymatiques sont employés dans le secteur des boissons. L'utilisation de ces techniques pour clarifier les jus de fruits entraîne une réduction de la viscosité et de la turbidité, facilitant ainsi la séparation des particules en suspension lors des phases suivantes, comme la centrifugation et la filtration (Adiguzel et al., 2019).



**Figure 08** : Résumé de certaines des avancées récentes de l'application de xylanases dans l'industrie alimentaire (Souza *et al.*, 2022).

### 1.5 Protéases

Les **protéases** sont des enzymes capables de catalyser l'hydrolyse des liaisons peptidiques dans les protéines, aboutissant à la libération de peptides et d'acides aminés. Parmi les micro-organismes producteurs de protéases, les actinobactéries, et en particulier le genre *Streptomyces*, occupent une place importante en raison de leur capacité à produire une large gamme de protéases extracellulaires actives dans des conditions extrêmes de température, pH et salinité (Sarker *et al.*, 2020 ; Vasantha *et al.*, 2012 ; Singh *et al.*, 2016).

Les protéases sont synthétisées par une large variété de micro-organismes. Cependant, certaines actinobactéries se distinguent par leur capacité élevée à en produire, notamment *Streptomyces griseus* (Singh *et al.*, 2016), *Streptomyces pulvereceus* (Vasantha et Srikumar, 2012), *Nocardiosis dassonvillei* (Sarker *et al.*, 2020), *Actinomadura keratinilytica* (Jaouadi *et al.*, 2010) et *Streptomyces* sp. MAB18 (Nawani *et al.*, 2002).

## **Applications**

Les catalyseurs biologiques jouent un rôle essentiel dans de nombreuses applications industrielles écoresponsables, en raison de leur grande efficacité, de leur spécificité et de leur capacité à accélérer les réactions chimiques. Ils agissent en formant des complexes d'état de transition avec leur substrat, ce qui permet de diminuer l'énergie d'activation nécessaire à la réaction (**Ash et Mishra, 2023**).

Les protéases libres sont principalement employées dans divers secteurs à savoir : agroalimentaire, laitier, pharmaceutique et textile. Également sont largement utilisées dans le nettoyage à sec, la transformation de la viande, la fabrication du fromage, l'extraction de l'argent des pellicules, la production de produits digestifs et certains traitements médicaux des inflammations et des blessures virulentes (**Patil et Jadhav, 2017**).

### **1.6 Amylases**

Les **amylases** sont des enzymes hydrolases qui catalysent la dégradation de l'amidon en sucres plus simples comme le maltose et le glucose. Les actinobactéries, en particulier les espèces du genre *Streptomyces*, sont reconnues pour leur capacité à produire des amylases extracellulaires thermostables et actives à des pH variés (**Ghumro et al., 2011**).

La possibilité d'utiliser des actinobactéries, en particulier des *Streptomyces*, pour la production d'enzymes a récemment été étudiée . Les espèces de *Streptomyces* sont des organismes hétérotrophes capables d'utiliser à la fois des molécules simples et complexes comme nutriments. L'activité hydrolysante de l'amidon est largement répandue chez les espèces de *Streptomyces*, dont certaines peuvent attaquer et hydrolyser les granules d'amidon brut en libérant principalement du maltose ; ces enzymes sont utilisées pour la conversion industrielle de l'amidon brut en sucre en vue de la fermentation.

## **Applications**

L'alpha-amylase est actuellement utilisée dans un large éventail d'applications industrielles telles que la production d'éthanol et de sirop de maïs à haute teneur en fructose, ainsi que dans les industries agroalimentaire, textile, papier et des détergents (**Tableau 03**).

**Tableau 03** : les applications les plus récentes de l'alpha-amylase dans différents secteurs industriels.

Application de l'amylase	Description	Souches d'actinobactéries productrices	Références
<b>Industrie agroalimentaire</b>	Hydrolyse de l'amidon pour la production de sirops de glucose, maltose, etc.	<i>Streptomyces griseus</i> , <i>Streptomyces venezuelae</i>	<b>(Sundarram et Murthy, 2014)</b>
<b>Industrie textile</b>	Dégommage des tissus (retrait de l'amidon des fibres textiles)	<i>Streptomyces albidoflavus</i>	<b>(Prakash et Jaiswal, 2010)</b>
<b>Industrie du papier</b>	Désencrage du papier recyclé et réduction de la viscosité des pâtes à papier	<i>Streptomyces rochei</i> , <i>Streptomyces rimosus</i>	<b>(Singh et al., 2011)</b>

<b>Détergents</b>	Ajout d'amylase pour dégrader l'amidon des taches alimentaires sur les vêtements	<i>Streptomyces avermitilis</i>	<b>(Ellaiah et al., 2002)</b>
<b>Industrie pharmaceutique</b>	Production de prébiotiques ou d'intermédiaires bioactifs	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	<b>(Sivaramakrishnan et al., 2006)</b>
<b>Production de biocarburants</b>	Conversion de biomasse riche en amidon en sucres fermentescibles	<i>Streptomyces sp.</i> MSC702	<b>(Dutta et al., 2016)</b>

## 2. Molécules antifongiques

Environ 45 % des métabolites secondaires bioactifs provenant de micro-organismes sont synthétisés par les actinobactéries, dont près de 75 % émanent des espèces de *Streptomyce sp* (Dar et Ahmad, 2024).

Les actinobactéries, notamment les genres *Streptomyces*, *Micromonospora* et *Pseudonocardia*, sont connues pour leur aptitude à produire une vaste gamme de métabolites secondaires antifongiques. Ces composés naturels présentent des structures chimiques variées et des mécanismes d'action ciblant généralement la membrane cellulaire ou la paroi des champignons pathogènes.

Les *Streptomyces* synthétisent également divers composés aux caractéristiques antifongiques (**Tableau 04**). Parmi ceux-ci, l'amphotéricine B, un macrolide polyénique issu de *S. nodosus*, est employé pour soigner les candidoses provoquées par des infections à *Candida albicans* ainsi que l'aspergillose engendrée par certaines espèces d'*Aspergillus* chez l'homme et l'animal (**Baghirova et al.,2022**).

À la suite de ces premières découvertes, d'autres composés antifongiques ont été mis en lumière, tels que l'*ileumycine*, produite par *S. lavendulae*, apte à inhiber la croissance des champignons phytopathogènes appartenant au genre *Colletotrichum* (**Maud et al.,2024**).

**Tableau 04** : Souches d'actinobactéries productrices de substances antifongiques.

Souche actinobactérienne	Substance antifongique produite	Champignon cible	Références
<i>Streptomycesnoursei</i>	Nystatine	<i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus spp</i>	<b>(Barka et al., 2016)</b>
<i>Streptomycesnodosus</i>	Amphotéricine B	Mycoses systémiques humaines	<b>(Subramani et Aalbersberg, 2012)</b>
<i>Streptomycesnatalensis</i>	Natamycine	<i>Fusariumspp.</i> , <i>Penicillium spp.</i>	<b>(Hamedi et al., 2019)</b>
<i>Actinoplanesmissouriensis</i>	Ristocétine (activité secondaire)	<i>Candida albicans</i>	<b>(Subramani et Aalbersberg, 2012)</b>
<i>Nocardiopsis alba</i>	Nocardicin A	<i>Candida spp.</i> , <i>Aspergillus niger</i>	<b>(El-Naggar et al., 2017)</b>

Les mécanismes d'action des molécules antifongiqueproduites par actinobactéries sont variés. Ils incluent principalement la perturbation de la membrane cellulaire fongique par

liaison à l'ergostérol (comme les polyènes : nystatine, amphotéricine B), l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, ainsi que l'interférence avec la synthèse des acides nucléiques ou des protéines (**Subramani et Aalbersberg, 2012**).

Ces actions ciblées confèrent à ces bactéries une efficacité remarquable contre des champignons pathogènes tels que *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* ou encore *Fusarium oxysporum*.

Sur le plan biotechnologique, les actinobactéries sont d'un intérêt croissant. Dans le domaine pharmaceutique, elles sont à l'origine de la découverte de plusieurs antifongiques majeurs, comme la natamycine, utilisée en médecine et dans l'agroalimentaire.

En agriculture, certaines souches sont utilisées comme agents de biocontrôle afin de lutter contre les maladies fongiques des plantes, offrant ainsi une alternative écologique aux fongicides chimiques (**Hamedi et al ., 2019**).

A Par ailleurs, les progrès en génomique et en métabolomique permettent aujourd'hui de révéler des clusters de gènes cryptiques codant pour de nouveaux métabolites antifongiques, auparavant non exprimés dans des conditions standards de culture. Ces approches ouvrent la voie à la découverte de nouvelles molécules naturelles actives, notamment face à l'émergence de résistances aux antifongiques conventionnels (**Barka et al ., 2016 ; Hamedi et al ., 2019**).

### **3. Molécules antibactériennes**

Les antibiotiques représentent une classe d'agents chimiothérapeutiques exceptionnels, produits par des organismes vivants tels que des bactéries, des champignons et des actinobactéries. À des concentrations faibles, ces composés ont la capacité d'inhiber la croissance des micro-organismes ou de les éliminer totalement.

Les antibiotiques sont définis comme des composés organiques de faible poids moléculaire, biosynthétisés principalement par des micro-organismes (**Adegboye MF et al ., 2013**) . Environ 75 % des antibiotiques, majoritairement antibactériens, sont produits par des actinobactéries. Un grand nombre de ces antibactériens présentent une large gamme d'activités et des mécanismes d'action variés (**Figure 09**). Ils ont montré une forte efficacité contre un large éventail de bactéries Gram-positives et Gram-négatives (**Hasani A et al .,2014**) .

Historiquement, les *streptomycètes* sont à l'origine du plus grand nombre de nouveaux antibiotiques (**Tableau 05**), surpassant ainsi les autres bactéries et champignons en termes de découvertes pharmacologiques (**Hong H et al ., 2017**). Cet ordre bactérien est responsable de la production d'environ 45 % de métabolites bioactifs connus, avec plus de 10 000 composés isolés à partir de différentes espèces d'actinobactéries. Parmi ces composés, environ 34 % proviennent de *Streptomyces*, et 11 % d'autres genres d'actinobactéries (**Baltz RH , 2009**).

Les actinobactéries sont également à l'origine de plusieurs agents anticancéreux efficaces tels que les anthracyclines, la bléomycine, les mitosanes et les énédiynes (**Demain et Sanchez, 2009**). De nouveaux composés, encore en phase d'évaluation, présentent un fort potentiel thérapeutique, notamment les antimicrobiens GE2270A, désoxyactagardine B, actinonine, ainsi que les anticancéreux salinosporamide A, sungsanpin, dicétopipérazines et marthiapeptide A (**Harvey et al ., 2015**).

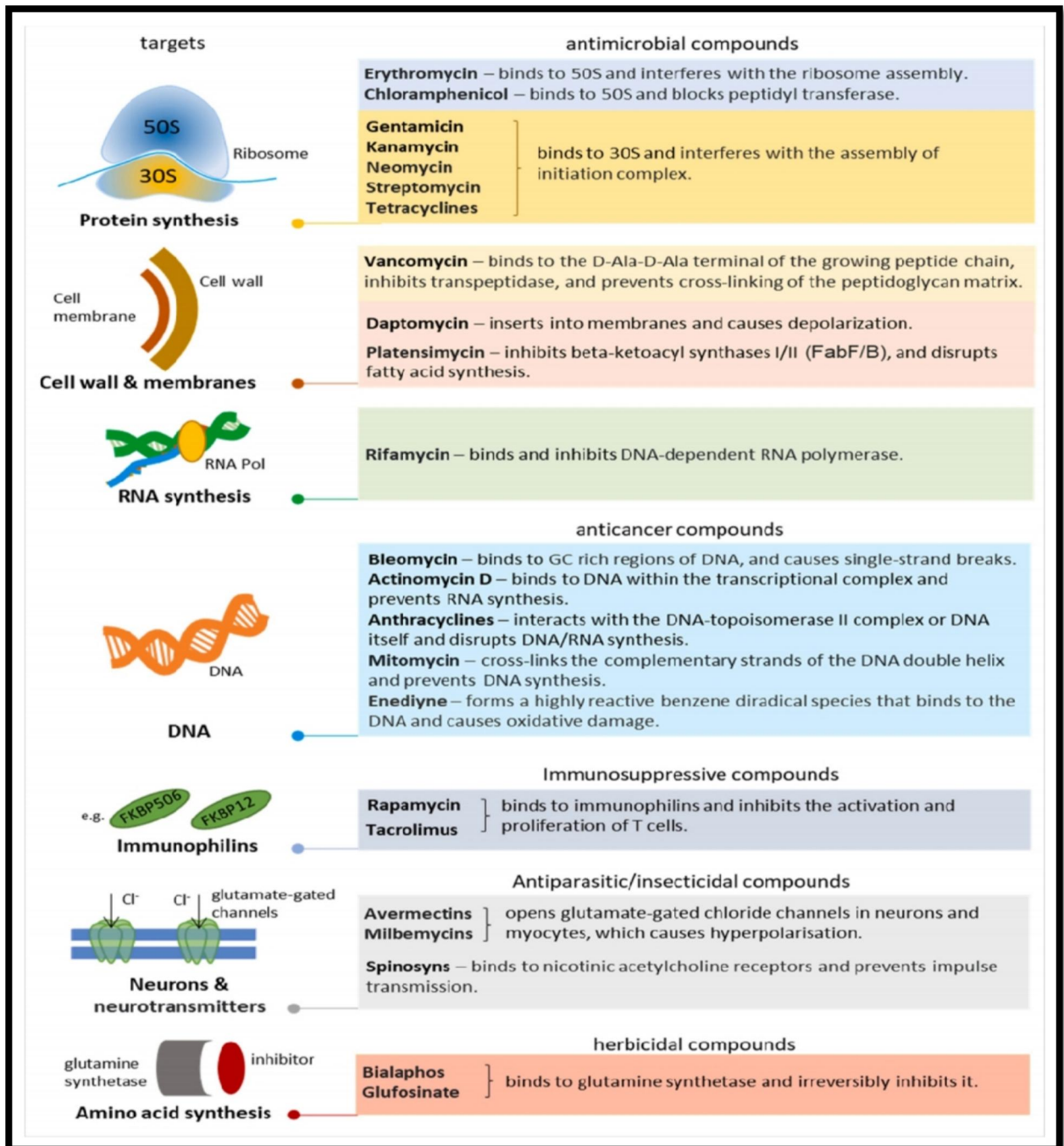


Figure 09 : liste graphique des principaux composés dérivés des actinobactéries et de leur mode d'action principal (mahajam et Balachandran ., 2012)

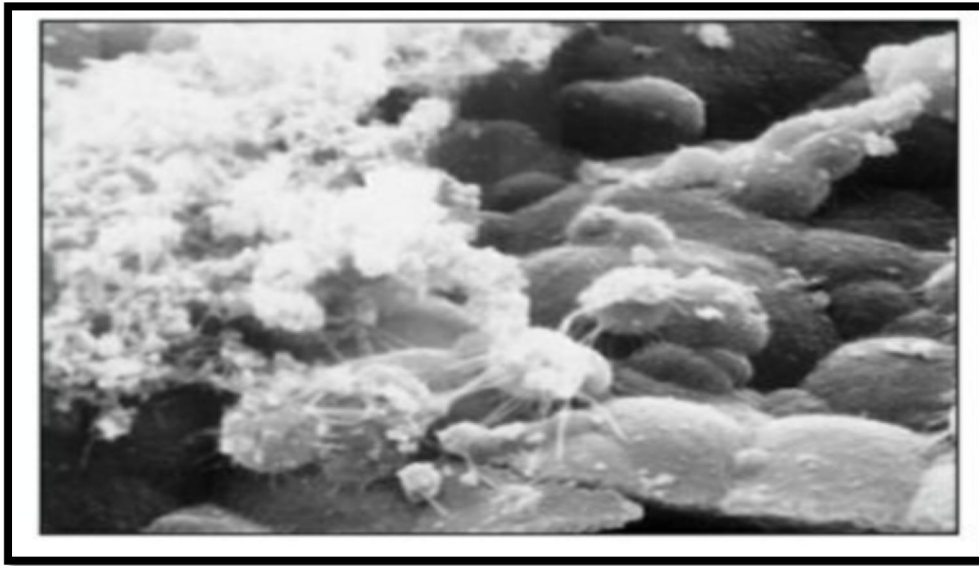
**Tableau 05** : Exemples des antibiotiques produits par *Streptomyces* sp (Hasani A et al ., 2014 ) .

Streptomyces sp.	Antibiotique	Streptomyces sp.	Antibiotique
<i>S. orchidaceus</i>	Cyclosérine	<i>S. erythraeus</i>	Érythromycine
<i>S. orientalis</i>	Vancomycine	<i>S. venezuelae</i>	Chloramphénicol
<i>S. fradiae</i>	Néomycine, Actinomycine, Fosfomycine, Décamycine	<i>S. aureofaciens</i>	Chlortétracycline, diméthylchlortétracycline
<i>S. nodosus</i>	Amphotéricine B	<i>S. ambofaciens</i>	Spiramycine
<i>S. noursei</i>	Nystatine	<i>S. niveus</i>	Novobiocine

#### 4. Exopolysaccharides (EPS)

Les polysaccharides peuvent être définis comme des macromolécules formées de l'enchaînement de motifs similaires (unité de répétition ou unité monomérique), en l'occurrence de glucides, encore appelés oses. Ces biopolymères sont produits par un grand nombre de bactéries et d'archées et peuvent être issus également de plantes et des animaux (Li et al ., 2022).

Chez les bactéries, les polysaccharides peuvent être retrouvés sous différentes formes selon leur localisation : intégrés à la structure de la paroi cellulaire en tant que lipopolysaccharides (LPS), ancrés à la surface de la cellule sous forme de polysaccharides capsulaires (CPS), ou bien sécrétés dans l'environnement sous forme d'exopolysaccharides (EPS). Ces derniers, comme l'indique le terme « exo », sont produits puis libérés dans le milieu extracellulaire et ne constituent donc pas une partie structurale de la cellule bactérienne (Figure 10) (Guezennec J, 2017) .



