



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère De l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : Biologie

OPTION: Microbiologie Appliquée

Thème

**Etude de quelques activités biologiques
des souches d'actinobactéries isolées du
sol de Hammam Salhine et Hafiane Laid
et l'eau de Sebkha El-Mahmal Khenchela**

Réalisé par

Aouaidjia Zineb

Benchaib Loubna

Rim Takoua

Jury de soutenance

Présidente: Dr. DJEMIL RANDA

M.C.B

Université Abbes Laghrou khenchela

Examinatrice: Dr. MERABTI RYMA

M.C.A

Université Abbes Laghrou khenchela

Promotrice: Dr. LEULMI NASSIMA

M.C.B

Université Abbes Laghrou khenchela

Année Universitaire 2020/2021

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

A. Mme **DJEMIL RANDA**, nous adressons nos remerciements les plus Sincères pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury.

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

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

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

Un grand merci à toute l'équipe du Campus des Laboratoires Pédagogiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, en particulier Mme **CHORFI RAFIKA** et Mme **MIZANE SARRA**, qui ont mis à notre disposition tout le matériel nécessaire pour la réalisation de ce travail.

Tous nos vifs remerciements et sincères gratitude s'adressent à **MAROUAN BOUDRAA**, **ABD ESSAMAD BELAIB** et monsieur **GHANEM MONCEF** pour leur aide et leur effort, merci infiniment.

Dédicace

Je dédie ce travail à:

À mes support de ma vie, mes exemple éternel, mes soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à mes cher grand parent qui je souhaite bonne santé et longue vie.

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

À mes adorables oncle Salah et Djamel et mon marié Anis, la prunelle de mes yeux pour leur soutien, leur encouragement, leur affection et leur patience.

À mes parents de ma belle famille et mes sœurs Nada et chems pour leur disponibilité et leur soutien moral.

À mes chères sœurs «Chaima», «Bouthaina», «Nany», «Asma et son fils Macine» et «meison»

À mes Trinome Takoua et loubna et toute leur famille Rim et Benchaib.

Toute ma famille

Tous mes amis.

Dédicace

Je Dédie Ce Modeste Travail A :

Mon père, Aucun Dédicace Ne Saurait Exprimer L'amour, L'estime Et Le Respect Que J'ai Toujours Eu Pour toi. En Hommage À Tous Les Sacrifices Que Tu As Consentis Pour Moi Durant Mes Longues Années D'étude. Je Te Remercie D'avoir Fait De Moi Ce Que Je Suis Maintenant Et De M'avoir pris De Vivre Dans L'honneur Et Dans La Dignité.

Aucun Dédicace, Aucun Mot Ne Pourrait Exprimer Réellement Ta Juste Valeur. Chaque Ligne De Cette Mémoire, Chaque Mot Et Chaque Lettre T'exprime Le Reconnaissance, Le Respect, L'estime Et Le Merci D'être Toujours Avec Moi. Quoique Je Fasse, Je Ne Pourrais Te Rendre Ce Que Tu As Fait Pour Moi. Ma Chère Maman Je T'aime

A L'amour Familiale Créé Par :

Mes Frères : Fares, Kousay, Mohamed

Mes Sœurs : Siham, Kamar, Maria

A Mes Adorable Cousines : Oussama, Hatem, Mouadh Houssein, Charef Addine, Amer, Iyed, Akrem, Siraj, Baha, Wassim, Anes, Acer, Jad, Jawad, Rania, Mouna, Sara, Amel, Sana, Amira, Wiam, Soundous, Rawan, Ranim, Aridj.

A Mes Merveilleuse Copines : Anissa, Kawthar, Youssra, Hadil, Samira, Chams, Nadjat, Ioka, Sabrina, Rahma,

A Mes Trinome : Takoua, Zineb Et Tous Leur Famille Rim Et Aouaidjia.

A Tous Les Group De Ma Spécialité Microbiologie Appliquée

A Tous Mes Enseignants De Tous Les Années De Mes Études En Fin A Tous Ceux Qui Ont Contribué De Prés Ou De Loin Pour l'élaboration De Ce Travail

Loubna

Dédicace

Avec l'aide du Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A la mémoire de ma grand-mère , mon oncle et ma tante , qu'Allah leur fasse miséricorde, et leur ouvre les portes de paradis .

A l'être le plus chère de ma vie a la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse . Je t'adore très fort ma mère .

A l'homme de ma vie , mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect mon chère père, je t'aime.

Les mots aussi expressif soient-ils, restent faibles pour vous énoncer mon amour et ma gratitude hautement profonds . Puisse dieu vous exaucer de santé, de bien- être et vous octroyer une longue vie.

*A mon très chère frère **Adnen** et sa femme **Lydia** , mon aimable frère **Tajeddine** et le plus adorable **Fettouh** . Le simple fait de votre présence et votre amour me donne la force d'avancer.*

*A mes chères sœurs **Rayen** et **Chaima** en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble . je vous souhaite une vie pleine de joie .*

A toute ma grande famille et mes merveilleuses cousines sans exception , que dieu leur donne une longue et joyeuse vie .

*A mes trinomes **Zineb** et **Loubna** et toute la famille **Aouaidjia** et **Benchaib** , merci pour votre soutien et votre encouragement .*

A toutes mes copines et mes amies que j'ai connait depuis l'enfance jusqu'à ce jour.

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Abstract	
الم لخص	
INTRODUCTION	01
Revue Bibliographique.....	04
I. Les actinobactéries	05
I.1 Historique	05
I.2 Définition et Caractéristiques générales des actinobacteries.....	06
I.3 Taxonomies et critères d'identification.....	07
I.3.1 Taxonomies phénotypique	07
I.4 Classification (systématique).....	09
I.5 Habitat des actinobactéries	12
I.5.1 Environnement terrestre.....	12
I.5.2 Environnement aquatique	12
II. Les activités biologiques des actinobactéries	13
II.1 L'activité antifongique	13
II.2 L'activité antibactérienne	15
II.3 L'activité d'hydrolytiques.....	16
II.3.1 Amylase	17
II.3.2 Protéase (caséinase et gélatinasse)	18
II.3.3 Kératinase	19
II.3.4 Xylanases	20
II.3.5 Cellulases.....	20
II.3.6 Lipases	21
Partie experimentale.....	22
Matériel et méthodes.....	23
I.Echantillonnage	25
1.1 Le sol.....	25
1.2 L'eau	26
II. Isolements et purification des actinobactéries.....	27
III Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries.....	27
III.1. Activité antibactérienne.....	27
a) Les bactéries-tests.....	27

b) Technique des cylindres d'agar	27
III.2. Activité antifongique	28
IV. Etude des caractères biochimiques	28
IV.1 Production de sulfure d'hydrogène (H ₂ S)	28
IV.2 L'activité d'hydrolyse	28
Résultats et discussion	29
I. L'isolement des actinobactéries	29
II. L'activité antibactérienne des actinobactéries	32
II.1 Des isolats d'actinobactéries du sol forestier	32
II.2 Des isolats d'actinobactéries du sol rhizosphérique	33
III L'activité antifongique des actinobactéries	35
III.1 Des isolats d'actinobactéries du sol forestier	35
III.2 Des isolats d'actinobactéries du sol rhizosphérique	37
IV La production de sulfure d'hydrogènes	39
IV.1 Des isolats d'actinobactéries du sol forestiers	39
IV.2 Des isolats d'actinobactéries du sol rhizosphérique	39
V Les activités d'hydrolyses	40
V.1 Des isolats du sol forestiers	40
Conclusion générale et perspective	45
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVE	46
Références Bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

ATPase : Enzyme catalyse l'adénosine triphosphate.