**Figure 10** : Adhésion bactérienne via la production des exopolysaccharides (**Guezennec J, 2017**)

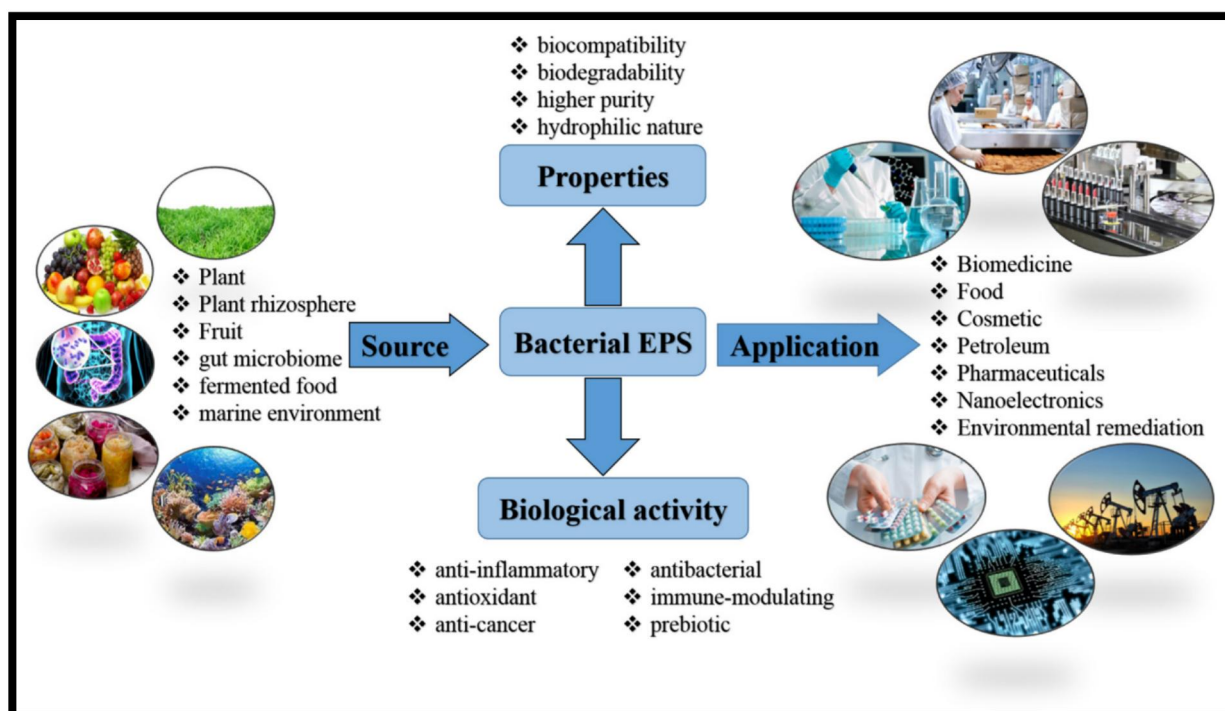
Ces EPS peuvent être libérés dans le milieu environnant ou associés à la paroi cellulaire. Leur composition chimique repose principalement sur des unités glucidiques, mais elle peut également intégrer divers groupements non glucidiques tels que l'acétate, le pyruvate, le succinate ou encore le phosphate.

Les actinobactéries synthétisent des exopolysaccharides (EPS) en tant que mécanisme d'adaptation aux conditions environnementales défavorables. Ces polymères extracellulaires assurent une protection physique contre la dessiccation, la salinité et la présence de substances toxiques, tout en facilitant la rétention d'eau et la survie des cellules dans des environnements hostiles (**Freitas et al ., 2011**). Les EPS jouent également un rôle clé dans la formation de biofilms, permettant aux actinobactéries d'adhérer à des surfaces solides, de communiquer entre elles, et d'augmenter leur résistance aux agents antimicrobiens (**Wingender Neu et Flemming , 1999**). Dans les sols semi-arides, ces substances améliorent la structure du sol et la disponibilité des nutriments, conférant ainsi un avantage écologique à ces micro-organismes (**Nwodo et al ., 2012**). Par ailleurs, certaines EPS présentent des propriétés bioactives, leur conférant un potentiel important dans diverses applications industrielles, telles que la stabilisation des émulsions, la cosmétique, la pharmaceutique ou encore le traitement des eaux usées.

La structure des EPS peut inclure différents types de monosaccharides, parmi lesquels le glucose, le fructose, l'arabinose, le mannose, le rhamnose et le xylose (Al-Nabulsi et al., 2022).

Les exopolysaccharides (EPS) produits par les actinobactéries présentent des propriétés antioxydantes notables (Figure 11). Ces activités sont en grande partie attribuées à la présence de groupements fonctionnels tels que les hydroxyles, les carboxyles et les amides, capables d'interagir efficacement avec les radicaux libres, contribuant ainsi à la réduction du stress oxydatif (Salimi et Farrokh, 2023).

La composition chimique des EPS d'actinobactéries est particulièrement hétérogène, reflétant une diversité structurale importante. Les monosaccharides les plus fréquemment rencontrés dans ces polymères sont le glucose, le galactose, le mannose, le rhamnose et le xylose. À titre d'exemple, la souche *Streptomyces griseorubens* GD5 produit un EPS constitué de glucose, galactose et mannose, caractérisé par des liaisons  $\beta$ -glycosidiques ainsi que par la présence de groupements fonctionnels tels que les hydroxyles, carboxyles et amides (Aloui et al., 2019).



**Figure 11 :** Propriétés , sources , activité biologique et applications des EPS bactériens (Netrusov et al., 2023)

## **Applications**

Les polysaccharides exogènes sont des biopolymères organiques d'une grande importance, employés dans plusieurs secteurs comme la biomédecine, l'alimentation, la cosmétique, l'industrie pétrolière, la pharmacie, et également dans la restauration écologique (**Figure 12**) (**Netresov et al ., 2023**).

### **➤ EPS en tant que biosurfactants**

Certains EPS produits par les actinobactéries remplissent les critères d'un biosurfactant : réduction de la tension superficielle, formation d'émulsions, stabilité dans des conditions extrêmes, et biodégradabilité. Ces propriétés sont particulièrement recherchées pour les applications écologiques, telles que la dépollution de sols contaminés ou la formulation de produits naturels dans l'industrie cosmétique et agroalimentaire (**Saimmai et al ., 2011 ; Gutiérrez-Chávez et al., 2020**).

### **➤ Applications industrielles**

Les EPS des actinobactéries trouvent des applications dans divers secteurs industriels. Ils sont utilisés comme agents de floculation dans le traitement des eaux, comme stabilisants dans les formulations alimentaires et cosmétiques, et comme agents de bioremédiation dans les environnements contaminés. Leur capacité à interagir avec d'autres biomolécules et leur biodégradabilité les rendent particulièrement adaptés à ces applications (**Mouro et al., 2024**).

### **➤ Le traitement des eaux usées**

Les EPS sont capables d'adsorber les cations métalliques ainsi que diverses autres substances en solution, ce qui peut favoriser la bioremédiation des métaux lourds. Cela pourrait être bénéfique dans les systèmes du traitement des eaux usées. Les biofilms peuvent se fixer à des métaux tels que le cuivre, le plomb, le nickel et le cadmium, par exemple, et les éliminer. La sélectivité métale et l'affinité de liaison des EPS fluctuent en fonction de la composition polymère et des variables environnementales (**Al-Aqany et al ., 2021**).

➤ **Industrie alimentaire**

Les exopolysaccharides (EPS) présentent un fort potentiel d'application dans l'industrie agroalimentaire, où ils sont utilisés pour leurs propriétés fonctionnelles en tant qu'épaississants, stabilisants, ou agents liants. Ces fonctions technologiques les rendent particulièrement utiles dans divers produits tels que les glaçages, confitures, gelées, produits de pâtisserie, fromages, sauces, vinaigrettes et aliments pour animaux de compagnie (**Andhare et al ., 2012**).

- Parmi les EPS, le pullulane se distingue par son usage comme substitut partiel de l'amidon dans les pâtes alimentaires et les produits de boulangerie. Grâce à sa faible viscosité en solution, il est également employé dans les formulations de boissons et de sauces (**Andhare et al ., 2012**).

En outre, les EPS sont largement exploitées pour la fabrication de films polymériques, notamment sous forme de revêtements comestibles pour les denrées alimentaires, ainsi que pour des applications dans le domaine de l'emballage alimentaire (**Sathiyarayanan et al ., 2017**).

➤ **Agriculture**

En agriculture, l'accumulation de bactéries productrices d'exopolysaccharides (EPS) dans la rhizosphère des plantes cultivées contribue de manière significative à l'amélioration de la fertilité et de la productivité des sols. Ces micro-organismes interviennent dans la structuration du sol autour des racines, facilitant l'adhésion des particules du sol, la rétention d'eau ainsi que le transport des nutriments vers les systèmes racinaires.

L'inoculation de bactéries productrices d'EPS a démontré un effet positif marqué sur la croissance végétative, se traduisant notamment par une augmentation substantielle de la biomasse des pousses et des racines (**Andhare et al ., 2012**).

➤ **Cosmétologie**

Les exopolysaccharides (EPS) sont couramment intégrés dans les formulations de crèmes et de lotions en tant qu'agents hydratants, en raison de leur capacité élevée de rétention d'eau, favorisant ainsi une meilleure hydratation cutanée (**Andhare et al ., 2012**). Ils sont également utilisés dans la conception d'hydrogels destinés aux soins de la peau, où leur incorporation

dans les matrices tissulaires permet de conférer divers effets bénéfiques, notamment des propriétés hydratantes, éclaircissantes, blanchissantes, et même anti-âge sur la peau humaine (Andhare et *al.*, 2012) .

---

**ETUDE**

**EXPERIMENTALE**

---

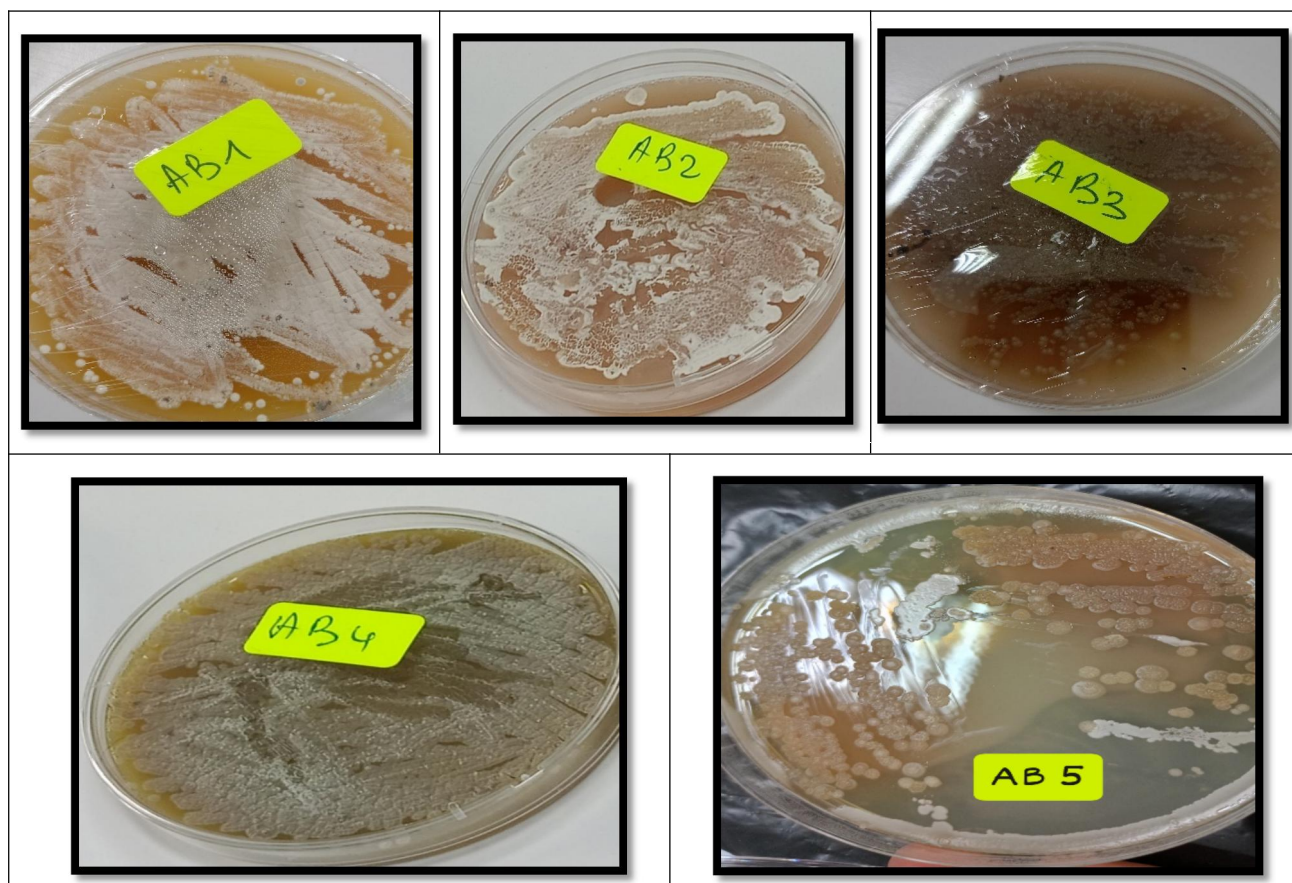
## I-Matériel et méthodes

### I.1. Objectif du travail

Les actinobactéries représentent une source importante de molécules bioactives d'intérêts biotechnologique. Ce travail vise à évaluer la capacité des isolats d'actinobactéries isolés d'une région semi arides à produire des molécules antimicrobiennes, des enzymes et des exopolysaccharides.

#### 1. Les isolats d'actinobactéries

Les isolats d'actinobactéries étudiées, codés AB1, AB2, AB3, AB4 et AB5 (**Figure 12**) ont été obtenus à partir d'un sol semi aride de la wilaya de Tébessa. Ces isolats ont été fournis par docteur LEULMI NASSIMA , maître assistante classe A, à l'Université de khenchela.



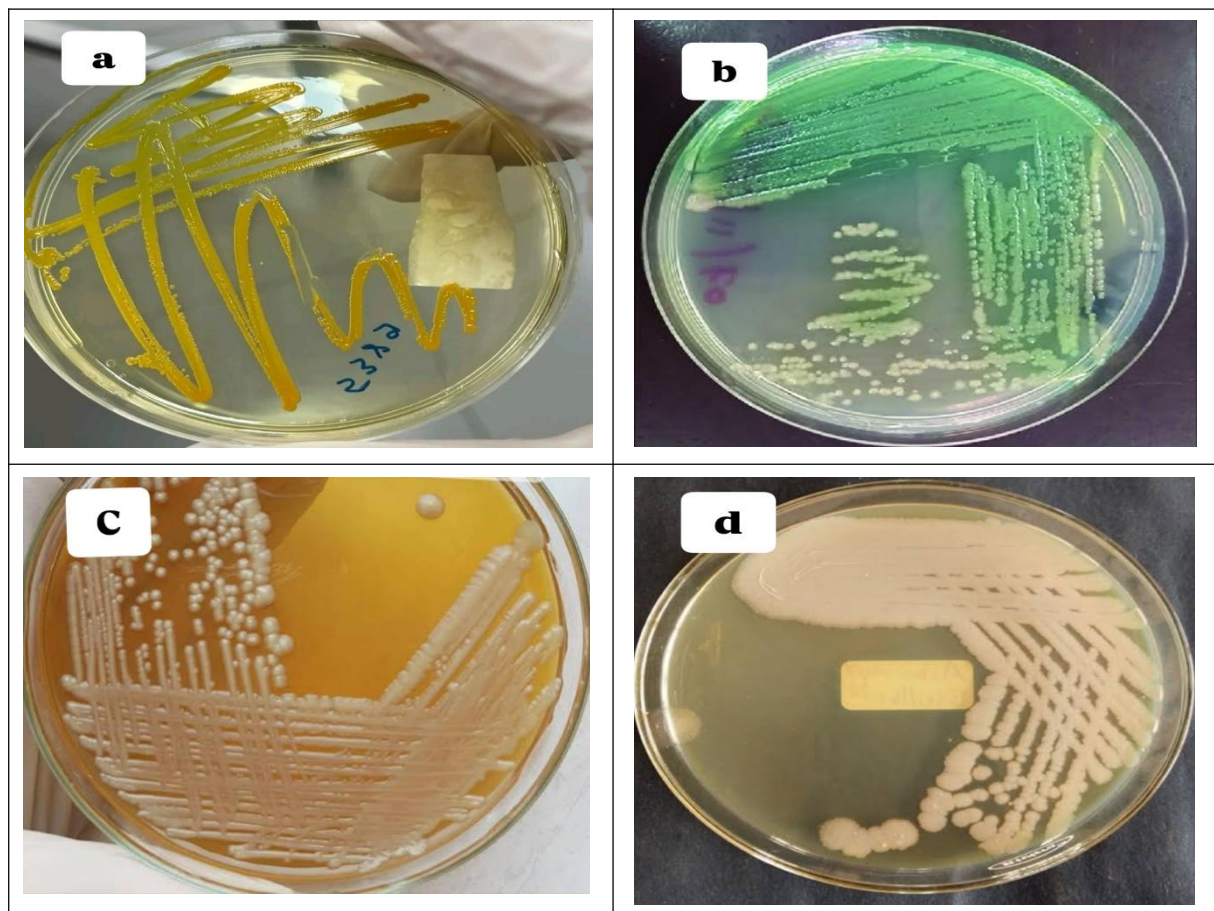
**Figure 12 :** Aspect sur milieu solide YMEA + CaCO 3 des isolats purs d'actinobactéries.

**2. Souches test**

**2.1 Souches test de l'activité antibactérienne :** a été réalisés contre 4 souches bactériennes fournies par Dr. LEULMI NASSIMA (Tableau 06 Figure 13).

**Tableau 06 :** Souches bactériennes utilisées dans notre étude.

Souches	Gram	Références
<i>Staphylococcus aureus</i>	(G+)	ATCC 6538
<i>Bacillus subtilis</i>	(G+)	ATCC 6633
<i>Escherichia coli</i>	(G-)	NCTC 10538
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(G-)	NCIMB 8626



**Figure 13 :** photographie des souches bactériennes utilisé pour évalué l'activité antibactérienne a : *Staphylococcus aureus* , b : *Pseudomonas aeruginosa* , c : *Escherichia coli*, d : *Bacillus subtili*.

**2.2 Champignons phytopathogènes** une souche d'*Aspergillus niger* ATCCC 16404 phytopathogène, a été utilisée comme champignon test pour la détermination de l'activité antifongique, fourni par docteur LEULMI NASSIMA.

### **3. Activité antibactérienne des souches d'actinobactéries 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 d'actinobactéries sont ensemencés en stries très serrées sur un milieu solide YMEA (**annexe1**), puis incubés à 30°C pendant 7 jours. Par la suite, des cylindres de 6 mm de diamètres, sont découpés stérilement, déposés à la surface du milieu Mueller Hinton (**annexe 2**) préalablement ensemencé par le germe cible. Les boîtes ensemencées sont maintenues à +4°C pendant 2h avant d'être incubées pour permettre la diffusion des substances bioactives.

### **4. Activité antifongique des souches 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 3**), en utilisant la technique des cylindres d'agar. Un disque de 6 mm de diamètre issu d'une culture pure de l'agent phytopathogène est déposé au centre de la boîte. Ensuite, des disques de chaque actinobactérie sont placés parallèlement et autour à une distance de 3 cm du disque de champignon. Ces boîtes sont incubées à 30 °C pendant 14 jours.

Des boîtes contenant justes le disque de champignon sont incubées dans les mêmes conditions, elles servent de contrôles (**Tour et al ., 2004**) Après les périodes d'incubation, l'évaluation de l'inhibition est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition (I%) de la croissance mycélienne selon la formule suivante **I%: (C-T/C) x 100** où C: la croissance de la moisissure dans la boîte contrôle; T : croissance d' *A. niger* en présence des souches étudiées.

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

En milieu YMEA gélosé (**annexe 1**), 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 C°), puis repris dans 1ml de méthanol dans le but de rechercher leurs activités antimicrobiennes par la technique de diffusion des disques de papier.

## **6. L'activité antimicrobienne des extraits**

Les extraits obtenus à partir de de culture de souches sur YMEA (**annexe 1**) en utilisant l'actétate déthyle sont testés contre les souches sélectionnés selon leur sensibilité vis avis à chacune des souches test. Pour cela, nous avons utilisé la technique des disques stériles en papier de 6mm de diamètre. 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 (**annexe 3**), préalablementensemencée par *Aspergillus niger*.
- À la surface Mueller-Hinton (**annexe 2**)ensemencé 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 a 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.

## **7. La mise en évidence de l'activité enzymatique**

### **7.1 Recherche de l'activité amylolytique**

La recherche de l'activité amylolytique est réalisée avec les cinq isolats d'actinobactéries étudiés à savoir AB1, AB2, AB3,AB4 et AB5. La détection de production de enzyme amylase est réalisé sur un milieu de culture contenant 1 % d'amidon soluble (**annexe 4**) comme source de carbone, selon la méthode décrite par (**Gordon et Smith ,1953**).

Les cinq isolats d'actinobactéries sontensemencées par touche pendant 14 jours d'incubation à 30 °C, la gélose est traitée avec une solution de lugol. L'hydrolyse de l'amidon est révélée

par une absence de coloration autour des colonies, contrairement aux zones contenant encore de l'amidon, qui prennent une coloration jaune.

## **7.2 Recherche de l'activité protéolytique**

Le test est basé sur l'hydrolyse de la protéine selon la méthode de (**Screenivasa et Vidyasagar ,2012**) , en cultivant les isolats sur un milieu gélosé à base de lait écrémé (**annexe 5**).

L'ensemencement s'est fait par touche et incubé à 30 °C pendant 14 jours .l'apparition d'une halo claire autour des colonies indique la production de l'enzyme protéase (**Roy et al .,2014**) .

## **7.3 Recherche de l'activité pectinolytique**

La recherche de pectinase s'est effectuée sur le milieu pectine agar (**annexe 6**). Les cinq isolats d'actinobactéries sont ensemencés par touche et incubés à 30 °C pendant 14 jours. Par la suite, les boites sont recouvertes par une solution de lugol.

L'activité pectinolytique est mise en évidence par l'apparition de zone claire autour des colonies (**Camille, 2007**).

## **7.4 Recherche d'activité cellulosique**

La dégradation de cellulose a été déterminée selon la méthode décrite par (**Maki et al .,2011**). A partir d'une culture pure des cinq isolats étudiés, une colonie est prélevée, ensuite déposée sur boîte contenant du Carboxyméthyl cellulose (CMC) gélosé (**annexe 7**).

La production de cellulase est mise en évidence par la coloration à la solution Iodine . Pour ce faire, un volume de 10 ml est coulé dans la boîte. Les colonies développant une auréole montre que les souches en question possèdent une activité cellulosique (**Leulmi ,2018**).

## **7.5 Recherche de xylanase**

Cette activité a été réalisé sur un milieu à base de xylane (**annexe 8**) (**Holker et al ., 2004**) les isolats d'actinobactéries codés (AB1,AB2,AB3,AB4 et AB5) sont ensemencés par touche et après 14 jours d'incubation à 30°C, l'activité a été mise en évidence par l'ajout 0,4 % de

rouge congo (**annexe 1**) (**Adhirwar et al ., 2017**) suivi d'une solution de NaCl (**annexe 2**) pendant 10 min et laisser à température ambiante pendant quelque minute .

L'apparition d'une halo claire autour des colonies montre que les souches capable de dégrader le xylane de milieu.

### **7.6 Recherche d'activité gélatinase**

La production de gélatinase a été réalisé sur une milieu contenant 1% de gélatine (**annexe 9**) les isolats sont ensemencés par touche et incubés à 30°C pendant 14 jours ; l'activités à été détectée par l'apparition, autour des colonies, dee zones claires après l'ajout de lugol.

### **8. La production des exopolysaccharides (EPS)**

Les isolats d'actinobactéries ont été cultivées en aérobiose en prenant un cylindre pourchaque isolats et d'introduire dans lerlen mayer qui lui correspondant qui contien chaquen lemlieu suivant (contenant [g/l] : glucose 30,0, NaNO<sub>3</sub> 3,0, extrait de levure 5,0, NaCl 4,0, MgSO<sub>4</sub> 0,5, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,0 et CaCO<sub>3</sub> 1,0) à pH 7 (**annexe 10**). Par la suite les erlenmayer ont été incuber dans un incubateur agité pendant 7 jours à 28°C et 150 rpm (**Figure 14**). Après incubation, les cellules ont été récoltées par centrifugation à 5000 rpm pendant 30minutes et les exopolysaccharides solubles ont été précipités en ajoutant au surnageant 4 volumes d'éthanol absolu, puis agité vigoureusement et conservé à 4 C° pendant une nuit (**Manal S et al ., 2017**).

Le précipité a été recueilli par centrifugation à 5000 rpm pendant 15 minutes (**Figure 15**). Le précipité résultant a été redissous dans l'eau distillée et dialysé dans un tube de dialyse en utilisant de l'eau du robin et pendant 48 h et de l'eau distillée pendant 48h (**Liu S et al ., 2010**).



**Figure 14 :** La production des EPS par les actinobactéries



**Figure 15 :** Centrifugation des EPS produits par les actinobactéries.

### **Etude du pouvoir émulsifiant**

L'activité d'émulsification de l'EPS a été mesurée en mélangeant 1 ml d'EPS avec un volume égal d'hydrocarbures aromatiques, tels que le benzène, et en vortexant vigoureusement pendant 3 minutes. Le mélange a ensuite été incubé à 4°C pendant 24 h. Après incubation, la hauteur de l'émulsification a été mesurée. Le Triton X-100 a été utilisé comme contrôle positif, et le PBS a été utilisé comme blanc .

$$\text{L'indice d'émulsification} = \frac{\text{hauteur de l'émulsion (mm)}}{\text{hauteur totale du mélange (mm)}} \times 100$$

## II-Résultats et discussion

### 1. Activité antibactérienne des isolats d'actinobactéries AB1-AB5

L'activité antibactérienne des actinobactéries étudiés a été mise en évidence par la technique des cylindres d'agar. Les résultats obtenus sont résumés dans le **Tableau 07**.

Nous remarquons qu'aucune des isolats testés n'est active contre *Pseudomonas aeruginosa*. Les isolats AB1, AB2 ,AB3, AB4 et AB5 montrent une activité contre au moins une bactérie-test. L'isolats AB5 inhibe uniquement actinobactéries *E .coli* , alors que les isolats AB1,AB2 ,AB3 et AB4 possèdent une activité contre *B. subtilis*. Tandis que les isolats AB1 et AB2 ont un pouvoir inhibitrice contre *S.aureus* .

Les isolats AB1 et AB4 présentent la plus forte activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, avec un diamètre d'inhibition de 30 mm. En revanche, aucune activité n'est observée contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* .

L'isolat AB2 montre une activité modérée contre *Staphylococcus aureus* (20 mm) et *Bacillus subtilis* (22 mm). Les isolats AB3 et AB5 inhibent respectivement *Bacillus subtilis* (15 mm) et *Escherichia coli* (18 mm) et sans effet notable sur les autres souches testées (**Tableau 07**).

**Tableau 07:** Activité antibactérienne des isolats purs d'actinobactéries évaluée par la technique de cylindre d'agar

	<b>Diamètre d'inhibition (mm)</b>			
	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<b>AB 1</b>	-	<b>30</b>	-	<b>30</b>
<b>AB 2</b>	-	<b>20</b>	-	<b>22</b>
<b>AB 3</b>	-	-	-	<b>18</b>
<b>AB 4</b>	-	-	-	<b>30</b>
<b>AB 5</b>	<b>15</b>	-	-	-

(-) : absence d'inhibition

La souche AB1 possède une activité antibactérienne marquée contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, avec un diamètre d'inhibition de 30 mm pour chaque. Cette forte inhibition suggère que cette souche est un producteur potentiel de molécules bioactives à large spectre, particulièrement efficaces contre les bactéries à paroi cellulaire épaisse. Ces résultats sont en accord avec les travaux d'Ait **Barka et al. (2016)**, qui ont signalé que des actinobactéries isolées d'environnements algériens produisaient des métabolites secondaires actifs contre *S. aureus* et *B. subtilis*.

De manière similaire, l'isolat AB4 possède également une activité significative contre *B. subtilis* (30 mm), confirmant l'hypothèse selon laquelle les actinobactéries sont une source prometteuse de composés antibactériens naturels. L'activité modérée observée présentée par l'isolat AB2 (20 mm contre *S. aureus* et 22 mm contre *B. subtilis*) reste cohérente avec les observations de (**Oueriaghli et al., 2023**), qui ont trouvé qu'environ 35 % des isolats testés à partir du sol miniers marocains possédaient une activité antimicrobienne contre ces mêmes souches pathogènes (**Oueriaghli et al., 2023**).

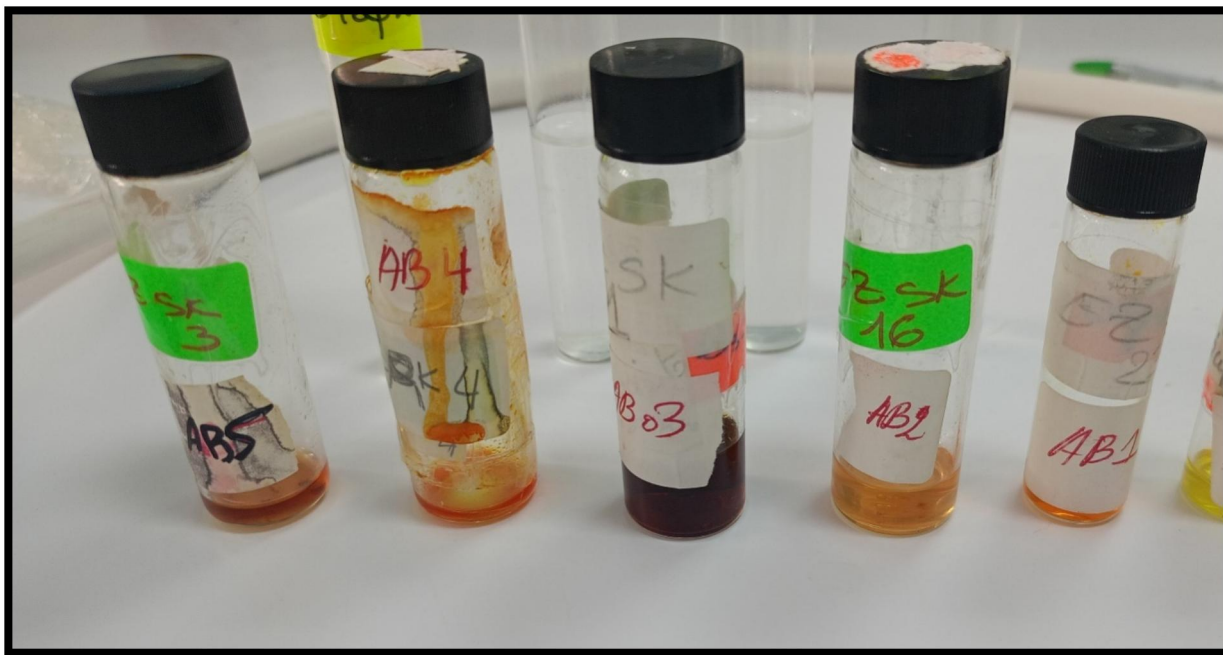
En revanche, aucun des isolats testés dans ce travail possède une activité vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa*. Ce résultat est conforme avec celui rapporté par (**Ganesan et al., 2017**), qui ont également signalé une absence d'activité antibactérienne des actinobactéries isolées contre *P. aeruginosa*, qui présente une résistance intrinsèque élevée due à sa membrane externe peu perméable et ses mécanismes de résistance multiples (**Ganesan et al., 2017**).

L'isolat AB5 est la seule souche qui possède une activité modérée contre *Escherichia coli* (15 mm). Bien que cette activité soit inférieure à celle observée contre les Gram positifs. Cependant, ce résultat reste intéressant vu le nombre réduit d'actinobactéries parviennent à inhiber les bactéries à Gram négatif. Ce résultat rejoint les observations de (**Lo Grasso et al., 2016**), qui ont souligné également, qu'un nombre très réduit de souches d'actinobactéries qui sont capables d'inhiber les bactéries à Gram négative.

La majorité de métabolites secondaires produits par les actinobactéries présentant une activité antimicrobienne importante contre les bactéries Gram positives que des bactéries Gram négatif. Cette différence de sensibilité de deux types bactérien pourrait être expliquée par la différence morphologique, les Gram négatif possèdent une membrane de nature lipopolysaccharidique qui rend la paroi imperméable aux substances hydrosolubles (polaires). Tandis que les Gram positif plus susceptibles disposent d'une couche externe de peptidoglycane qui n'est guère une barrière imperméable efficace contre ce genre de molécules.

## 2. L'activité antibactérienne des extraits des isolats étudiés

L'activité antibactérienne des extraits des isolats purs (AB 1 AB2 AB3 AB4 AB5) a été mise en évidence par la technique de disque en papier imbibés par les extraits (**Figure 16**) de chaque isolat d'actinobactéries.



**Figure 16** : Les extraits actifs produits par les isolats d'actinobactéries .

Cette méthode permet d'évaluer la capacité des métabolites secondaires diffusibles à inhiber la croissance de bactéries pathogènes. les résultats sont présentés dans le **Tableau 08** et la **Figure 17** :

- L'extrait provenant de l'isolat AB4 : se distingue par une activité antibactérienne étendue, avec des diamètres d'inhibition élevés contre *S. aureus* (32 mm), *E. coli* (10 mm) et *B. subtilis* (15 mm).
- L'extrait provenant de l'isolat AB1 et AB3 montrent une activité sélective contre les bactéries Gram positif, notamment *S. aureus* (27 mm et 21 mm respectivement).
- L'extrait provenant de l'isolat AB2 : présente une inhibition modérée sur *S. aureus* (16 mm) et *P. aeruginosa* (13 mm), ce qui est notable.
- L'extrait provenant de l'isolat AB5 : possède une activité faible mais multiple, indiquant la présence de molécules bioactives à spectre étroit.