ATP : Adénosine triphosphate.

ARN : Acide ribonucléique.

ARNm : Acide ribonucléique messenger.

ATCC : American Type Culture Collection.

B. subtilis : *Bacillus subtilis*.

Cm : Centimètre.

CaCO₃ : Bicarbonate de Calcium.

°C : Degré Celsius.

DAP : Diaminopimélique.

DL : la forme Mésoamérique.

E. Coli : *Escherichia coli*.

g : Gramme.

h : Heure.

HgCl₂ : Solution de Chlorure de Mercure.

HLK : Hafiane Laid Khenchela.

H₂S : Hydrogène de Sulfure.

H⁺ : Hydron⁺.

ISP9 : International *Streptomyces* Project 9.

LL : la forme Isométrique.

MA : Mycélium Aérien.

MS : Mycélium du substrat.

m : Mètre.

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

MSK : Sebkha El-Mahmal Khenchela.

MRSA : Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus*.

NC : Nombre de colonie.

NHP: N-(2-hydroxyphenyl)-2-phenazinamine.

PI : Phospholipides numéros 1.

PV : Phospholipides numéros 5.

PH : Potentiel Hydrogène.

PDA : Potato Dextrose Agar.

S : Sous unité.

SHK : Sol Hammam Salhine Khenchela.

SM : Solution mère.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

TSI : Triple Sugar Iron.

YMEA : *Yeast Malt Extract Agar*.

µg/l : Microgramme/litre.

µl : Microlitre.

nm : Nanomètre.

Liste des figures

Figure N° 01: Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles monosporulés.....	08
Figure N° 02: Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles dotées d'oligospores.	08
Figure N° 03: Classification du genre <i>Streptomyces</i> selon Bergy' Manual of Systematic Bacteriology 2006.	12
Figure N° 04 : Importantes enzymes industrielles produites par <i>actinobactéria</i>	17
Figures N° 05 : Site de prélèvement l'échantillon du sol forestier la région de Hammam Salhine de la wilaya de Khenchela (photo prise Le : 12/04/2021).....	23
Figures N° 06 : Site de prélèvement de l'eau du Sebkha (El Mahmal) de la wilaya de Khenchela (photo prise le : 17/04/2021).	24
Figure N° 07: Site de prélèvement l'échantillon du sol rhizosphérique la région de Hafiane Laid de la wilaya de Khenchela (photo prise Le : 19/04/2021).	24
Figures N° 08 : Méthode de prélèvement de l'échantillon du sol. (a) : prélèvement du sol rhizosphérique, (b) : prélèvement du sol forestier, (c) : tamiser du sol, (d) : séchage du sol. .	25
Figure N° 09: Photo des échantillons du sol forestiers et rhizosphériques. (a) : les échantillons du sol après le prélèvement, (b) : les échantillons du sol après le tamisage, séchage et refroidissement (l'échantillon du zone 1 c'est le sol du Hammam Salhine, l'échantillon du zone 2 c'est le sol du Hafiane Laid).	26
Figure N° 10 : Prélèvement de l'eau de Sebkha dans la région d'El Mahmal La wilaya de Khenchela.....	26
Figure N° 11: Colonies d'actinobactéries sur milieu Olson (Sol rhizosphérique).....	30
Figure N° 12 : Aspect sur milieu solide YMEA des isolats purs d'actinobactéries.....	30
Figure N° 13: Activité antibactérienne sur milieu Muller Hinton des isolats purs d'actinobactéries du sol forestier, évaluée par la technique des cylindres d'agar. (a) : <i>Staphylococcus aureus</i> , (b) : <i>MRSA</i> , (c) : <i>Bacillus subtilis</i> , (d) : <i>Escherichia coli</i>	33
Figure N° 14 : Activité antibactérienne sur milieu Muller Hinton des isolats purs d' <i>actinobactérie</i> du sol rhizosphérique, évaluée par la technique des cylindres d'agar. (a) : <i>Staphylococcus aureus</i> , (b) : <i>MRSA</i> , (c) : <i>Bacillus subtilis</i> , (d) : <i>Escherichia coli</i>	34
Figure N° 15 : Activité antifongique sur milieu PDA (<i>Potato Dextrose Agar</i>) des isolats pure d'actinobactéries du sol forestier par la technique de cylindre d'agar. (a), (b):résultat de la technique des cylindres sur <i>Rhodotorula</i> , (c) : contaminant fongique n°1 (Témoin), (d) et (e) : résultat de la technique des cylindres sur le contaminant fongique n° 1.....	37
Figure N° 16 : Activité antifongique sur milieu PDA (<i>Potato Dextrose Agar</i>) des isolats pure d'actinobactéries par la technique de cylindre d'agar. (a): résultat de la technique sur la levure <i>Rhodotorula</i> , (b) contaminat fongique n° 2 (Témoin), (c) : résultat sur le contaminant fongique n°2.	38
Figure N° 17 : Production d'H ₂ S dans milieu TSI. (a) : Production d'H ₂ S du sol forestier,	

(b) : production d'H ₂ S du sol rhizosphérique.....	40
Figure N° 18: Photographies des activités de dégradation du sol forestier (photo personnelle)	42
Figure N° 19 : Photographies des activités de dégradation du sol rhizosphérique (photo personnelle).....	43

Liste des tableaux

Tableau N° 01: Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries.....	11
Tableau N° 02 : Exemples d'agents antifongiques produits par les actinobactéries	14
Tableau N° 03 : Quelques exemples des agents antibactériens produits par l'actinobactéries.	16
Tableau N° 04 : Quelques souches d'actinobactéries productrice de Kératinase avec leur application.....	19
Tableau N° 05: Nombre d'isolat d'actinobactéries par site exploré.	29
Tableau N° 06 : Activité antibactérienne des isolats du sol forestier.	32
Tableau N° 07 : Activité antibactérienne des isolats du sol rhizosphérique.....	34
Tableau N° 08 : Activité antifongique des isolats du sol forestier.	36
Tableau N° 09 : Activité antifongique des isolats du sol rhizosphérique.	38
Tableau N° 10 : Production d'H ₂ S des isolats du sol forestier.	39
Tableau N° 11 : Production d'H ₂ S des isolats du sol rhizosphérique.....	39
Tableau N° 12 : Activité hydrolytique des isolats du sol forestier.	40
Tableau N° 13 : Activité hydrolytique des isolats du sol rhizosphérique.....	43

Résumé

Résumé

La résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses justifient l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. Notre choix s'est porté sur l'étude bibliographique et expérimentale des actinobactéries, car elles constituent une source naturelle et attractive de différentes molécules bioactives. La synthèse de ces molécules par les actinobactéries est considérée comme un moyen d'adaptation dans leurs habitats. Cette aptitude nous donne une large gamme de biomolécule : antibiotiques, antifongiques, enzymes, etc. A travers la revue bibliographique, nous avons donné une définition des actinobactéries et également mentionné les caractéristiques morphologiques, physiologiques, et chimiotaxonomiques les plus importantes qui les distinguent des autres microorganismes. On a abordé aussi leur classification, leur écologie, et leurs activités biologiques. La revue expérimentale à apporter une contribution à l'étude du pouvoir antimicrobien de certaines actinobactéries ayant la capacité à inhiber la croissance des microorganismes pathogènes. Des isolats d'actinobactéries ont été collectés à partir de 02 échantillons de sol et un échantillon d'eau, provenant de différentes régions de kenchela. L'étude de l'activité antimicrobienne de ces isolats vis-à-vis de bactéries pathogènes Gram positif et Gram négatif, levures et champignons par la technique des cylindres a permis de sélectionner des isolats ayant une activité non négligeable, par la technique d'ensemencement par touche, on a sélectionné les isolats productrices des différents enzymes et qui ont des activités hydrolytiques. En conclusion, on peut dire que les actinobactéries représentent une source prodigieuse de molécules antimicrobiennes d'une grande diversité, et la présente étude a permis de révéler le potentiel des écosystèmes semi-arides algériens comme étant des réservoirs importants de souches d'actinobactéries productrices de molécules bioactives.

Mots clés: Actinobactéries, Molécules bioactives, Activité antimicrobienne, Ecosystème semi-aride, Activité enzymatique.

Abstract

The bacterial resistance to antibiotics and the emergence of new infectious diseases justify the urgent need for new antimicrobial molecules. Our choice fell on the bibliographical and experimental study of actinobacteria, because they constitute a natural and attractive source of various bioactive molecules. The synthesis of these molecules by actinobacteria is considered a means of adaptation in their habitats. This ability gives us a wide range of biomolecules: antibiotics, antifungals, enzymes, etc. Through the bibliographical review, we have given a definition of actinobacteria and also mentioned the most important morphological, physiological, and chemotaxonomic characteristics that distinguish them from other microorganisms. We also discussed their classification, their ecology, and their biological activities. The experimental review to make a contribution to the study of the antimicrobial ability of certain actinobacteria having the capacity to inhibit the growth of pathogenic microorganisms. Actinobacteria isolates were collected from 02 soil samples and one water sample, from different regions of kenchela. The study of the antimicrobial activity of these isolates against Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria, yeasts and fungi by agar cylinders technique made it possible to select isolates with innegligible activity. By the technique of local implant, isolates producing different enzymes and have hydrolytic activities have been selected. In conclusion we can say that actinobacterias are prodigious source of antimicrobial molecules of great diversity, and the present study has revealed the potential of semi-arid Algerian ecosystems as a good source for bioactives molecules-producing actinobacteria.

Key words: Actinobacteria. Bioactive molecule. Antimicrobial activity. Semi-arid Ecosystem. Enzymatic activity.

المخلص

تبرر المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية وظهور أمراض معدية جديدة الحاجة الماسة إلى جزيئات جديدة من مضادات الميكروبات. وقع اختيارنا على الدراسة الببليوغرافية والتجريبية للبكتيريا الشعاعية، لأنها تشكل مصدرًا طبيعيًا و مهما للعديد من الجزيئات النشطة بيولوجيًا. يعتبر انتاج هذه الجزيئات بواسطة البكتيريا الشعاعية وسيلة للتكيف في بيئتها. تمنحنا هذه القدرة مجموعة واسعة من الجزيئات الحيوية: المضادات الحيوية، ومضادات الفطريات، والإنزيمات، إلخ. من خلال الدراسة الببليوغرافية، قدمنا تعريفًا للبكتيريا الشعاعية وذكرنا أيضًا أهم الخصائص المورفولوجية والفيزيولوجية والكيميائية التي تميزها عن الكائنات الحية الدقيقة الأخرى. ناقشنا أيضًا تصنيفها وبيئتها وأنشطتها البيولوجية. اما الدراسة التجريبية فهي للمساهمة في دراسة القوة المضادة للميكروبات لبعض البكتيريا الشعاعية التي لديها القدرة على تثبيط نمو الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض. جمعت عزلات البكتيريا الشعاعية من عينتين من التربة وعينة ماء واحدة من مناطق مختلفة من خنشلة . و قد جعلت دراسة النشاط المضاد للميكروبات لهذه العزلات ضد البكتيريا سالبة الجرام وموجبة الجرام والخمائر و الفطريات بواسطة تقنية اسطوانة الأجار، اختيار العزلات التي لها نشاط لا يستهان به ممكنًا. و باستخدام تقنية الزرع الموضعي ، تم اختيار العزلات المنتجة لإنزيمات مختلفة والتي لها أنشطة تحلل مائي. في الختام يمكننا القول أن البكتيريا الشعاعية هي مصدر مدهل للجزيئات المضادة للميكروبات ذات التنوع الكبير ، وقد كشفت الدراسة الحالية عن إمكانات النظم البيئية الجزائرية شبه القاحلة كونها مصدر مهم لسلاسل البكتيريا الشعاعية المنتجة للجزيئات النشطة بيولوجيًا.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الشعاعية ، الجزيئات النشطة بيولوجيًا ، النشاط المضاد للميكروبات ، النظام البيئي شبه القاحل

النشاط الأنزيمي.

Introduction

générale

Le sol est un produit écologique largement exploré comme niche pour les microorganismes qui produisent des composés naturels biologiquement actifs (**Ganesh Kumar et al, 2010**).