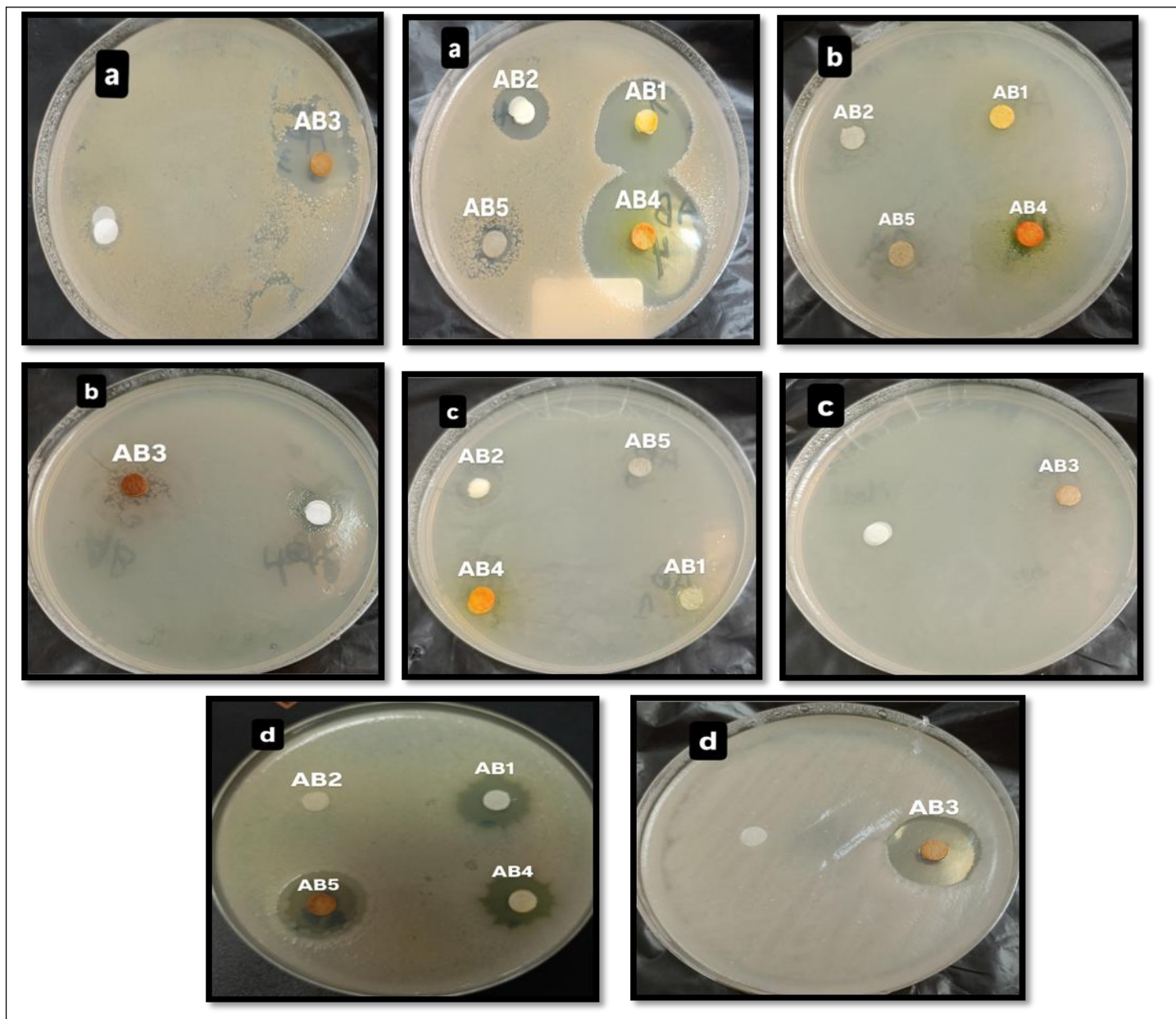
**Tableau 08:** Activité antibactérienne des extraits des isolats purs d'actinobactéries

	<b>Diamètre d'inhibition (mm)</b>			
	<i>E.coli</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<b>AB 1</b>	-	<b>27</b>	-	<b>16</b>
<b>AB 2</b>	-	<b>16</b>	<b>13</b>	-
<b>AB 3</b>	-	<b>21</b>	-	<b>21</b>
<b>AB 4</b>	<b>10</b>	<b>32</b>	-	<b>15</b>
<b>AB 5</b>	-	<b>8</b>	<b>10</b>	<b>20</b>

(-) : absence d'inhibition

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits bruts d'actinobactéries montrent une efficacité variable selon l'isolat testé et la nature de bactéries ciblesce qui suggère qu'ils produisent des molécules bioactives extracellulaires, capables de diffuser à travers le disque et d'inhiber la croissance microbienne. Ce comportement est caractéristique des actinobactéries, en particulier les genres *Streptomyces*, largement reconnu pour sa richesse en antibiotiques naturels (**Barka et al., 2016 ; Berdy, 2012**).

Les Gram positif comme *S. aureus* et *B. subtilis* se révèlent plus sensibles à ces extraits, avec des diamètres d'inhibition atteignant 32 mm (*S. aureus*, AB4). Ce profil est conforme aux résultats de (**Ganesan et al. , 2017**) et (**Lo Grasso et al., 2016**), qui signalent que les métabolites des actinobactéries sont souvent plus efficaces contre les Gram positifs en raison de l'absence de membrane externe, facilitant la diffusion des composés bioactifs.



**Figure 17:** photographies de l'activité antibactérienne sur milieu Mueller Hinton des extraits des isolats purs d'actinobactéries . (a): *Staphylococcus aureus* , (b) : *E.coli* ,(c) : *Pseudomonas aeruginosa* , (d) : *Bacillus subtilis* .

### 3. Activité antifongique des isolats d'actinobactéries étudiés

D'après le **Tableau 09** et la **Figure 18**, aucun des isolats d'actinobactéries (AB1 à AB5) n'est montré une activité antifongique contre *Aspergillus niger* lors du test par la technique de cylindres d'agar. En effet, l'absence de zones d'inhibition autour des cylindres (inhibition = 0 % pour tous les isolats) indique que ces isolats n'ont pas produit de molécules bioactives

capables d'inhiber la croissance de ce champignon. Ainsi, dans ces conditions expérimentales, les souches testées se révèlent pas actives contre *Aspergillus niger*.

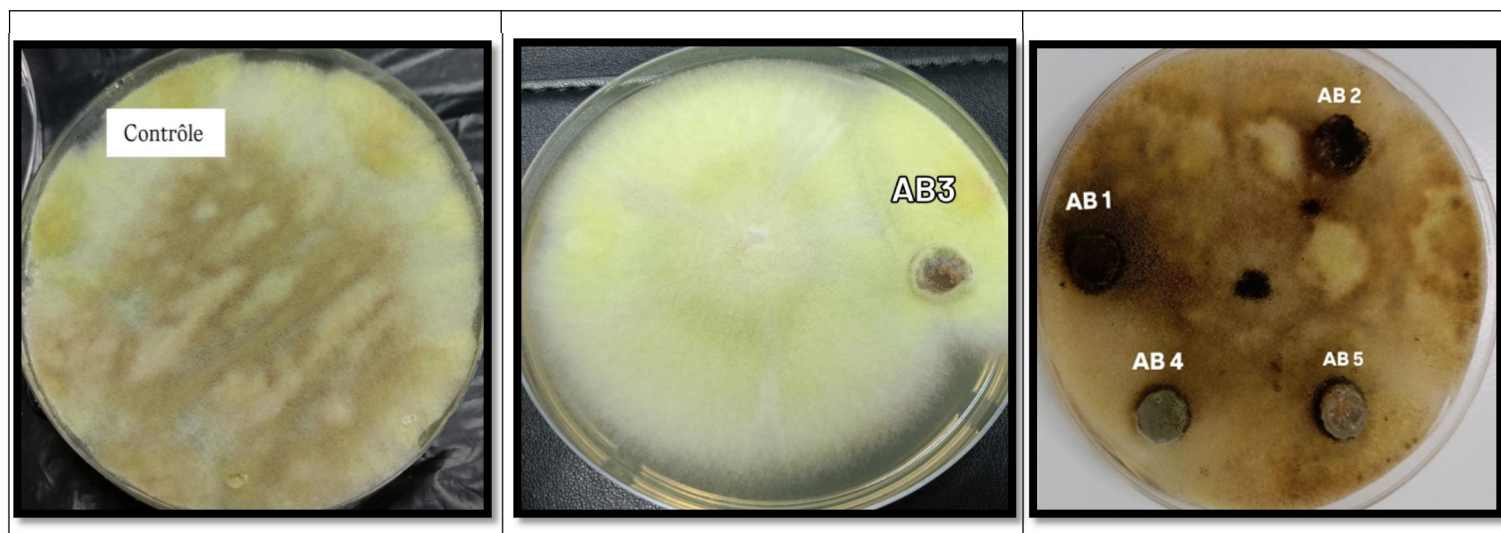
**Tableau 09** : Activité antifongique des isolats d'actinobactérie contre *Aspergillus niger*

Isolats	Pourcentage d'inhibition (%I)
<b>D'actinobactérie</b>	
	<i>Aspergillus niger</i>
<b>AB 1</b>	-
<b>AB 2</b>	-
<b>AB 3</b>	-
<b>AB 4</b>	-
<b>AB 5</b>	-

(-): absence d'inhibition

L'absence de zones d'inhibition claires dans les résultats présentés dans la **Figure 18** et tableau 02, indiquent que les actinobactéries testées n'ont pas produit de molécules bioactives capables d'inhiber la croissance de *Aspergillus niger*. Cette résistance pourrait être attribuée à ces caractéristiques et morphologiques. En effet, *A.niger*, un champignon filamenteux saprophyte connu pour sa capacité à résister à de nombreux stress environnementaux et métaboliques (**Klich, 2002 ; Goyal et al ., 2016**).

Contrairement aux résultats obtenus ici, plusieurs études ont démontré que certaines souches d'actinobactéries, notamment du genre *Streptomyces*, sont capables de produire des composés antifongiques actifs, tels que les polyènes (ex. amphotéricine B), les macrolides et les lactones, qui ciblent la paroi ou la membrane fongique (**Berdy, 2012 ; Barka et al ., 2016**). Par exemple, une étude menée par (**El-Tarabily et al ., 2000**) ont montré que certaines souches d'actinobactéries isolées du solsrhizosphériques étaient capables d'inhiber fortement la croissance de *A. niger*.



**Figure 18** : Activité antifongique des isolats d'actinobactérie, évaluée par la technique des cylindres d'agar, contre *Aspergillus niger*

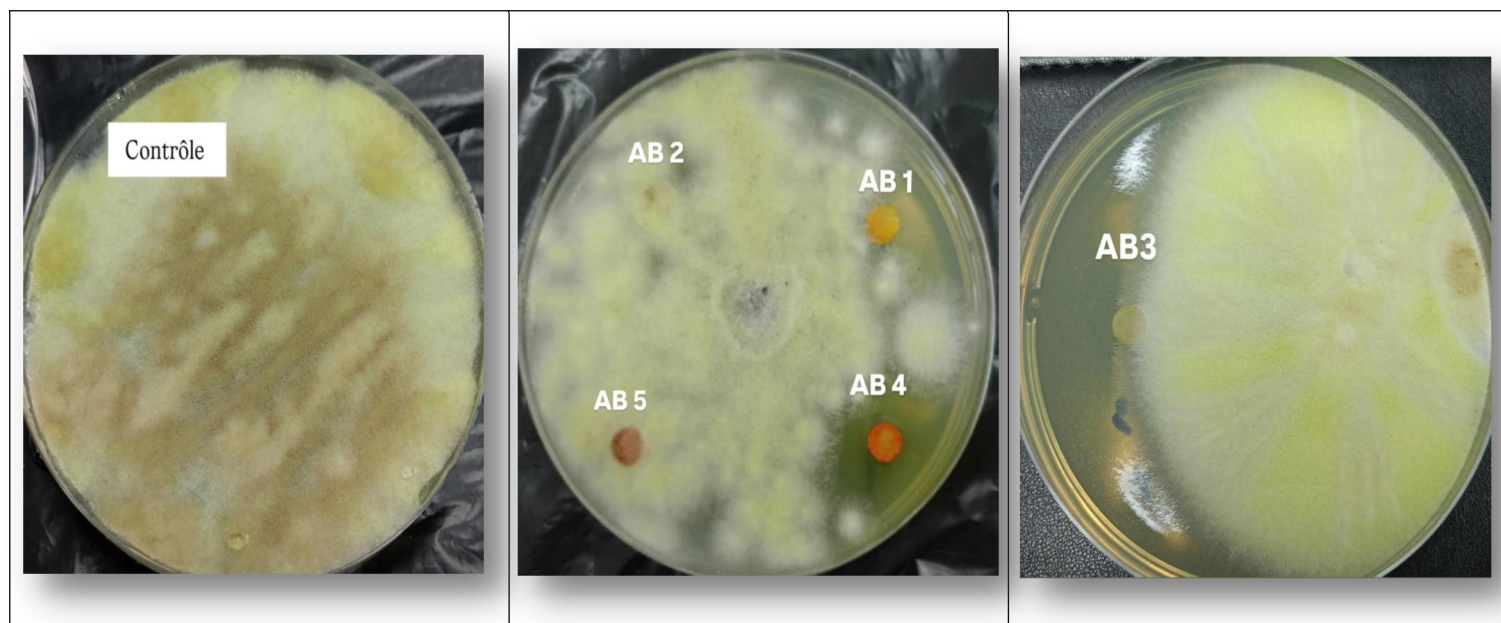
#### 4. l'activité antifongique des extraits des isolats purs d'actinobactéries contre *Aspergillus niger*

Les résultats du test d'activité antifongique des extraits d'actinobactéries étudiés dans ce travail, contre la moisissure *Aspergillus niger* ont montré que les isolats AB1, AB3 et AB4 présentent une activité antifongique (**Figure 19**), avec un pourcentage d'inhibitions respectivement (8,69% ; 27,17% et 20,65%) (**Tableau 10**). Tandis que les deux autres extraits n'ont montré aucune activité antagonisme contre *Aspergillus niger*.

**Tableau 10** : Pourcentage d'inhibition d'*Aspergillus niger* par les extraits d'actinobactéries

Les extraits	Pourcentage d'inhibition (%I)
<b>D'actinobactérie</b>	
	<i>Aspergillus niger</i>
AB 1	8,69 %
AB 2	-
AB 3	27,17 %
AB 4	20,65 %
AB 5	-

(-) : absence d'inhibition



**Figure 19** : Activité antifongique des extraits provenant des isolats purs d'actinobactéries contre *Aspergillus niger*.

L'évaluation de l'activité antifongique des isolats d'actinobactéries a révélé une absence d'effet inhibiteur lorsqu'ils sont mis en confrontation directe avec *Aspergillus niger* par la méthode de cylindre d'agar. Ce résultat, uniformément observé pour les cinq isolats testés (AB1 à AB5). Ce phénomène peut être attribué à l'absence de production de composés diffusibles inhibiteurs dans notre condition du laboratoire (Yang et al., 2019).

En revanche, l'activité antifongique des extraits bruts ont révélé une activité notable pour les trois isolats (AB1, AB3 et AB4), avec des pourcentages d'inhibition allant de 8,69% ; 27,17% et 20,65% respectivement.

Des études similaires menées par Chorouk (2019) sur des souches marocaines ont montré des effets antifongiques puissants contre *A. niger*, renforçant l'idée que les écosystèmes semi-arides comme ceux de la wilaya de Tébessa abritent des souches potentiellement productrices de métabolites bioactifs .

L'absence d'effet des extraits provenant des isolats AB2 et AB5 peut être liée à plusieurs facteurs : soit une absence de métabolites antifongiques dans ces extraits, soit une concentration sub-inhibitrice des composés actifs, ou encore une spécificité d'action dirigée contre d'autres souches fongiques (Zotchev, 2012).

## 5. Mise en évidence de l'activité enzymatique des isolats d'actinobactéries

Les actinobactéries sont réputées pour leur capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires bioactifs ainsi que des enzymes extracellulaires, qui leur confèrent une polyvalence fonctionnelle dans divers environnements. Ces enzymes jouent un rôle déterminant dans la dégradation de la matière organique, la solubilisation des nutriments et la défense contre les microorganismes concurrents, notamment dans les habitats complexes comme les sols (Barka *et al.*, 2016 ; El-Tarabily et Sivasithamparam, 2006).

L'évaluation de cette activité enzymatique repose généralement sur des tests qualitatifs en milieu solide, visant à détecter la sécrétion d'enzymes telles que l'amylase, la protéase, la pectinase, la cellulase et l'xylanase. Ces essais utilisent des milieux de culture enrichis en substrats spécifiques, par exemple l'amidon (pour l'amylase), la caséine (pour la protéase), ou la carboxyméthylcellulose (pour la cellulase), et sont révélés par des indicateurs tels que l'iode, le rouge congo ou l'apparition de zones claires de lyse autour des colonies (Arif *et al.*, 2016 ; Kavitha *et al.*, 2010).

Les résultats obtenus après 14 jours d'incubation à 30 C° sont résumés dans le **Tableau 11**.

**Tableau 11** : Résultats d'activités hydrolytiques des isolats d'actinobactéries codés (AB1-AB5).

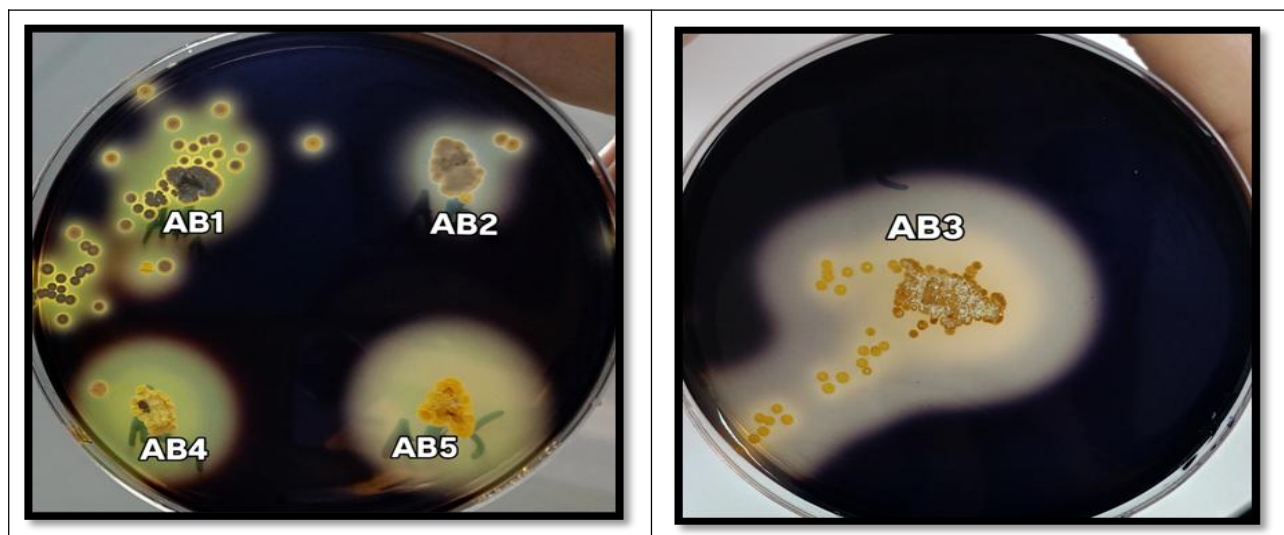
L'enzyme	Les souches des actinobactérie				
	AB 1	AB 2	AB 3	AB 4	AB 5
<b>Amylase</b>	++	++	++++	++	++++
<b>Protéase</b>	±	+	++++	+	+
<b>Pectinase</b>	++	-	++	-	-
<b>Cellulase</b>	+	-	++	-	-
<b>Xylanase</b>	+	-	++	±	-
<b>Gélatinase</b>	+	-	++++	-	-

*(-) pas d'activité, (±) Activité faible, (+) Activité modérée, (++) Activité abondante, (+++++) Activité très abondante.*

### 5.1 Activité amylolytique

Les cinq isolats testés pour leurs activités enzymatiques (AB1 à AB5) ont montré une production d'amylase, avec des intensités variables. L'apparition de zones claires autour des

colonies sur milieu à base d'amidon, après ajout de « lugol », témoigne de la dégradation efficace de l'amidon. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Kiran et al (2018)**, qui ont démontré que les actinobactéries issues des sols arides ou semi-arides sont souvent d'excellentes productrices d'amylases thermostables. Ce type d'enzyme est d'intérêt industriel, notamment pour les industries alimentaires et textiles (**Tableau 11 et Figure 20**).