Il présente une grande diversité en terme de composition chimique mais également biologique, il renferme des communautés de microorganismes très diversifiées et très abondantes. Quelques grammes de sols peuvent contenir des milliers voire des centaines de milliers d'espèces microbiennes (**Hartmann, 2018**) qui sont présentés par des champignons, des algues, des virus et majoritairement des bactéries dont les actinobactéries.

Les actinobactéries sont les procaryotes les plus économiques et les plus utilisés en biotechnologie grâce à leurs métabolites secondaires ; très importantes sur le plan thérapeutique et commercial (**Masand et Menghani, 2015**). Elles constituent une composante importante de la population microbienne dans la plupart des sols.

En Algérie, les sols semi-arides se sont révélés très diversifiés en actinobactéries, qui sont des bactéries aérobies à Gram positif (**Messaoudi et al, 2020**). L'apparence microscopique de ce groupe de bactéries peut aller de formes coccoïdes à un mince mycélium filamenteux ramifié avec un diamètre de 1 à 2 μm (**Qin et al, 2016**).

Ces bactéries se trouvent principalement dans le sol, l'eau douce et l'environnement marin (**Barka et al, 2015**). Quelque espèces sont des opportunistes humains pathogènes, et peuvent provoquer des maladies infectieuses (**Valour et al, 2014**). Les actinobactéries sont le groupe de micro-organismes le plus important dans le domaine de la biotechnologie, en tant que producteurs de divers métabolites secondaires utiles, tels que les antibiotiques, les antifongiques, antitumoral, immunosuppresseur, vitaminique et anti-inflammatoire (**Kumar et al, 2016 ; Saturnino et al, 2017**).

Ils sont aussi responsables de la dégradation/la décomposition de toutes sortes de substances organiques tels que la cellulose, les polysaccharides, la matière grasse et les substances protéiques, etc. Les actinobactéries sont nouvelles sources potentielles de nouveaux produits et fonctions naturels pour l'exploitation dans la médecine, l'agriculture et l'industrie (**Wen Jun et al, 2019**).

L'objectif de ce mémoire est d'isoler des souches d'actinobactéries à partir de divers environnement de l'Est d'Algérie, à savoir :

L'eau du lacs salé de Sabkha El Mahmal et la rhizosphère d'une plante située à la région de la cité de Hafiane Laid, et le sol située à la forêt de Hammam Salhine; dans le but de cribler des souches ayant un potentiel de produire des molécules bioactives et possédant des activités hydrolytiques.

Pour cela, une synthèse des principales informations relatives aux actinobactéries et leurs activités biologiques, a été effectuée (revue bibliographique).

Une deuxième partie porte une description des techniques expérimentales, qu'ont été fait au niveau de Campus des Laboratoires Pédagogiques, Université de Khenchela. Une troisième partie qui porte les différents résultats obtenue, discutés.

Revue
Bibliographique

I. Les actinobactéries

I.1 Historique

Le terme actinomycète a été historiquement introduit pour définir des bactéries filamenteuses et ramifiées (**Holt et al, 1994**), qui dans la classification actuelle des *actinobacteria* appartiennent à l'ordre des actinomycétales. Les actinobactéries forment des colonies circulaires constituées d'hyphes, c'est-à-dire de filaments qui irradient par croissance centrifuge, tout autour du germe qui leur a donné naissance (**Eunice et Prosser, 1983**).

Cela explique leur dénomination qui provient de deux substantifs grecs «aktino» et «mycetes» et signifie « champignons à rayons» ou « champignons rayonnant».

L'histoire des actinobactéries 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 (**Baldacci, 1962**).

La seconde période (1890-1938) (**Mariat et Sebald, 1990**) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de Rossi-Doria (1890-91), Gasparini (1891-94), Krainsky (1914), Waksman (1919), Lieske (1921), Orskov (1925), Jensen (1931-33) et Krassinikov (1938). Elle couvre la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des actinomycètes et les premières tentatives pour distinguer deux groupes : les pathogènes et les saprophytes.

L'époque suivante est celle de la découverte des antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle commence en 1940 et le nom de Waksman lui est indiscutablement lié avec la découverte, en 1944, de la streptomycine produite par *Streptomyces griseus* (**Le minor, 1989 ; Sanglier et Trujillo, 1997**). Cette période a résulté en un accroissement brusque du nombre d'espèces décrites (**Baldacci, 1962**).

Ainsi, la période suivante (1940-1970) peut être définie comme une période de développement de critères morphologiques et biochimiques pour la classification des actinobactéries, en parallèle avec la meilleure compréhension de la physiologie de ces bactéries de leur intérêt pour la production de métabolites secondaires et leur potentialité de biodégradation de composés organiques. Enfin, depuis les années 1960, l'essor des méthodes de génétique, initiées par Hopwood (**Hopwood, 1973 ; Chater, 1999**) puis de génomique

(Hopwood, 2003) a révolutionné la classification des espèces (Ventura, 2007) puis les méthodes de découverte de métabolites secondaires (Donadio, 2002) et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes.

I.2 Définition et Caractéristiques générales des actinobactéries

Les actinobactéries, également connus sous le nom d'actinomycètes, sont des bactéries filamenteuses ayant un coefficient de Chargaff compris généralement entre 60 et 70%, à coloration de Gram positive. Ils ont un type de croissance mycélien (les cellules produisent des filaments et des ramifications) (Ahmad et al, 2017).

Ces bactéries sont généralement terrestres ou aquatiques (Kamjam et al, 2017). Ils incluent des espèces formant des bacilles isolés comme le cas du genre *Mycobacterium*, d'autres formant un mycélium très fragmenté à maturité, comme le genre *Nocardia*, alors que certains d'autres formant un mycélium stable et ramifié, comme dans le cas du genre *Streptomyces* (Hoza et al, 2016). Ils sont caractérisés par une croissance lente, allant de quelques jours à quelques semaines, Le temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures (Saurav et Kannabiran, 2010).

La plupart des actinobactéries sont immobiles. En réponse à des conditions défavorables, (tel qu'un déficit en nutriments et en eau), certains types produisent des spores flagellées, permettant leur dispersion dans les habitats aquatiques. Ce n'est que lorsque les conditions redeviennent favorables que les spores peuvent germer et former de nouveau le mycélium végétatif. Cette propriété joue un rôle important dans leur large distribution par le vent.

Ces bactéries ont une valeur biotechnologique importante du fait que presque 10,000 molécules bioactives ont été obtenues à partir des actinobactéries, ce qui représente 45 % du total des métabolites secondaires obtenus à partir de toutes les bactéries (Ranjani et al, 2016). Ils sont capables de métaboliser plusieurs et différents composés y compris les sucres (Polysaccharides), les alcools, les acides aminés et les composés aromatiques par production d'enzymes extracellulaires. Cette diversité métabolique est due à leur génome extrêmement large qui a une centaine de facteurs de transcription qui contrôlent l'expression des gènes qui leurs permettent de répondre leurs besoins.

Si la plupart des actinobactéries sont hétérotrophes, mésophiles, neutrophiles, non

halophiles, cependant, il existe une diversité physiologique importante au sein de cette communauté microbienne puisque l'on retrouve également des thermophiles, des psychrophiles, des alcalophiles, des acidophiles, des halophiles et des fixateurs d'azote (**Goodfellow et al, 2012**). Cette grande diversité fait que les actinobactéries soient retrouvées dans divers environnement y compris les plus extrême (**Bouaziz, 2018 ; Harir, 2018**).

I.3 Taxonomies et critères d'identification

La taxonomie des actinobactéries est récemment fonder sur les critères morphologiques, chimiques, physiologiques et génétiques. Certains genres sont simplement identifiables par leur micromorphologie particulière, comme les *Micromonospora*, *Actinoplanes*, *Dactylosporangium*, *Streptosporangium*, *Planomonospora*, *Planobispora* etc. Par contre dans la plupart des autres cas. La détermination des chimiotypes est indispensable.

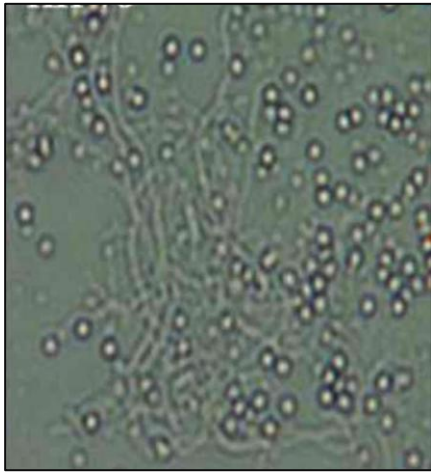
Tel est le cas pour les genres *Nocardiopsis*, *Saccharothrix*, *Actinomadura*, *Nonomuraeae*, *Saccharopolyspora*, *Nocardioides*, *Streptomyces* etc. Les caractéristiques physiologiques et génétiques sont importantes pour l'identification des espèces et sous-espèces (**Abbes et al, 2017**).

I.3.1 Taxonomies phénotypique

➤ Critères morphologique

La morphologie macroscopique et les caractéristiques culturelles des actinobactéries sont déterminées sur différents milieux, qui contribuent à la différenciation du genre Actinomycètes. C'est un problème d'observer à l'œil nu si du mycélium aérien est produit (MA) et si le mycélium du substrat (MS) est présent et s'il est la production des pigments mélanine.

La détermination des caractères micromorphologiques se fait par l'observation directe au microscope optique ou électronique des cultures poussant sur des milieux gélosés. Les observations portent sur les mycéliums aériens et du substrat. Il s'agit d'observer la présence ou non de sporophores sur le mycélium, la présence ou non de sporanges, de sclérotés ou de synnemata tel qu'Actinosynnema, la présence de spores mobiles telles que *Planomonospora*, *Actinoplanes*, ou non mobiles tel que *Streptomyces*, *Streptosporangium*, leur forme, leur disposition sur les hyphes et leurs nombres (Figure N°1 et 2) (**Bouaziz, 2018**).

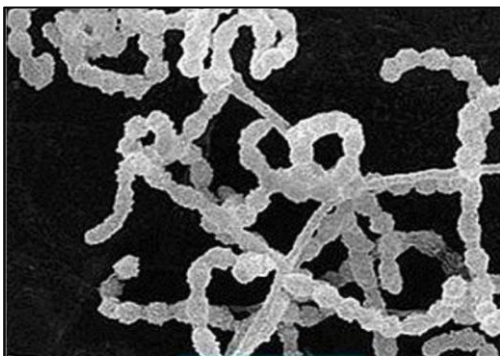


Micromonospora sp



Streptomyces violaceusniger

Figure N° 01: Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles monosporulés (Dyah noor et al, 2013) (Yufeng et al, 2017).



Actinomadura.spp



Nonomuraea sp

Figure N° 02: Photographies au microscope électronique d'isolats d'actinobactéries non mobiles dotées d'oligospores (Hayrettin et al, 2020).

➤ Critères chimiques

Ce critère consiste à étudier la composition cellulaire en acides aminés, en glucides cellulaires, en phospholipides membranaires, de la ménadione, des acides gras membranaires (Bouaziz, 2018).

- **Acides aminés pariétaux**

L'une des propriétés importantes dans la taxonomie des actinobactéries est la présence de deux acides aminés dans la paroi cellulaire, il s'agit de l'acide diaminopimélique (DAP), qui peut être sous formes isomériques LL ou DL (méso) et la glycine qui est variablement

présente. Chez quelques actinobactéries, le DAP peut être remplacé par la lysine, l'ornithine ou l'acide diaminobutyrique (Becker et al, 1965).

- **Sucres cellulaires**

Les sucres caractéristiques sont principalement les couples arabinose-galactose, arabinose-xylose, rhamnose-galactose, ainsi que le madurose ou 3-O méthyl galactose (Lechevalier et al, 1970). Sur la base de la composition des cellules en acides aminés et en sucres, plusieurs chimiotypes ont été définies.

- **Lipides**

L'analyse des parties cellulaires et des lipides membranaires est un outil important pour la classification des actinobactéries, y compris les phospholipides, la ménadione, les acides gras et l'acide mycolique. Ces derniers sont des lipides complexes insaturés.

- **Critères physiologiques**

Les critères physiologiques sont très importants pour l'identification des espèces. Ils consistent en des tests de dégradation de plusieurs substances, des glucides, des lipides, des protéines. Un des caractères essentiels pour la différenciation des espèces des *streptomyces* est la production de pigments mélanoides.

La croissance des actinobactéries est influencée par nombreuses paramètres physiologiques utilisés en taxonomie des actinobactéries sont :

- les optima du PH et de la température et l'oxygène...etc.
- La sensibilité au chlorure de sodium et aux antibiotiques ainsi qu'à certain agents chimiques.
- l'utilisation de sources carbonées et azotées ainsi que la dégradation de certain polymères tels que l'amidon, la caséine, la gélatine.
- la production de mélanine (Shirling et Gottlieb, 1966).

I.4 Classification (systématique)

En se basant sur le système de classification de Murray (Bergey's Manual of

Systematic of Bacteriology, Murray et al, 1989), les actinobactéries ont été classés dans le règne des procaryotes, division des bactéries Gram positives, classe des *Thallobacteria* (bactérie Gram positives ramifiées), dans laquelle on trouve l'ordre des actinomycétales (**Ouhdouch., 2003**) le (Tableau N° 1) montre la classification de la classe *Actinobacteria*, *Acidimicrobiia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria* et *Thermophilia* (**Garrity et al, 2004**).