**Figure 20:**Activité amylolytiques des isolats d'actinobactéries AB1,AB2,AB3,AB4 et AB5.

## 5.2 Activité protéolytique

Les isolats d'actinobactéries AB2, AB3, AB4 et AB5 ont toutes démontré une activité protéolytique modérée à très élevée, à l'exception de l'isolat AB1 qui présente une activité faible. La forte activité de l'isolat AB3 est particulièrement intéressante (**Tableau 11**), suggérant une production accrue de protéases extracellulaires. Cette activité se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie, observable à l'œil nu sans ajout de réactif (**Figure 21**).

Plusieurs travaux réalisés sur les actinobactéries prouvent que la plupart des souches de *Streptomyces sp* peuvent hydrolyser les caséines du lait écrémé (**Mihaela et al ., 2011 ; Palaniyandi et al ., 2013 ; Boughachiche et al ., 2016**). Et ceux de **Gulue et Deshmukh (2011)** ou ils confirment que plusieurs genres d'actinobactéries, notamment *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia* et *Saccharopolyspora*, ont présentés une activité protéolytique, attribuée en particulier à la présence de l'enzyme caséinase.

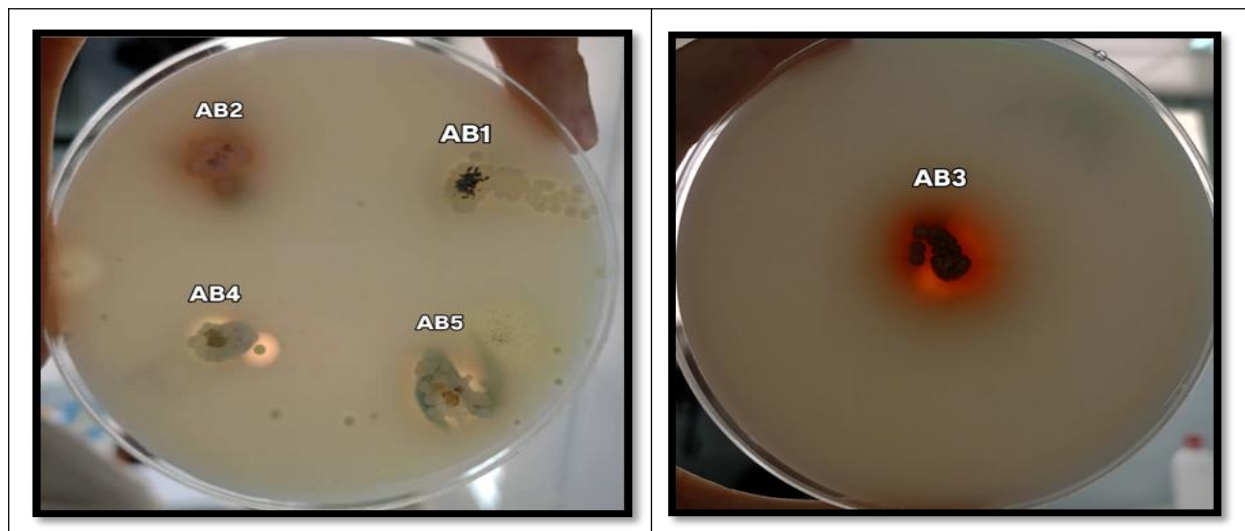


Figure 21 : Activité protéolytique de nos isolats étudiés.

### 5.3 Activité pectinolytique

D'après le **Tableau 11** , les deux isolats (AB1 ,et AB3) présentent une bonne activité pectinolytique alors que les autres isolats (AB2,AB4 ,AB5) ne possèdent pas cette aptitude. En effet, cette activité se traduit par la présence d'un halo clair autour de la colonie, visible après l'addition de « lugol » (**Figure 22**). Les pectinases sont cruciales dans la clarification des jus de fruits et la transformation des fibres végétales. Plusieurs études ont confirmé la capacité de souches d'actinobactéries à produire ces enzymes dans des conditions optimales d'incubation (**Kitouni et al. , 2005**).

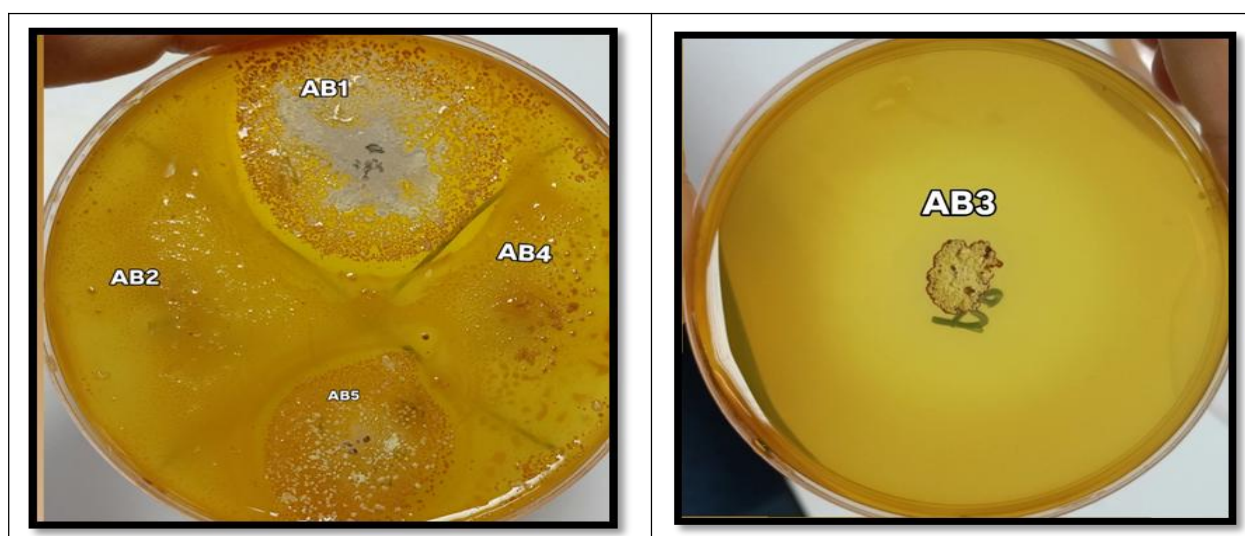
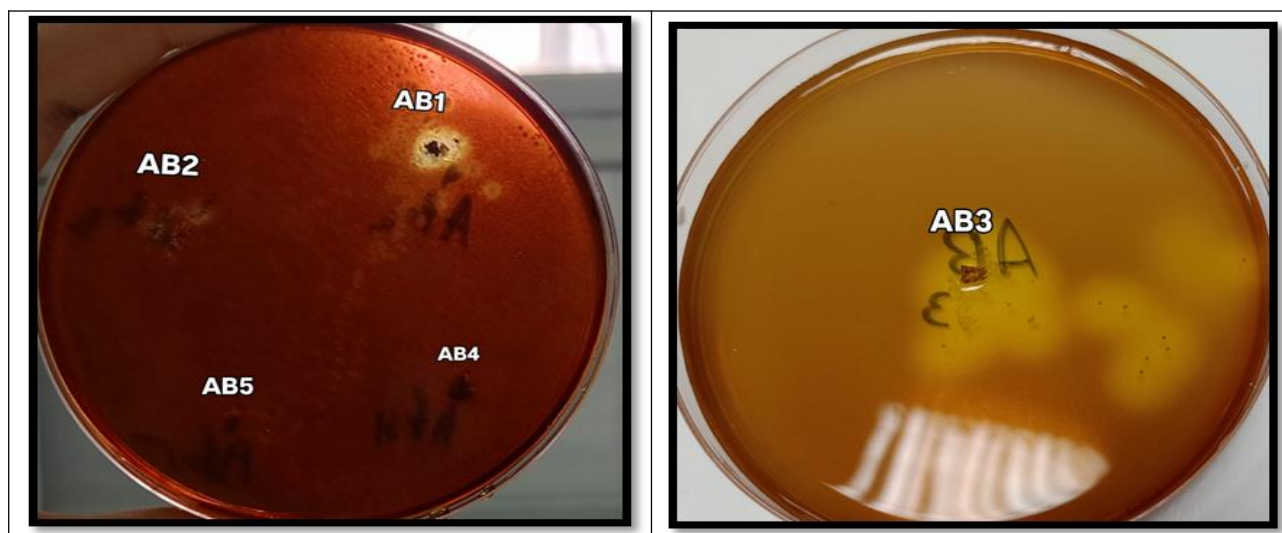


Figure 22 : Activité pectinolytique des isolats AB1,AB2,AB3,AB4 et AB5.

#### 5.4 Activité cellulolytique

Selon le Tableau, il est très clair que l'isolat AB1 et AB3 ont présenté une activité cellulolytique qui a été traduite par la présence d'un halo clair autour des colonies, visible après l'ajout d'une solution de lugol. Ce ci témoigne une dégradation de carboxyméthylcellulose (CMC) du milieu due à la production de l'enzyme cellulase (**Figure 23**).

Notre résultat sont incomparables avec ceux de (**Wachinger G et al ., 1989**) qui ont rapporté qu'après une étude analysant les 160 isolats, 100 % du cellulose soluble hydrolysée. Une autre étude de (**Elisandraet al ., 2014**), ont présenté le potentiel de dégradation des isolats d'actinobactéries le CMC.



**Figure 23** : Activité cellulolytique des isolats AB1, AB2, AB3, AB4 et AB5.

#### 5.5 Activité xylanase

L'activité xylanase se traduit par la présence d'un halo clair autour de la colonie d'actinobactérie après l'ajout du « rouge congo » (**Figure 24**) pendant 10 min, après un rinçage par NaCl. D'après les résultats présentés dans le **Tableau 11** et la **Figure 22**, seules les isolats AB1, AB3 et AB4 ont présentés une activité xylanase détectable, respectivement faible (+) pour l'isolat AB1, modérée (++) pour l'isolat AB3, et très faible ( $\pm$ ) pour l'isolat AB4. Cependant, les isolats AB2 et AB5 n'ont montré aucune activité xylanase détectable.

Ces résultats sont similaires à ceux présentés par (**Putri et Setiawan, 20199**). Au total, 57 isolats d'actinobactéries isolés à partir du sol semi-aride de l'Indonésie. cinq entre eux ont produit de la xylanase et trois isolats produisaient à la fois de la cellulase et de la xylanase.

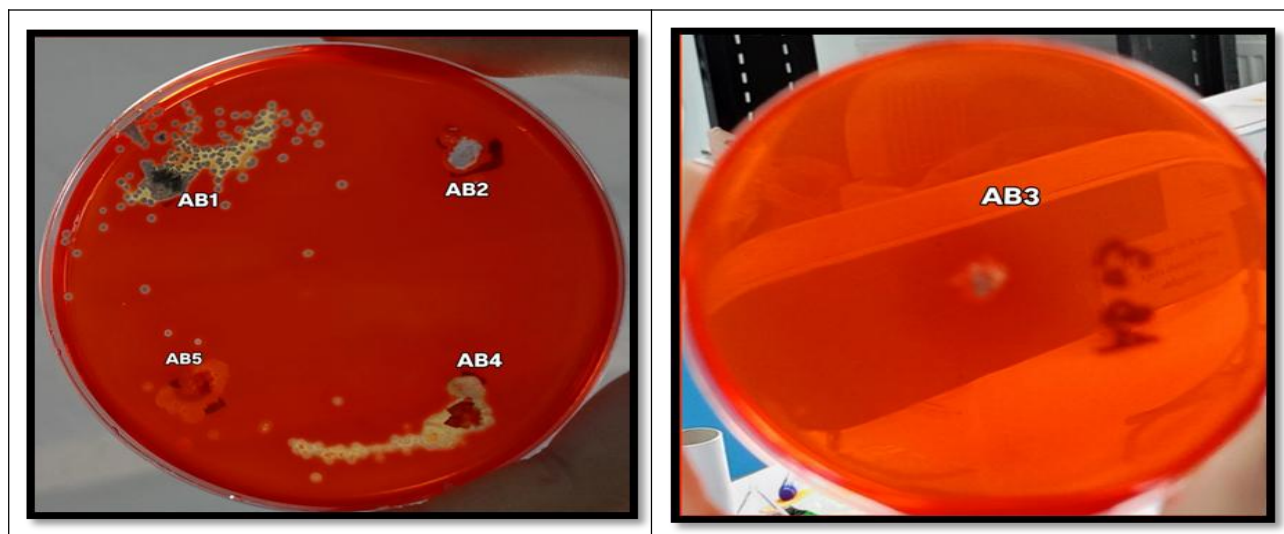


Figure 24 :Activité xylanase des isolats AB1,AB2,AB3,AB4 et AB5.

### 5.5 Activité gélatinase

La présence d'un halo clair, visible autour des colonies d'actinobactéries signifie une activité gélatinase positive (Figure 25). Les résultats présentés dans le Tableau 11, démontre que les isolats AB1 et AB3a la capacité de produire l'enzyme gélatinase qui leur a permis de dégrader la gélatine. En effet, ces résultats mettent en évidence l'hydrolysatonde la gélatine contenue dans le milieu. Une étude réalisée par (Mahmoud M et al .,2022) a montré également la production de cette enzyme par *Lentzea sp* isolé du sol rhizosphérique.

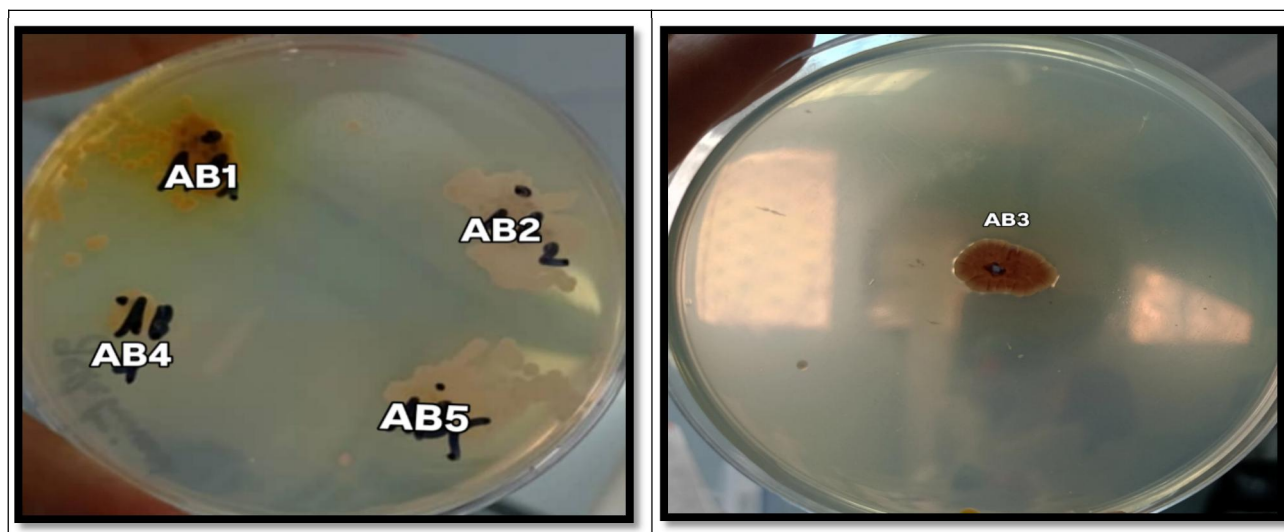


Figure 25 : Activité gélatinase présentée par les isolats d'actinobactéries étudiés dans ce travail.

## **6. La production des exopolysaccharides (EPS )**

L'étude de la production des exopolysaccharides (EPS) par les différents est présentée dans le **Tableau 12**. Les résultats montrent une variation entre les isolats en termes de production d'EPS. L'isolat AB4 se distingue par une production maximale atteignant 0,849 g, ce qui suggère une forte capacité biosynthétique des EPS. L'isolat AB5 suit avec une production de 0,403 g, puis AB1 avec 0,220 g. Les isolats AB3 (0,150 g) et AB2 (0,046 g) présentent les productions les plus faibles.

**Tableau 12 :** Le rendement de production des EPS par des isolats d'actinobactéries.

<b>EPS</b>	<b>Le rendement (g)</b>
<b>AB 1</b>	<b>0,220</b>
<b>AB 2</b>	<b>0,046</b>
<b>AB 3</b>	<b>0,150</b>
<b>AB 4</b>	<b>0,849</b>
<b>AB 5</b>	<b>0,403</b>

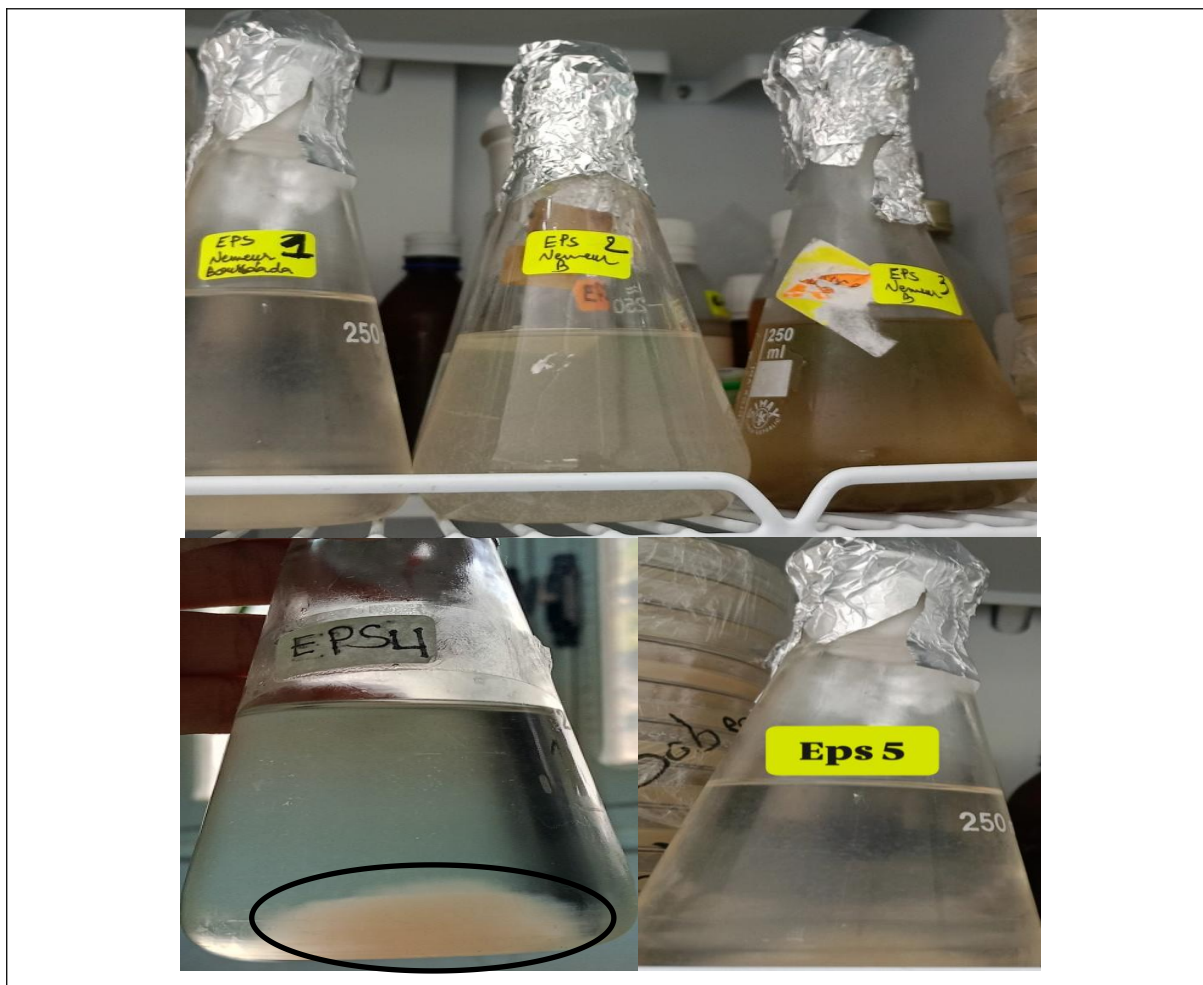
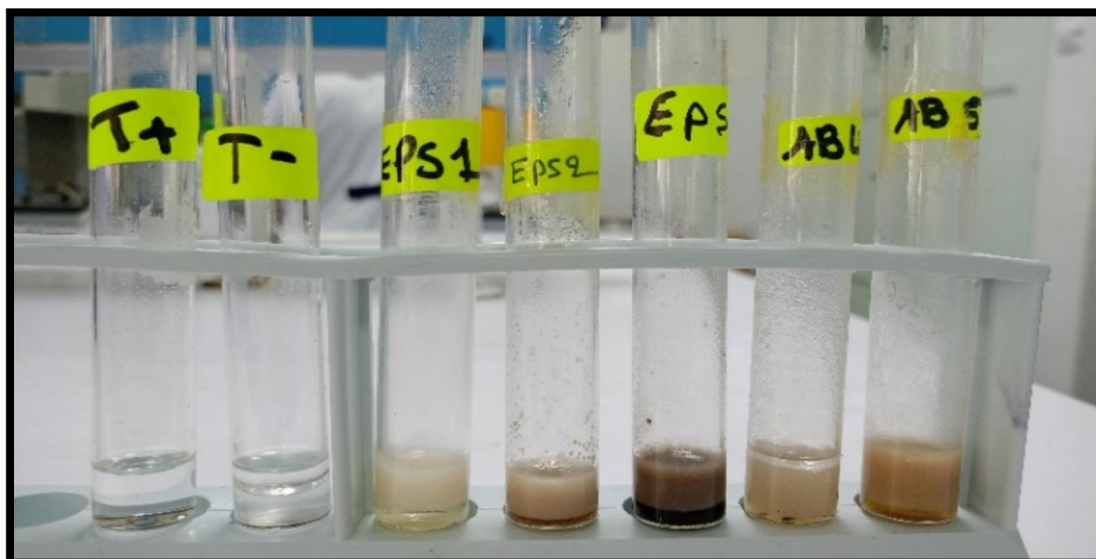


Figure 26 : photographie des EPS après l'ajoute d'éthanol.

### 6.1. Etude du pouvoir émulsifiant des EPS produits par nos isolats

Le pouvoir émulsifiant c'est la capacité à mélanger deux substances qui normalement se séparent lorsqu'elles sont combinées (par ex. l'huile et l'eau). Les émulsifiants ont une partie qui aime l'eau (hydrophile) et une partie qui aime l'huile (hydrophobe). Dans cette partie du travail **Tableau 13**, le Triton X-100, agent émulsifiant utilisé comme référence, a servi de témoin positif avec un indice d'émulsification de 100 %, reflétant une activité optimale. Le PBS (phosphate-buffered saline), qui ne possède aucune propriété émulsifiante sans agent actif, a été utilisé comme témoin négatif et a généré un indice de 53,8 % (**Figure 27**).



**Figure 27 :** Pouvoir émulsifiant des EPS produits par les isolats étudiés .

Parmi les EPS testés, EPS 4 s'est distingué par un indice d'émulsification élevé de 92,3 %, proche de celui du Triton X-100. Cette performance exceptionnelle indique une grande capacité de l'EPS à stabiliser les interfaces hydrophobe/hydrophile, en particulier dans le système benzène/eau. Ces résultats s'alignent avec plusieurs études ayant mis en évidence le potentiel des actinobactéries à produire des EPS à fort pouvoir tensioactif.

Par exemple, (Kumar et al ., 2011) ont rapporté qu'une souche de *Streptomyces sp.* isolée d'un sol contaminé produisait un EPS capable d'émulsifier jusqu'à 90 % de kérosène, montrant un pouvoir comparable à celui observé dans cette étude avec EPS 4. De même, (Suresh Kumar et al ., 2014) ont étudié une souche de *Rhodococcus erythropolis*, connue pour produire un EPS ayant un indice d'émulsification de 88 % en présence de xylène. Ces travaux confirment que les actinobactéries, en raison de leur richesse génomique et métabolique, constituent une source prometteuse de biosurfactants naturels.

Dans la même logique, (Cao et al ., 2017) ont démontré que des EPS issus de *Streptomyces sp.* présentaient des indices d'émulsification élevés (>85 %) avec divers hydrocarbures, dont le benzène, confirmant le fort potentiel de ces biopolymères pour des applications industrielles.

L'EPS 2 a également affiché une bonne activité émulsifiante (84,6 %), suggérant une structure polysaccharidique bien adaptée à l'adsorption à l'interface. Des résultats similaires ont été rapportés par (Raza et al ., 2019), qui ont identifié un EPS produit par *Nocardia sp.* avec des capacités émulsifiantes marquées (>80 %), notamment contre des hydrocarbures lourds comme le diesel.

Les EPS 3, 1 et 5, avec des indices compris entre 69,2 % et 76,9 %, montrent une activité intermédiaire mais néanmoins significative. Bien que leur pouvoir soit moindre, ces EPS peuvent encore jouer un rôle dans certaines formulations, en particulier lorsque la biocompatibilité ou la biodégradabilité est prioritaire. À ce titre, (Manivasagan *et al.*, 2015) ont décrit un EPS modérément actif (70 % d'indice d'émulsification) produit par *Micromonospora sp.*, qui s'est révélé utile dans des applications biomédicales en raison de sa faible toxicité et de sa bonne stabilité.

**Tableau 13 :** L'activité émulsifiante des EPS produits par les isolats d'actinobactéries

EPS	Pourcentage d'émulsifiant%
Témoins (+)	100%
Témoins (-)	53,8%
EPS1	69,2%
EPS2	84,6%
EPS3	76,9%
EPS4	92,3%
EPS5	69,2%

Globalement, ces résultats confirment que les actinobactéries représentent une source précieuse d'EPS à activité biosurfactante, dont les performances varient selon l'espèce, les conditions de culture, et la composition structurale du polymère. Les EPS produits par ces souches présentent une alternative écologique intéressante aux tensioactifs de synthèse, notamment dans les domaines de la dépollution des hydrocarbures, des formulations pharmaceutiques ou cosmétiques.

---

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

---

## Conclusion Générale et Perspectives

---

Ce travail a pour objectif d'évaluer l'activité biologique de différents isolats d'actinobactéries (AB1, AB2, AB3, AB4, AB5), isolés à partir du sol de la région de Tébessa, en examinant leur capacité à inhiber la croissance de souches pathogènes de référence. Une partie importante du travail a porté également sur l'étude du potentiel des isolats d'actinobactéries à produire des enzymes hydrolytiques a savoir xylanase, chitinase, protéase et pectinases. La capacité des isolat d'actinobactéries à produire des exopolysaccharides a été également exploré.

L'activité antibactérienne des cinq isolats ainsi que de leurs extraits a été évaluée vis-à-vis des souches pathogènes à savoir *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*, en appliquant laméthodes de cylindres d'agar et de disques en papier respectivement en utilisant le milieu Mueller-Hinton.

L'évaluation par la méthode des cylindres sur gélose a révélé que les isolats AB1 et AB4 ont une forte activité contre *S. aureus* et *B. subtilis* , AB2 une activité modérée, et AB5 une activité limitée contre *E. coli*. Aucun isolat n'a montré d'effet sur *P. aeruginosa*. Ces résultats confirment le potentiel des actinobactéries contre les bactéries à Gram positif.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits bruts d'actinobactéries montrent une efficacité variable selon l'isolat testé et la nature de bactéries cibles ce qui suggère qu'ils produisent des molécules bioactives extracellulaires, capables de diffuser à travers le disque et d'inhiber la croissance microbienne.

L'activité antifongique des isolats a été évaluée sur milieu PDA, par la méthode de cylindres d'agar, contre *Aspergillus niger* à partir des extraits bruts d'actinobactéries. Les résultats ont montrés que les isolats n'ont pas pu inhiber la croissance de la moisissure *Aspergillus niger*. En revanche, leurs extraits bruts ont révélé une activité antifongique notable pour les trois isolats AB1, AB3 et AB4.

L'activité enzymatique des isolats a été mise en évidence sur des milieux spécifiques pour chaque type d'enzyme. Les résultats ont indiqué que la majorité des isolats possèdent une activité amylasique, protéolytique, cellulosique, pectinolytique, xylanase et gélatinase importante.

L'étude de la production d'exopolysaccharides (EPS) par nos isolats a montré leurs capacités à produire des polymères de type EPS présentant une activité émulsifiante importante en comparaison avec le contrôle.

D'après nos résultats, nous concluons que les actinobactéries continuent de fournir des composés présentant un potentiel bioactif différent, notamment des activités antibactérienne et antifongique. Ces composés pourraient potentiellement devenir des pistes thérapeutiques et inspirer la synthèse chimique de nouveaux composés. Également, par leur pouvoir de dégradation de différents substrats et macromolécules, les actinobactéries offrent une grande diversité d'enzymes extracellulaires qui pourraient être utiles avec des applications dans les industries textile, agroalimentaire, papetière, agricole, des détergents et pharmaceutique.

À l'issue de ce travail, les actinobactéries issues d'environnements arides produisent des enzymes aux propriétés innovantes. Ces enzymes métaboliques, l'amylase, la cellulase, issues de ces microbes offrent un potentiel de production élevé et répondent aux exigences industrielles en matière de commercialisation et de bénéfices sociétaux.

Ces dernières années, les exopolysaccharides (EPS) des actinobactéries sont devenus un centre de recherche important en raison de leurs diverses activités biologiques, notamment leurs effets antitumoraux, antiviraux et immunorégulateurs. Nos résultats obtenus montrent que les isolats issus d'un sol semi-aride représentent un potentiel important de biopolymères de types EPS à valoriser.

Pour poursuivre ce travail, il serait intéressant d'identifier les isolats d'actinobactéries étudiés dans ce travail en utilisant des techniques moléculaires et de déterminer les gènes impliqués dans la biosynthèse des métabolites bioactifs.

L'optimisation des conditions de culture permettrait d'augmenter la production des composés d'intérêt, notamment les exopolysaccharides (EPS), dont il serait utile de caractériser la structure chimique par des techniques spectrométriques (RMN, spectrométrie de masse). De plus, étudier leurs propriétés fonctionnelles (émulsifiantes, antioxydantes, etc.).

-Extraire les enzymes intéressantes en les purifiant par des techniques chromatographiques afin d'étudier leurs caractéristiques physicochimiques.

---

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

---

## Références Bibliographiques

---

### Référence bibliographique

Adegboye, M. F., Babalola, O. O., & Bezuidenhout, C. C. (2013). *Actinobacteria: A promising source of antibacterials*. African Journal of Biotechnology, 12(20), 2920–2932.

Aderem A. 2005. Systems biology: its practice and challenges. Cell 121:511–513. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2005.04.020>.

Adiguzel, A., Tunckanat, F., & Baris, O. (2019). Microbial xylanases and their industrial applications: an overview. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(1), 1–12.

Ait Barka, E., Vatsa, P., Sanchez, L., Gavaut-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., ... & Clément, C. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiological Research*, 179, 136–149.

Al-Aqany, H. A., et al. (2021). *Role of bacterial exopolysaccharides in heavy metal removal*. Environmental Science and Pollution Research, 28(3), 3456–3465.

Al-Nabulsi, A. A., Osaili, T. M., Shaker, R. R., & Olaimat, A. N. (2022). Structure and functional role of microbial exopolysaccharides in food and health applications. *Food Reviews International*, 38(6), 583–605. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1781042>

Aloui, F., et al. (2019). *Characterization of exopolysaccharides produced by Streptomyces griseorubens GD5*. Carbohydrate Polymers, 222, 114982.

Andhare, P., et al. (2012). *Applications of microbial exopolysaccharides in food industry*. Journal of Food Science and Technology, 49(5), 567–574.

Arif, M., Shah, K. A., Ahmad, I., & Akram, M. (2016). Screening of extracellular enzyme production by actinomycetes isolated from different ecological niches. *Advances in Biotechnology & Microbiology*, 1(1), 1–7.

Aronson JD. 1926. Spontaneous tuberculosis in salt water fish. J Infect Dis 39:315–320. <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/39.4.315>.

Arya, P., Prasad, R., & Thakur, R. (2022). Industrial applications of microbial xylanases: a recent perspective. *Industrial Biotechnology*, 18(3), 147–160.

## Références Bibliographiques

---

Ash, R., & Mishra, M. (2023). *Role of biocatalysts in green industrial applications*. *Journal of Industrial Biotechnology*, 42(3), 225–233.

Atlas R. 1997. *Principles of microbiology*. WCB McGraw-Hill, New York, NY.

Baghirova, I., Kalinina, S., & Vorobyeva, D. (2022). *Antifungal properties of amphotericin B derived from Streptomyces nodosus*. *Antibiotics*, 11(3), 342.

Bajpai, P. (2022). Xylanases: An overview. In *Xylanolytic Enzymes* (pp. 1–15). Springer.

Baltz, R. H. (2009). *Renaissance in antibacterial discovery from actinomycetes*. *Current Opinion in Pharmacology*, 8(5), 557–563.

Barka, E. A., et al. (2016). “Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria.” *Microbiol Mol Biol Rev*, 80(1), 1–43.

Barka, E. A., et al. (2016). Taxonomy and ecological significance of Streptomyces in natural and agricultural ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1334.

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gavaut-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., ... & Clément, C. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43.

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-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. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>

Belyagoubi, L.; Belyagoubi-Benhammou, N.; Jurado, V.; Dupont, J.; Lacoste, S.; Djebbah, F.; Ounadjela, F.Z.; Benaissa, S.; Habi, S.; Abdelouahid, D.E.; et al. Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi) isolated from Chaabe cave, Algeria. *Int. J. Speleol.* 2018, 47, 189–199. [CrossRef].

Bentley SD, Maiwald M, Murphy LD, Pallen MJ, Yeats CA, Dover LG, Norbertczak HT, Besra GS, Quail MA, Harris DE, von Herbay A, Goble A, Rutter S, Squares R, Squares S, Barrell BG, Parkhill J, Relman DA. 2003. Sequencing and analysis of the genome of the

## Références Bibliographiques

---

Whipple's disease bacterium *Tropheryma whipplei*. *Lancet* 361:637–644.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12597-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12597-4).

Berd D. 1973. Laboratory identification of clinically important aerobic actinomycetes. *J Appl Microbiol* 25:665–681.

Berdy J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot* 58:1–26.  
<http://dx.doi.org/10.1038/ja.2005.1>.

Berdy, J. (2012). “Thoughts and facts about antibiotics: where we are now and where we are heading.” *Journal of Antibiotics*, 65(8), 441–441.

Berdy, J. (2012). Thoughts and facts about antibiotics: where we are now and where we are heading. *The Journal of Antibiotics*, 65(8), 385–395.

Berlemont, R., & Martiny, A. C. (2013). Phylogenetic distribution of potential cellulases in bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 79(5), 1545-1554.

Bhat, M. K. (2000). Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*, 18(5), 355–383.

Bhat, S. A., Khan, S. A., & Ahmad, M. (2022). Microbial exopolysaccharides: Sources, biosynthesis, and applications. *Biotechnology Reports*, 34, e00714.  
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00714>

Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial pathogenesis*, 111, 458-467.

Bhattacharya, D., Nagpure, A., & Gupta, R. K. (2007). Bacterial chitinases: Properties and potential. *Critical Reviews in Biotechnology*, 27(1), 21–28.  
<https://doi.org/10.1080/07388550601168223>

Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinobacteria: diversity and biotechnological applications. *Microorganisms*, 5(4), 54. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040054>

Boughachiche, F., Ould El Hadj-Khelil, A., & Zadi-Karam, H. (2016). Isolation and characterization of *Streptomyces* spp. producing proteases with potential application in detergent industry. *African Journal of Biotechnology*, 15(30), 1600–1608.

## Références Bibliographiques

---

Bouizgarne B, Ait Ben Aoumar A. 2014. Diversity of plant associated Actinobacteria, p 41–100. In Maheshwari DK (ed), Bacterial diversity in sustainable agriculture. Springer International, Heidelberg, Germany.