Tableau N° 01: Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries (Goodfellow et al, 2012).

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

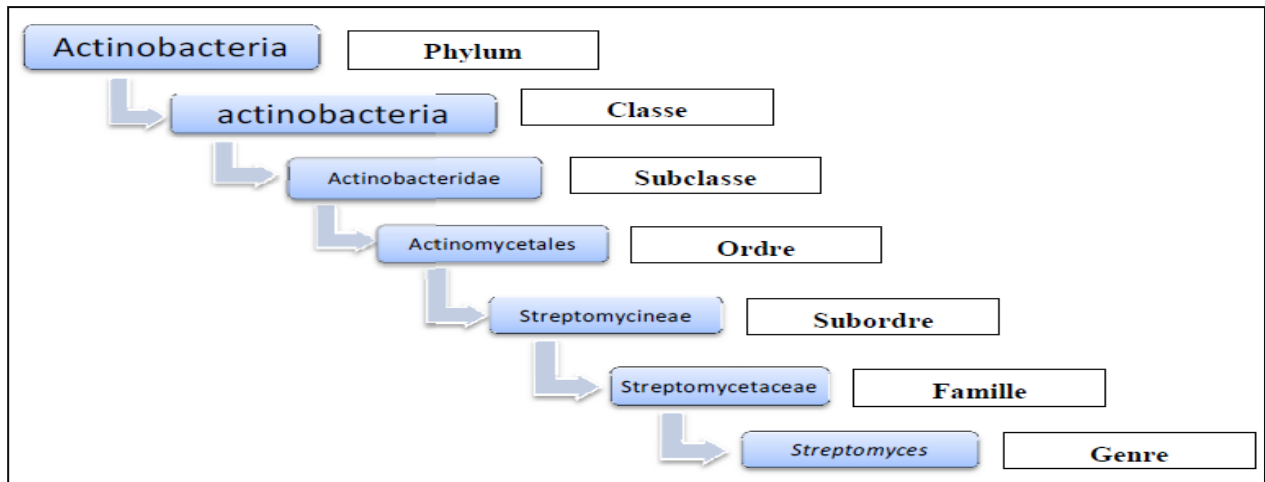


Figure N° 03: Classification du genre *Streptomyces* selon Bergy' Manual of Systematic Bacteriology 2006 (Murray et al, 1989).

I.5 Habitat des actinobactéries

I.5.1 Environnement terrestre

Les actinobactéries sont des microorganismes ubiquitaires que l'on rencontre sur tous les substrats naturels courants, et en particulier le sol (Waksman, 1959 ; Porter, 1971 ; Lacey, 1973 ; Williams et al, 1984).

Dans le sol, de nombreuses actinobactéries sont saprophytes et participent à la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus, tout comme les champignons. Les actinobactéries du sol sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol (rhizosphère) jusqu'au 2 m de profondeur (Cundell et Piechoski, 2016).

Le sol reste l'habitat le plus important pour les actinobactéries avec des streptomycètes existant comme une composante majeure de sa population. Selon de nombreux rapports, *Streptomyces* a été rencontré être le genre le plus abondant isolé dans chacune des études. Les actinobactéries terrestres représentent une source importante de molécule bioactives (Oskay et al, 2005).

I.5.2 Environnement aquatique

Les actinobactéries sont bien représentés dans ces milieux d'eau l'on peut facilement isoler des souches de *Microspora*, d'*Actinoplanes* et de *Streptosporangium*.

C'est essentiellement dans les sédiments des fonds fluviaux ou lacustres que ceux-ci sont

présents où ils jouent un rôle important dans la décomposition des débris végétaux. Ils sont absents dans les eaux minières très acides ($\text{pH}<1$) et des sources thermales très chaudes d'origine volcanique (**Xu et al, 1996**).

II. Les activités biologiques des actinobactéries

II.1 L'activité antifongique

Les Actinobactéries sont connus par leur production de substances biologiquement actives telles que les antibiotiques, les vitamines, les enzymes et les pigments. Certaines espèces sont impliquées dans la production des composés antifongiques (**Gebreselema, 2013**).

La production des métabolites antifongiques est importante pour la lutte contre les microorganismes phytopathogènes (**El-Tarabilya et Sivasithamparam, 2006**). Le mot « antifongique » (ou antifungiques) tirent leur nom du latin *fungus* qui signifie champignons, réfère à un composé capable de tuer ou d'inhiber la croissance d'un champignon. De nombreux antifongiques sont utilisés en médecine. La nystatine produite par *Streptomyces noursei* est par exemple utilisée pour le traitement de différentes infections par des levures, notamment des *Candida* (**Fjaervik et Zotchev, 2005**).

Les antifongiques interfèrent avec le fonctionnement des cellules fongiques, organismes unicellulaires (levures) ou coenocytiques (filaments). En fonction de leur cible cellulaire, ils seront : fongicides ou fongistatiques, selon qu'ils provoquent la lyse cellulaire ou inhibent la prolifération cellulaire. Ils causent :

- Une altération de la membrane plasmique / la paroi fongique (action fongicide)
- Une altération du cycle cellulaire (action fongistatique) (Tableau N° 2).

Tableau N° 02 : Exemples d'agents antifongiques produits par les actinobactéries

L'antifongique	L'espèce productrice	L'effet de l'antifongique	Références
Nystatin	<i>Streptomyces noursei</i>	Il se fixe au stérolène de la membrane cellulaire des champignons, ce qui modifie la perméabilité membranaire et permet la fuite de matériel intracellulaire.	(Bakdi et Lounis, 2016) (Sharma et al, 2018).
Candicidin	<i>Streptomyces griseus</i>	Il montre une toxicité sélective et altère la membrane fongique.	(Sharma et al, 2018).
Amphotericin B	<i>Streptomyces nodosus</i>	Il se fixe sur la membrane cellulaire de champignons- et surtout les levures, la rendant perméable et provoquant sa lyse membranaire.	(Sharma et al, 2018).
Concanamycin A	<i>Streptomyces neyagawaensis</i>	Est un inhibiteur spécifique de l'activité vacuolaire de type H ⁺ -ATPase (V-ATPase) et est capable d'induire l'apoptose.	(Sharma et al, 2018).
Staurosporine	<i>Streptomyces sp.</i>	l'inhibition des protéines kinases par la prévention de la liaison de l'ATP à la kinase	(Marija et al, 2020).
Antimycin A	<i>Streptomyces sp</i>	Est un inhibiteur de la respiration cellulaire, en particulier de la phosphorylation oxydative.	(Sharma et Thakur, 2020).
Chloramphenicol e	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Il limite la synthèse des protéines en inhibant l'activité peptidyltransférase du ribosome fongique.	(Ait Barka et al, 2016).
Fredericamycin	<i>Streptomyces griseus</i>	Fredericamycin a bloqué le clivage de l'ADN stimulé par l'étoposide par la topoisomérase II, et ses cytotoxines inhibent l'ADN polymérase	(Sharma et Thakur, 2020).
Kanchanamycin	<i>Streptomyces sp</i>	e lie à la sous-unité 30S du ribosome bactérien. Cela entraîne un alignement incorrect avec l'ARNm et conduit finalement à une mauvaise lecture.	(Zhang et al, 2019).
Daryamides	<i>Streptomyces sp</i>	/	(Anandan, 2016).
N-(2-hydroxyphenyl)-2-phenazinamine(NHP)	<i>Nocardia dassonvillei</i>	/	(Baskaran, 2017).
Chandrananimycine	<i>Actinomadura_sp</i>	/	(Ait Barka et al, 2016).
Transvalencine	<i>Nocardia transvalensis</i>	/	(Ait Barka et al, 2016).