Cao, X., Song, X., Ma, Y., & Liu, N. (2017). Emulsifying activity of exopolysaccharides from *Streptomyces* sp. isolated from petroleum-contaminated soil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1004–1011. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.126>

Chatterjee D, Hunter W, McNeil M, Brennan PJ. 1992. Lipoarabino- mannan: multiglycosylated form of the mycobacterial mannosylphos- phatidylinositols. *J Biol Chem* 267:6228 –6233.

Chorouk, H. (2019). Étude des actinobactéries isolées de sols marocains : potentiel antimicrobien. Thèse de doctorat, Université Hassan II, Casablanca.

Collins CH. 2000. The bovine tubercle *Bacillus*. *Br J Biomed Sci* 57:234 –240.

Cragg, G.M.; Newman, D.J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim. Biophys. Acta* 2013, 1830, 3670–3695. [CrossRef] [PubMed]

Dahiya, N., Tewari, R., & Hoondal, G. S. (2001). Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(5–6), 473–483.

Dar, S. A., & Ahmad, M. (2024). *Actinobacteria as a source of bioactive compounds with antifungal potential*. *Frontiers in Microbiology*, 15, 123456.

Dastgheib, S. M. M., Tirandaz, H., Moshtaghi Nikou, M., Ramezani, M., Shavandi, M., Amoozegar, M. A., & Ventosa, A. (2017). *Prauserella oleivorans* sp. Nov., ahalophilic and thermotolerant crude-oil-degrading actinobacterium isolated from an oil-contaminated mud pit. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(9), 3381–3386.

Deka, P., Kalita, M. C., & Nath, R. (2020). Actinobacteria: A potent source of bioactive molecules. In *Bioprospecting of Microorganism-Based Industrial Molecules* (pp. 209–225). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-5054-1\\_9](https://doi.org/10.1007/978-981-15-5054-1_9)

## Références Bibliographiques

---

Demain, A. L., & Sanchez, S. (2009). *Microbial drug discovery: 80 years of progress*. Journal of Antibiotics, 62(1), 5–16.

Desnues B, Al Moussawi K, Fenollar F. 2010. New insights into Whip-ple's disease and Tropheryma whippelii infections. Microbes Infect 12: 1102–1110. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2010.08.001>.

Dietz A, Mathews J. 1971. Classification of Streptomyces spore surfaces into five groups. Appl Microbiol 21:527–533.

Djinni, I., Defant, A., Kecha, M., & Mancini, I. (2019). Actinobacteria derived from Algerian ecosystems as a prominent source of antimicrobial molecules. Antibiotics, 8(4), 172. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040172>.

Djinni, I.; Djoudi, W.; Souagui, S.; Rabia, F.; Rahmouni, S.; Mancini, I.; Kecha, M. Streptomyces thermoviolaceus SRC3 strain as a novel source of the antibiotic adjuvant streptazolin: A statistical approach toward the optimized production. J. Microbiol. Meth. 2018, 148, 161–168. [CrossRef].

Dutta, S., Ray, L., & Singh, S. (2016). *Production of bioethanol from lignocellulosic biomass using microbial enzymes*. Renewable Energy, 98, 136–144.

Elisandra, F. B., de Souza, M. M., & Martins, R. L. (2014). Screening of cellulolytic actinobacteria for biotechnological application. Brazilian Archives of Biology and Technology, 57(3), 431–438.

Ellaiah, P., Adinarayana, K., Bhavani, Y., Padmaja, P., & Srinivasulu, B. (2002). *Optimization of process parameters for glucoamylase production under solid state fermentation by a newly isolated Aspergillus species*. Process Biochemistry, 38(4), 615–620.

El-Sersy, N. A., Abdel-Fattah, A. F., & Abou-Taleb, K. A. (2010). Extracellular pectate lyase production by marine *Streptomyces* sp. N3-7A in solid state fermentation. African Journal of Biotechnology, 9(32), 5132–5139.

El-Tarabily, K. A., & Sivasithamparam, K. (2006). Potential of actinomycetes as biocontrol agents of plant diseases. Australasian Plant Pathology, 35, 1–14.

## Références Bibliographiques

---

El-Tarabily, K. A., et al. (2000). Biological control of *Rhizoctonia solani* in cotton with non-pathogenic *Streptomyces* species. *Plant Pathology*, 49(6), 635–642.

Euzéby JP. 1997. List of bacterial names with standing in nomenclature: a folder available on the Internet. *Int J Syst Bacteriol* 47:590–592. <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-47-2-590>.

Falkinham JO, III. 1996. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. *Clin Microbiol Rev* 9:177–215.

Freitas, F., et al. (2011). *Exopolysaccharides from marine bacteria: Applications and perspectives*. *Marine Drugs*, 9(10), 2106–2130.

G.A. Aaisha and D.L. Barate\*Department of Microbiology, Shri Shivaji College Arts, Science and Commerce, Akola, M.S, India <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.501.051>

Ganesan, J., et al. (2017). Isolation and characterization of antimicrobial actinobacteria from Western Ghats soils. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(10), 44–50.

Gao B, Gupta RS. 2012. Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum Actinobacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 76:66–112. <http://dx.doi.org/10.1128/MMBR.05011-11>.

Genilloud O. 2012. Genus I. Micromonospora, p 1039–1057. In Goodfellow M, Kämpfer P, Busse H-J, Trujillo ME, Suzuki K-I, Ludwig W, Whitman WB (ed), *Bergey's manual of systematic bacteriology: the Actinobacteria*, 2nd ed, vol 5. Springer-Verlag, New York, NY.

Ghumro, P. B., Memon, A. N., & Rathi, M. H. (2011). *Production of thermostable amylase by Streptomyces species*. *African Journal of Biotechnology*, 10(70), 15825–15830.

Girard G, Traag BA, Sangal V, Mascini N, Hoskisson PA, Goodfellow M, van Wezel GP. 2013. A novel taxonomic marker that discriminates between morphologically complex actinomycetes. *Open Biol* 3:130073. <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.130073>.

Girard G, Willemsse J, Zhu H, Claessen D, Bukarasam K, Goodfellow M, van Wezel GP. 2014. Analysis of novel kitasatosporae reveals significant evolutionary changes in conserved

## Références Bibliographiques

---

developmental genes between *Kitasatospora* and *Streptomyces*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 106:365–380.

Girard G, Willemse J, Zhu H, Claessen D, Bukarasam K, Goodfellow M, van Wezel GP. 2014. Analysis of novel *kitasatosporae* reveals significant evolutionary changes in conserved developmental genes between *Kitasatospora* and *Streptomyces*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 106:365–

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. <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0495-y>

Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Suzuki K, Ludwig W, Whitman WB (ed). 2012. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 5. The Actinobacteria, part A and B. Springer, New York, NY.

Goyal, D., et al. (2016). Fungal resistance mechanisms: *Aspergillus* spp. *Fungal Biology Reviews*, 30(1), 13–21.

Guezennec, J. (2017). Chapitre X. Exopolysaccharides bactériens et bioremédiation des métaux : contribution du milieu marin. In N. Morin-Crini & G. Crini (éds.), *Eaux industrielles contaminées (1-)*. Presses universitaires de Franche-Comté.

Gulue, M., & Deshmukh, A. M. (2011). Isolation and characterization of proteolytic actinomycetes from soil. *International Journal of Microbiology Research*, 3(2), 82–86.

Gummadi, S. N., & Panda, T. (2003). Purification and biochemical properties of microbial pectinases—a review. *Process Biochemistry*, 38(7), 987–996.

Gutiérrez-Chávez, C., et al. (2020). *Biosurfactants from actinobacteria: Production and applications*. *Biotechnology Reports*, 25, e00409.

Hamed, J., Mohammadipanah, F., & Ventosa, A. (2019). *Systematic and biotechnological aspects of halophilic and halotolerant actinobacteria*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(1), 1–21.

## Références Bibliographiques

---

- Hamid, R., Khan, M. A., Ahmad, M., Ahmad, M. M., Abdin, M. Z., Musarrat, J., & Javed, S. (2013). Chitinases: an update. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 5(1), 21–29.
- Hankin, L., Zucker, M., & Sands, D. C. (1971). Improved solid medium for the detection and enumeration of pectinolytic bacteria. *Applied Microbiology*, 22(2), 205–209.
- Harir, M.; Bellahcene, M.; Baratto, M.C.; Pollini, S.; Rossolini, G.M.; Trabalzini, L.; Fatarella, E.; Pogni, R. Isolation and characterization of a novel tyrosinase produced by Sahara soil actinobacteria and immobilization on nylon nanofiber membranes. *J. Biotechnol.* 2018, 10, 54–64. [CrossRef]
- Harvey, A. L., Edrada-Ebel, R., & Quinn, R. J. (2015). *The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era*. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14(2), 111–129.
- Hasani, A., Kariminik, A., & Issazadeh, K. (2014). *Production and optimization of antibiotics by Streptomyces species*. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(1), 63–75.
- Hayman J. 1991. Postulated epidemiology of Mycobacterium ulcerans infection. *Int J Epidemiol* 20:1093–1098. <http://dx.doi.org/10.1093/ije/20.4.1093>.
- Hirsch AM, Valdés M. 2009. Micromonospora: an important microbe for biomedicine and potentially for biocontrol and biofuels. *Soil Biol Biochem* 42:536 –542. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.023>.
- Hirsch AM, Valdés M. 2009. Micromonospora: an important microbe for biomedicine and potentially for biocontrol and biofuels. *Soil Biol Biochem* 42:536 –542. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.023>.
- Hong, H., Kim, J., & Kim, B. (2017). *Streptomyces as a major source of antibiotics: Current status and future prospects*. *Journal of Antibiotics*, 70(7), 527–535.
- Hoondal, G. S., Tiwari, R. P., Tewari, R., Dahiya, N., & Beg, Q. K. (2002). Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(4-5), 409–418.
- Hopwood DA. 2007. *Streptomyces in nature and medicine: the antibiotic makers*. Oxford University Press, New York, NY.

## Références Bibliographiques

---

Hoskisson PA, Hobbs G, Sharples GP. 2000. Response of Micromonospora echinospora (NCIMB 12744) spores to heat treatment with evidence of a heat activation phenomenon. Lett Appl Microbiol 30:114 – 117. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00680.x>.

hydrothermal vents: potential hot spots for natural products discovery? J Nat Prod 73:489–499.

Ikeda, H., Ishikawa, J., Hanamoto, A., Shinose, M., Kikuchi, H., Shiba, T., ... & Omura, S. (2003). Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. *Nature Biotechnology*, 21(5), 526–531.

Ingham E. 1999. The immunology of *Propionibacterium acnes* and acne. *Curr Opin Infect Dis* 12:191–197. <http://dx.doi.org/10.1097/00001432-199906000-00006>.

Islam, M.R., Jeong, Y.T., Ryu, Y.J., Song, C.H., Lee, Y.S. (2009). Isolation, Identification and Optimal Culture Conditions of *Streptomyces albidoflavus* C247 Producing Antifungal Agents against *Rhizoctonia solani* AG2-2. *Mycobiology*, 37(2): 114-20

Janssen PH, Yates PS, Grinton BE, Taylor PM, Sait M (2002) Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel members of the divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, and Verrucomicrobia. *Appl Environ Microbiol* 68:2391–2396

Jaouadi, B., Abdelmalek, B., Badis, A., Trabelsi, H., Gharsallah, N., & Ammar, Y. (2010). Purification and characterization of a serine alkaline protease from *Actinomadura keratinilytica*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(8), 2308–2321.

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

Kalakoutskii LV, Agre NS. 1976. Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriol Rev* 40:469 –525.

## Références Bibliographiques

---

Kanchanasin, P., Salahong, T., Sriprechasak, P., Suriyachadkun, C., Harunari, E., Igarashi, Y., ... & 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), 22140.

Kashyap, D. R., Vohra, P. K., Chopra, S., & Tewari, R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*, 77(3), 215–227.

Kaur, S., Kaur, H. P., & Singh, P. (2019). Potential of actinobacteria for the production of industrially important biopolymers. *Current Microbiology*, 76(3), 263–274. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1623-6>

Kavitha, A., Prabhakar, P., Vijayalakshmi, M., & Venkateswarlu, Y. (2010). Screening of *Streptomyces* spp. for extracellular enzymes and antibacterial activity. *Indian Journal of Microbiology*, 50(4), 474–481.

Kim SB, Lonsdale J, Seong C-N, Goodfellow M. 2003. *Streptacidiphilus* gen. nov., acidophilic actinomycetes with wall chemotype I and emendation of the family Streptomycetaceae (Waksman and Henrici (1943)AL) emend. Rainey et al. 1997. *Antonie Van Leeuwenhoek* 83:107–116.

Kim, IJ, Kim, SR, Kim, KH, Bornscheuer, UT, & Nam, KH (2023). Caractérisation et analyse structurale de l'endo-1, 4-β-xylanase GH11 issue de *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, dégradant l'hémicellulose, utile pour la saccharification de la lignocellulose. *Rapports scientifiques*, 13 (1), 17332

Kim, S. M., Lee, J. H., & Park, J. K. (2023). Applications of xylanase in biorefinery processes: recent trends and perspectives. *Bioresource Technology Reports*, 22, 101109.

Kiran, G. S., Ninawe, A., Selvin, J., Prakash, M., & Dube, S. (2018). Amylase production by marine actinobacteria from arid zone of India. *3 Biotech*, 8(1), 34. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-1032-6>

Kirst, H. A., Michel, K. H., Mynderse, J. S., Chabala, J. C., & Douglas, A. W. (2002). *Biotechnology of antibiotics and bioactive natural products*. In W. Zhang & R. R. Thombre (Eds.), *Biotechnology and Pharmaceuticals* (pp. 101–123). Elsevier.

## Références Bibliographiques

---

Kitouni, M., Boudjella, H., Aouati, M., Nadjemi, B., Zitouni, A., & Couble, A. (2005). Isolation of actinomycetes producing antimicrobial substances from an Algerian Sahara soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68, 523–529.

Klich, M. A. (2002). Identification of Common Aspergillus Species. Centraalbureau voor Schimmelcultures.

Korsa, M., Sharma, D., & Lal, R. (2023). Cellulolytic potential of actinobacteria for biomass degradation and biofuel production. *Biotechnology Advances*, 62, 108068.

Kubra, K., Ali, S., Khalil, A. T., Khan, M. A., & Ali, M. (2017). Industrial applications of microbial pectinases: a review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 36–42.

Kumar, A. S., Mody, K., & Jha, B. (2011). Evaluation of biosurfactant/bioemulsifier production by a marine actinobacterium *Streptomyces* sp. *Bioresource Technology*, 102(3), 2313–2319. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.048>

Kumar, R., Singh, S., & Singh, O. V. (2020). Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 47(6–7), 499–525.

Lechevalier HA, Lechevalier MP. 1965. Classification des actinomycètes aérobies basée sur leur morphologie et leur composition chimique. *Ann Inst Pasteur* 108:662–673.(In French.)

Lechevalier MP, Lechevalier HA. 1980. The chemotaxonomy of actinomycetes, p 225–292. In Dietz A, Thayer DW (ed), *Actinomycetes taxonomy*, vol A6. Virginia Society of Industrial Microbiology, Arlington, VA.

Letek M, Ordonez E, Vaquera J, Margolin W, Flärdh K, Mateos LM, Gil JA. 2008. DivIVA is required for polar growth in the MreB-lacking rod-shaped actinomycete *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol* 190: 3283–3292. <http://dx.doi.org/10.1128/JB.01934-07>.

Lewin, G. R., Carlos, C., Chevrette, M. G., Horn, H. A., McDonald, B. R., Stankey, R. J., ... & Currie, C. R. (2016). Evolution and ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications. *Annual review of microbiology*, 70(1), 235-254.

## Références Bibliographiques

---

Li, Y., Wang, T., Shi, H. H., Wang, Y. M., Xue, C. H., Huang, Q. R., & Zhang, T. T. (2022). Absorption, pharmacokinetics, tissue distribution, and excretion profiles of sea cucumber-derived sulfated sterols in mice. *Marine Drugs*, 20(5), 312. <https://doi.org/10.3390/md20050312>

Lo Grasso, L., et al. (2016). Antibiotic activity of soil actinobacteria from semi-arid regions. *Annals of Microbiology*, 66(2), 695–703.

Locci R, Schaal KP. 1980. Apical growth in facultative anaerobic actinomycetes as determined by immunofluorescent labeling. *Zentralbl Bakteriol A* 246:112–118.

Locci R, Sharples G. 1984. Morphology, p 165–199. In Goodfellow M, Mordarski M, Williams ST (ed), *The biology of Actinomycetes*. Academic Press, London, United Kingdom.

Ludwig W, Euzéby J, Schumann P, Buss HJ, Trujillo ME, Kämpfer P, Whitman WB. 2012. Road map of the phylum Actinobacteria, p 1–28. In Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Suzuki KI, Ludwig W, Whitman WB (ed), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 5. Springer-Verlag, New York, NY.

Ludwig W, Euzéby J, Schumann P, Buss HJ, Trujillo ME, Kämpfer P, Whitman WB. 2012. Road map of the phylum Actinobacteria, p 1–28. In Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Suzuki KI, Ludwig W, Whitman WB (ed), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 5. Springer-Verlag, New York, NY.

Mahajam, S., & Balachandran, C. (2012). *Actinobacteria-derived bioactive compounds and their mechanisms of action*. *Journal of Microbial Biotechnology*, 22(3), 123–135.

Mahmoud, M., Wafaa, H., & Saad, H. (2022). Characterization of gelatinase-producing actinobacteria from rhizosphere soil. *Egyptian Journal of Microbiology*, 57(2), 143–151.

Maki, M. L., Broere, M., Leung, K. T., & Qin, W. (2011). Characterization of some efficient cellulase producing bacteria isolated from paper mill sludges and organic fertilizers. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2(2), 146–154.

Malhotra, S., & Alghuthaymi, M. A. (2022). Microbial cellulases and their industrial applications: a review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 2533–2542.

## Références Bibliographiques

---

Manivasagan P, Venkatesan J, Sivakumar K, Kim SK. 2013. Marine actinobacterial metabolites: current status and future perspectives. *Microbiol Res* 168:311–332. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2013.02.002>.

Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K., & Kim, S. K. (2015). Production, characterization and antioxidant activities of exopolysaccharide from *Streptomyces* sp. *Process Biochemistry*, 50(6), 1027–1035. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.03.013>

Maud, P., Jean, F., & Thomas, L. (2024). *Ileumycine: A novel antifungal agent from Streptomyces lavendulae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(2), 289–297.

Mayfield CI, Williams ST, Ruddick SM, Hatfield HL. 1972. Studies on the ecology of actinomycetes in soil. IV. Observations on the form and growth of streptomycetes in soil. *Soil Biol Biochem* 4:79–91.

Mervat, A., Aryes, A., Noura, A., & Sahar, E. (2022). Exopolysaccharide production by novel actinobacteria and its potential biotechnological applications. *Journal of Microbiological Methods*, 198, 106478. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2022.106478>

Mihaela, P., Călin, C., & Irina, D. (2011). Isolation and screening of protease producing actinomycetes from soil. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(6), 6743–6750.

Miyadoh S. 1997. Atlas of actinomycetes. Asakura Publishing Co, To-kyo, Japan.

Mohammadipanah, F., and Dehghani, M. (2017). Classification and taxonomy of Actinobacteria. *Biology and biotechnology of Actinobacteria*, 51-77.

Mouro, C., et al. (2024). *Industrial applications of exopolysaccharides from actinobacteria*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 51(2), 123–134.

Nawani, N., Dosanjh, N. S., & Kaur, J. (2002). A novel thermostable metalloprotease from a newly isolated thermophilic *Streptomyces* sp. MAB18. *Enzyme and Microbial Technology*, 30(7), 823–831.

Netrusov, A. I., et al. (2023). *Properties and applications of bacterial exopolysaccharides*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 59(1), 1–12.

## Références Bibliographiques

---

Nicemol, J., & Parukuttyamma, G. (2006). Production of alkaline protease by *Bacillus subtilis* and its application as a depilation agent. *Indian Journal of Biotechnology*, 5, 379–384.

Norden A, Linell F. 1951. A new type of pathogenic *Mycobacterium*. *Nature* 168:826. <http://dx.doi.org/10.1038/168826a0>.

Nwodo, U. U., et al. (2012). *Bacterial exopolysaccharides: Functionality and prospects*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11), 14002–14015.

O'Donnell AG. 1988. Recognition of novel actinomycetes, p 69 –88. In Goodfellow MM, Williams ST, Mordarski M (ed), *Actinomycetes in bio- technology*. Academic Press, London, United Kingdom.

Oueriaghli, N., et al. (2023). Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from Moroccan mining soils. *Microbial Pathogenesis*, 177, 105738.

Palaniyandi, S. A., Yang, S. H., Zhang, L., & Suh, J. W. (2013). Biological control of soil-borne plant pathogens by actinomycetes: A review. *Frontiers in Microbiology*, 4, 1–13.

Patil, A., & Jadhav, S. (2017). *Applications of proteases in various industries*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 638–650.

Pitulle C, Dorsch M, Kazda J, Wolters J, Stackebrandt E. 1992. Phylogeny of rapidly growing members of the genus *Mycobacterium*. *IntJ Syst Bacteriol* 42:337–343. <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-42-3-337>.

Prakash, O., & Jaiswal, N. (2010). *Amylase applications in textile desizing*. *Textile Research Journal*, 80(5), 435–442.

Pridham TG, Hesseltine CW, Benedict RG. 1958. A guide for the classification of streptomycetes according to selected groups; placement of strains in morphological sections. *Appl Microbiol* 6:52–79.

## Références Bibliographiques

---

Prudence, S. M., Addington, E., Castaño-Espriu, L., Mark, D. R., Pintor-Escobar, L., Russell, A. H., & McLean, T. C. (2020). Advances in actinomycete research: an ActinoBase review of 2019. *Microbiology*, 166(8), 683-694.

Putri, R. H., & Setiawan, Y. (2019). Screening of cellulase and xylanase-producing actinobacteria from semi-arid Indonesian soil. *Journal of Applied Microbiology*, 126(2), 482–490.

Rajagopal, R., Ramasamy, M. K., & Sundararaman, M. (2016). Thermostable and halotolerant cellulase production by *Actinoalloteichus* sp. MHA15 for biomass conversion. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 5, 148–155.

Raoult D, Lepidi H, Harle JR. 2001. Tropheryma whipplei circulating in blood monocytes. *N Engl J Med* 345:548. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200108163450716>.

Raoult D, Ogata H, Audic S, Robert C, Suhre K, Drancourt M, Claverie JM. 2003. Tropheryma whipplei Twist: a human pathogenic Actinobacteria with a reduced genome. *Genome Res* 13:1800–1809. <http://dx.doi.org/10.1101/gr.1474603>.

Raza, Z. A., Khan, M. S., & Khalid, Z. M. (2019). Biosurfactant from *Nocardia* sp: Characterization and potential environmental applications. *Environmental Technology & Innovation*, 13, 313–321. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.11.004>

Rosmine, H., Abraham, J., & Krishnan, A. (2017). Industrial potential of xylanase: an overview. *BioTechnology: An Indian Journal*, 13(7), 1–9.

Ruiz-Herrera, J., & San-Blas, G. (2003). Chitin synthesis as target for antifungal drugs. *Current Drug Targets-Infectious Disorders*, 3(1), 77–91. <https://doi.org/10.2174/1568005033341920>

Sahai, A. S., & Mani, K. (1993). Production of chitinases by *Streptomyces* and their potential in fungal control. *Biotechnology Advances*, 11(2), 269–278.

Saimmai, A., et al. (2011). *Biosurfactant production by actinobacteria and their applications*. *African Journal of Microbiology Research*, 5(15), 1869–1875.

## Références Bibliographiques

---

Saini, R., Sharma, A., & Singh, P. (2023). Advances in thermophilic actinobacterial cellulases for lignocellulosic biomass degradation. *Critical Reviews in Biotechnology*, 43(2), 123–138.

Saker, R., Bouras, N., Meklat, A., Zitouni, A., Schumann, P., Spröer, C., ... & Sabaou, N. (2015). *Actinopolyspora biskrensis* sp. Nov., a novel halophilic actinomycete isolated from Northern Sahara. *Current microbiology*, 70, 423-428.

Salazar O, Valverde A, Genilloud O (2006) Real-time PCR for the detection and quantification of Geodermatophilaceae from stone samples and identification of new members of the genus *Blastococcus*. *Appl Environ Microbiol* 72:346–352.

Salimi, M., & Farrokh, P. (2023). *Antioxidant properties of exopolysaccharides from actinobacteria*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 1234–1242.

Salwan, R., & Sharma, V. (2018). Book Volume on Actinobacteria: Diversity and Biotechnological Applications.

Samuel, J. R., Kumar, P. V., & Manogari, S. (2022). Actinobacteria-derived cellulases and their potential biotechnological applications. *Journal of Applied Microbiology*, 132(2), 599–616.

Sarker, P. K., Talukdar, S. A., Deb, P., Sayem, S. M. A., & Mohsina, K. (2020). Production and optimization of protease enzyme by *Nocardiosis dassonvillei*. *Biotechnology Reports*, 25, e00409.

Sathiyarayanan, G., et al. (2017). *Edible films and coatings from microbial exopolysaccharides*. *Food Hydrocolloids*, 64, 1–12.

Shrestha, R., Joshi, D. R., Adhikari, N., & Maharjan, R. (2021). Applications of pectinases in food and beverage industries: a review. *Food Research*, 5(5), 56–67.

Singh, J., Batra, N., & Sobti, R. C. (2016). Serine alkaline protease from a newly isolated *Streptomyces* sp. MAB18. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 33(6), 432–438.

Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P. K. (2011). *Microbial enzymes: Industrial progress in 21st century*. *3 Biotech*, 1(2), 109–120.

## Références Bibliographiques

---

Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K. M., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2006). *Alpha amylases from microbial sources – An overview on recent developments*. Food Technology and Biotechnology, 44(2), 173–184.

Sohail, M., Siddiqi, R., Ahmad, A., & Khan, S. A. (2022). Current strategies in xylanase production and its industrial applications. *Critical Reviews in Microbiology*, 48(3), 245–260.

Souagui, S.; Djoudi, W.; Boudries, H.; Béchet, M.; Leclère, V.; Kecha, M. Modeling and statistical optimization of culture conditions for improvement of antifungal compounds production by *Streptomyces albidoflavus* S19 strain of wastewater origin. *Anti Infect. Agents*. 2019, 17, 39–49. [CrossRef].

Souagui, Y.; Tritsch, D.; Grosdemange-Billiard, C.; Kecha, M. Optimization of antifungal production by an alkaliphilic and halotolerant actinomycete, *Streptomyces* sp. SY-BS5, using response surface methodology. *J.Mycol. Med.* 2015, 25, 108–115. [CrossRef]

Souza, P. M., Bittencourt, M. L. A., Caprara, C. C., Freitas, M. M., Almeida, R. P. C. L., Silveira, D., ... & Magalhães, P. O. (2023). Microbial xylanases: from genes to applications. *Biocatalysis and Biotransformation*, 41(1), 47–67.

Subramani, R., & Aalbersberg, W. (2012). *Marine actinobacteria as potential sources of novel secondary metabolites*. *Chemical Biology & Drug Design*, 80(5), 431–445.

Sukumaran, R. K., Singhania, R. R., Mathew, G. M., & Pandey, A. (2005). Cellulase production using biomass feed stock and its application in lignocellulose saccharification for bio-ethanol production. *Renewable Energy*, 34(2), 421–424.

Sundarram, A., & Murthy, T. P. K. (2014). *Alpha-amylase production and applications: A review*. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2(4), 166–175.

Suresh Kumar, M., Lin, J., & Yang, W. (2014). Response surface optimization of biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* using cheap substrates. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.11.001>

Tamaki H, Sekiguchi Y, Hanada S, Nakamura K, Nomura N, Matsumura M, Kamagata Y (2005) Comparative analysis of bacterial diversity in freshwater sediment of a shallow

## Références Bibliographiques

---

eutrophic lake by molecular and improved cultivation-based techniques. *Appl Environ Microbiol* 71:2162–2169 .

Thornburg CC, Zabriskie TM, McPhail KL (2010) Deep-sea

Tiwari, K., & Gupta, R. K. (2012). Diversity and isolation of rare actinomycetes: An overview. *Critical Reviews in Microbiology*, 38(2), 128-140. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2011.638968>

Touré, Y., Ongena, M., Jacques, P., Guiro, A., & Thonart, P. (2004). Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. *Journal of Applied Microbiology*, 96(5), 1151–1160. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02248.x>

Trujillo ME, Bacigalupe R, Pujic P, Igarashi Y, Benito P, Riesco R, Medigue C, Normand P. 2014. Genome features of the endophytic actinobacterium *Micromonospora lupini* strain Lupac 08: on the process of adaptation to an endophytic life style? *PLoS One* 9:e108522. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0108522>.

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

Van der Werf TS, van der Graaf WT, Tappero JW, Asiedu K. 1999. *Mycobacterium ulcerans* infection. *Lancet* 354:1013–1018. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)011563](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(99)011563).

Van Dissel D, Claessen D, van Wezel GP. 2014. Morphogenesis of *Streptomyces* in submerged cultures. *Adv Appl Microbiol* 89:1–45. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800259-9.00001-9>.

Vasantha, K., & Srikumar, T. S. (2012). Production and optimization of protease from *Streptomyces pulvereceus*. *International Journal of Microbiological Research*, 3(3), 102–107.

Wachinger, G., et al. (1989). Cellulase activity of soil actinobacteria and its role in decomposition. *Soil Biology & Biochemistry*, 21(4), 469–473.

## Références Bibliographiques

---

Watve MG, Tickoo R, Jog MM, Bhole BD (2001) How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Arch Microbiol* 176:386–390

Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ. 2010. Prescott's microbiology, 7th ed. McGraw-Hill, New York, NY.

Williams ST, Goodfellow M, Alderson G. 1989. Genus *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339AL, p 2452–2492. In Williams ST, Sharpe ME, Holt JG (ed), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 1st ed, vol 4. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

Williams, S. T., Goodfellow, M., & Alderson, G. (1983a). Genus *Streptomyces*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 4, pp. 2452–2492). Williams & Wilkins.

Wingender, J., Neu, T. R., & Flemming, H.-C. (1999). *Microbial extracellular polymeric substances: Characterization, structure and function*. Springer.

Yang, S., et al. (2019). Influence of culture conditions on antimicrobial production by actinobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(2), 797–808.

Zakharova OS, Zenova GM, Zvyagintsev DG (2003) Selective isolation of actinomycetes of the genus *Actinomadura* from soil. *Mikrobiologiya* 72:126–130

Zamoum, M.; Goudjal, Y.; Sabaou, N.; Barakate, M.; Mathieu, F.; Zitouni, A. Biocontrol capacities and plant growth-promoting traits of endophytic actinobacteria isolated from native plants of Algerian Sahara. *J. Plant Dis. Prot.* 2015, 122, 215–223. [CrossRef]

Zhi XY, Li WJ, Stackebrandt E. 2009. An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *Int J Syst Evol Microbiol* 59:589–608. <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.65780-0>.

Zhi XY, Li WJ, Stackebrandt E. 2009. An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended descriptions of the existing higher taxa. *Int J Syst Evol Microbiol* 59:589–608. <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.65780-0>

## Références Bibliographiques

---

Zotchev, S. B. (2012). Marine actinobacteria as a source of novel secondary metabolites. *Antibiotics*, 1(1), 22–43.

---

# ***ANNEXES***

---

---

**Annexe 1 : Composition des milieux de cultures utilisés****1. Milieu YMEA + CaCO<sub>3</sub>**

Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
Glucose	4g
CaCO <sub>3</sub>	10g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml
pH = 7,3	

**2. Milieu Mueller Hinton**

Extrait de viande	2g
Hydrolysate acide de caséine	17,5g
Eau distillée	1000ml
PH =7,4	

**3. Milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*)**

Glucose	20g
Pomme de terre	200g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
Ph=6,5	

**4. Milieu SCA (*Starch casein Agar*)**

Amidon soluble	2g
Peptone	5g
Extrait de levure	1g
Agar	20g
PH=7	

**5. Milieu protéolytique**

Extrait de levure	0,5g
Lait écrémé	500ml
Glucose	0,5g
Agar	10g
PH =7	

**6. Milieu pectine agar**

Pectine	10g
---------	-----

---

KCl	0,5g
MgSO <sub>4</sub>	0,5 ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
Tryptone	0,5g
Agar	20g
PH= 7	

**7. MilieuCMC (Carboxy méthyl Cellulose)**

CMC	2g
NaCO <sub>3</sub>	2g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
MgSO <sub>4</sub>	0,5g
Peptone	0,2g
Agar	20g
Kcl	0,5g
PH= 7	

**8. Milieu xylan agar**

Xylan	0,5g
Extrait de levure	1 g
Peptone	0,25g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,25g
CaCl <sub>2</sub>	0,01 g
NaCl	0,025g
Agar	20g
PH=7	

**9. Milieu gélatne agar**

Gélatine	12g
Extrait de levure	1g
Peptone	4g
Agar	18g
PH=7	

**10. Milieu liquide**

Glucose	30g
NaNO <sub>3</sub>	3g
Extrait de levure	5g

NaCl	4g
MgSO <sub>4</sub>	5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
CaCO <sub>3</sub>	1g
PH=7	

**Annexe 2 : Composition des solution**

**1. Solution rouge congo 0,4 %**

Rouge congo	0,4 g
Eau distillée	100ml

**2. Solution d'NaCl 1M**

NaCl	58,5 g
Eau distillée	100 ml

Année Universitaire: 2024/2025

Présenté: BOUSSAADA IKRAM

NEMEUR MEROUA

Thème: Production des molécules d'interts biotechnologique par des isolats d'actinobactéries

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

Les actinobactéries sont des bactéries Gram-positif, caractérisés par leur production des molécules bioactifs ayant une grande importance dans le domaine biotechnologique. Ce travail comporte la mise en évidence de l'activité antimicrobienne à savoir antifongique et antibactériens des isolats d'actinobactéries codés AB1 à AB5 provenant du sol semi arid de la wilaya de Tébessa. Egalement, cette étude a porté sur le pouvoir de dégradation de cinq isolats différents substrats ainsi que leurs capacités à produire des EPS à partir d'un milieu submergé. L'étude de l'activité antibactérienne des isolats d'actinobactérie a montré que les cinq isolats ont présenté une activité antibactérienne importante vis à vis *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche, leur capacité à inhiber la croissance de *Aspergillus niger* s'est avéré très faible. L'activité enzymatique des isolats d'actinobactéries a montré que les cinq isolats possèdent une bonne capacité de production d'enzymes hydrolytiques, notamment amylases, protéases, pectinases, cellulases, xylanases et gélatinases. Parmi eux, l'isolat AB3 s'est avéré potentiellement très active. Les exopolysaccharides (EPS) produits par nos isolats présentent un fort pouvoir émulsifiant, ce qui leur confère un intérêt particulier dans diverses applications industrielles. En particulier, l'EPS de l'isolat AB4 s'est distinguée par un indice d'émulsification élevé de 92,3 %, indiquant une grande efficacité pour stabiliser des émulsions. Ces résultats suggèrent que ces EPS pourraient être exploitées comme agents naturels d'émulsification dans les domaines pharmaceutiques cosmétiques, agroalimentaires ou encore pour le traitement des eaux usées. D'après les résultats obtenus, nous concluons que les isolats issus d'un sol semi-aride de la wilaya de Tébessa représentent un potentiel important de molécules d'intérêt biotechnologiques.

**Mots clés :** Actinobactéries, Molécules bioactives, Enzymes, EPS, Sol semi-aride.

**Devant le jury:**

<b>Dr Yahia MASSINISSA</b>	<b>MCA, Univ.Abbes Laghrour - Khenchela-,</b>	<b>Président</b>
<b>Dr Nassima LEULMI</b>	<b>MCA, Univ.Abbes Laghrour - Khenchela-,</b>	<b>Encadrante</b>
<b>Dr Fatima Zahra SEBIHI</b>	<b>MCA, Univ.Abbes Laghrour - Khenchela-,</b>	<b>Examinatrice</b>