II.2 L'activité antibactérienne

Les produits naturels jouent un rôle prédominant dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques (Newman et Cragg, 2016).

Les métabolites secondaire produits par les actinobactéries présentent un grand nombre d'effets biologiques diverses. Les actinobactéries représentent le groupe le plus important de microorganismes, qui produisent des composés bioactifs. Ils synthétisent environ les deux tiers de tous les antibiotiques d'origine naturelle actuellement utilisés en médecine, en pratique vétérinaire et en agriculture. La majorité de ces molécules proviennent de genre de *Streptomyces* (Barka et al, 2016 ; Chater, 2016).

Les antibactériens sont des molécules issues du métabolisme secondaire qui ont été particulièrement étudiées du fait de leur importance en thérapie humaine et vétérinaire (Merizig, 2015). Le terme « antibactérien » désigne toute substance naturelle ou synthétique qui tue et détruisent (bactéricide) ou ralentissent et bloquent (bactéristatique) la croissance des bactéries (Veysiére, 2019). Afin que l'antibactérien soit actif, il doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (Merniez, 2018).

Il a été signalé que plus de 70% des antibiotiques d'origine naturelle ont été isolés de différents genres d'actinobactéries. Ainsi, il a été suggéré qu'un grand nombre d'actinobactéries pourraient être encore inconnues et produire des antibiotiques (Pandey, 2018) (Tableau N° 03).

Tableau N° 03 : Quelque exemple des agents antibactériens produits par l'actinobactéries.

Actinobactéries	Les agents antibactériens	Références
Producteurs		
<i>Streptomyces sp.</i> Actif450	production des composés bioactive.	(Mabrouka et al, 2020).
<i>Streptomyces ansochromogenes</i>	inhibiteur de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	(Erika et al, 2020).
<i>Streptomyces roseoflavus</i> INA-Ac-5812	5813-A/C : antibiotique peptidique avec une activité contre les bactéries a gram positif.	(Alexey S et al, 2020).
<i>Streptomyces sp.</i> CJ13	inhibe les agents pathogènes et les levures multirésistants dans les plantes alcalines de la médecine traditionnelle irlandaise.	(Gerry A et al, 2020).
<i>Streptomyces sp</i> DSD011	Antibiotique Angucycline.	(Edna M et al, 2020).

II.3 L'activité d'hydrolytiques

Les actinobactéries jouent un rôle important dans la production d'enzymes hydrolytiques extracellulaires d'importance industrielle. Ce groupe de bactéries est reconnu comme les réservoirs de nombreuses enzymes industrielles précieuses telles que les amylases, protéases, cellulases, estérases, lipases, xylanases, chitinases, ligninases, collagénases, etc. Il existe différentes applications industrielles dans les domaines de la biomédecine et biotechnologie **(Prakash et al, 2013)** (Figure N° 04).

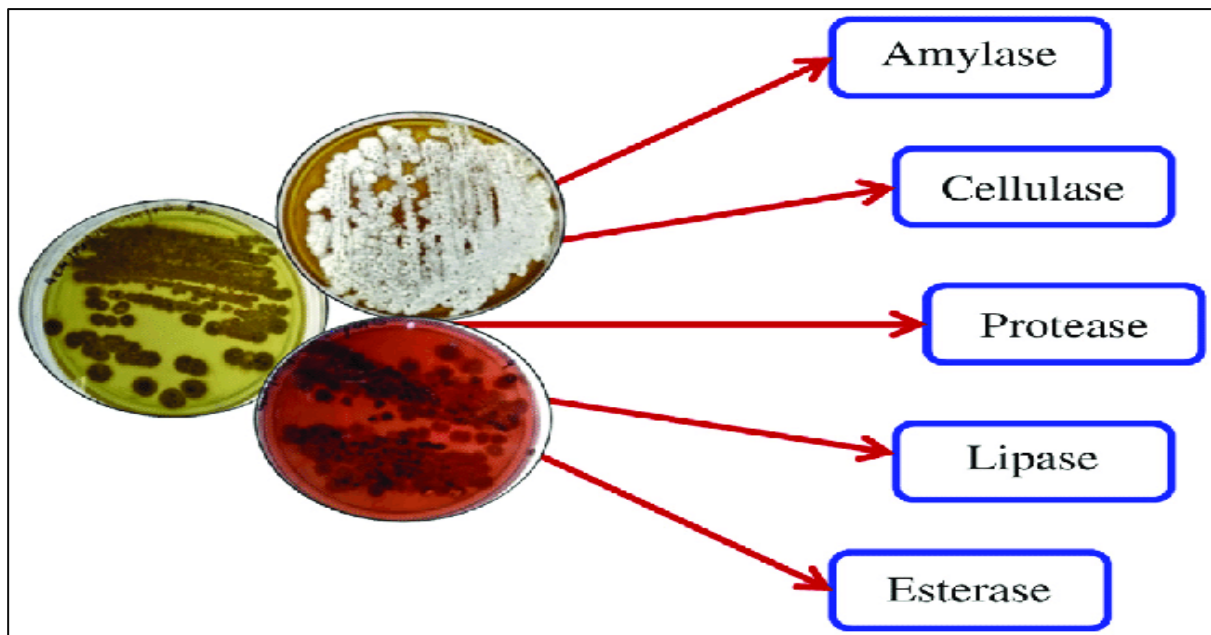


Figure N° 04 : Importantes enzymes industrielles produites par *actinobactéria* (Sharma, Dutta et Thakur, 2018)

Le séquençage du génome entier des actinobactéries a fourni des informations à grande échelle sur ses enzymes et protéines d'intérêt industriel. Ce groupe de bactéries a été constamment exploité pour la production d'amylases, protéases, cellulases, chitinases, xylanases, etc. La diversité écologique, l'hétérogénéité biochimique et la capacité des actinobactéries à produire des métabolites secondaires en ont fait la meilleure source pour la production d'enzymes (Minotto et al, 2014).

II.3.1 Amylase

Les amylases sont considérées comme un groupe important d'enzymes qui hydrolysent l'amidon en sirops à haut teneur en fructose, glucose et maltose et peuvent être classées en endoamylases et exoamylases. Souche d'actinobactéries, *Streptomyces erumpis* et *Thermobifida fusca* ont la capacité de sécréter des amylases à l'extérieur de la cellule pour effectuer une digestion extracellulaire (Kar et Ray, 2008 ; Janaki, 2017). Il existe diverse type d'amylases, on distingue les alpha-amylases produit par les *Nocardiopsis sp* (William et al, 2012).

Les bêta-amylases sécréter par les *Streptomyces sp* (Christoph Wittmann et al, 2017), les pullulanases et les amyloglucosidases. Ces enzymes amylolytiques sont capables d'hydrolysées l'amidon (amylose et amylopectine) et ses produits de dégradation sont

dextrine, oligosaccharides.

Ces enzymes thermostables peuvent être utilisées dans la boulangerie, l'industrie pharmaceutique, du papier et de la pâte. Les amylases de certaines souches *alcaliphiles*, *actinobactéries* peuvent être utilisées dans les détergentes formulations pour améliorer la détergence des composés amylases de *Streptomyces spp* qui jouent un rôle important dans les applications biotechnologiques dans différentes industries et ayant environ 25% de la demande sur le marché mondial des enzymes.

Les amylases peuvent provenir de plantes, d'animaux et de microbes. Les enzymes d'origine microbienne répondent généralement à une forte demande dans les industries (Janaki, 2017).

II.3.2 Protéase (caséinase et gélatinase)

Les enzymes protéolytiques ou protéases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des protéines. Ce groupe d'enzymes favorise l'hydrolyse des liaisons peptidiques entre deux acides aminés. Les protéases dépolymérisent les peptides et les protéines en libérant des acides aminés de plus petits peptides (Navarre, 2010 ; Jean-Claude et al, 2014). Plusieurs études ont rapporté la production de protéases à partir d'*Actinobactérie* comme des membres des genres *Streptomyces*, *Nocardia* et *Nocardiopsis*.

La plupart des protéases montrent une tolérance à divers stress abiotiques comme un pH, une température et une salinité élevés. Protéases de *Streptomyces spp* peut être utilisé dans le traitement de différents déchets agro-industriels comme les plumes, les ongles, les cheveux et les déchets végétaux.

Les protéases produites par *Nocardiopsis spp* sont connues comme des enzymes industrielles importantes et ont le potentiel d'être largement utilisés dans l'industrie du cuir, de la boulangerie, du textile, des détergents, de la brasserie, du fromage et de l'épilation (Boulahrouf, 2017).

Plus de 48 souches d'*Actinobactérie* du sol ont été rapportées pour la production de protéases avec leurs effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses.

II.3.3 Kératinase

Les kératinases sont des enzymes importantes du point de vue industriel produites par un certain nombre de souches d'actinobactéries telles que *Streptomyces spp* et *Actinomadura* (Habbeche et al, 2014). Ces enzymes sont principalement utilisées pour l'hydrolyse de la kératine.

Il existe une forte demande pour le développement d'alternatives biotechnologiques pour le recyclage des déchets kératiques, la conversion des plumes de poulet, des poils, des ongles et de la laine inutilisés en produits utiles à l'aide d'actinomycètes kératinises (Dastager et al, 2008) (Tableau N° 04).

Tableau N° 04 : Quelques souches d'actinobactéries productrices de kératinase avec leur application.

Souche d'actinobactérie	L'application	Référence
<i>Streptomyces sp</i>	Utiliser dans l'épilation enzymatique du cuir, industrie des détergents et le développement de films biodégradable.	(Williams et al, 1990 ; Cai et al, 2008).
<i>Micobacterium sp</i> kr10	Production de l'hydrolysats d'aliments, production d'engrais azotés	(Brandelli et al, 2010).
<i>Streptomyces sp</i> S7	Hydrolyse du prion, amélioration de l'administration des médicaments, traitement dermatologiques, produits de beauté	(Brandelli et al, 2010).

II.3.4 Xylanases

Les xylanases sont des glycosidases qui catalysent les liaisons 1,4-D-xylosidiques dans les régions non substituées des chaînes de xylanes pour aboutir à la xylose (**Gerois, 2008**).

Les membres du genre *Streptomyces* sont les principaux producteurs de xylanases parmi les Actinobactéries. Le xylane est le composant le plus dominant des hémicelluloses et il est généralement utilisé dans l'amélioration de l'industrie de la pâte à papier et du bioblanchiment (**Priya et al, 2012**).

Les xylanases sans cellulases et thermostables sont produites par les genres *Actinobacterial*, *Actinomadura* et *Thermoactinomyces* (**Taibi et al, 2011**), avec une température optimale de 70°C (**Brzezinski et al, 1999**).

Certaines espèces de *Streptomyces* sont capables d'hydrolyser divers résidus agricoles comme les déchets de paille et les tourteaux, ce qui a entraîné une augmentation de la production de biogaz (**Chakraborty et al, 2012**).

Il existe de nombreux domaines dans lesquelles est utilisée la xylanases, tel la gestion des déchets, l'industrie des pâtes et papier les textiles, la production de biocarburants et produits chimiques (**Dickers-Ouellet, 2018**).

II.3.5 Cellulases

La cellulase est un complexe enzymatique qui décompose la cellulose en B-glucose. Elle est largement répandue dans les biosphères notamment chez les organismes fongiques et microbiennes (**Ghribi, 2019**).

Les enzymes dégradant la cellulose sont excrétées par les micro-organismes dans Le système cellulolytique se compose de trois composants principaux: la 1,4- β glucane glucanohydrolase agissant comme endoglucanase, la 1,4- β -D-glucane cellobiohydrolase affichant une activité exoglucanase et la β -glucosidase, qui divise le cellobiose (**Tanveer et al, 2014 ; Rajeeva et SoniTiwari, 2015 ; Hitesh et al, 2016**).

Le système enzymatique de cellulases fonctionne en synergie, c'est-à-dire que les endoglucanase effectuent des scissions aléatoires de la chaîne cellulosique donnant du glucose et des oligosaccharides, les exoglucanase attaquent l'extrémité non réductrice de la cellulose

formant la cellobiose, et enfin les cellobiose hydrolysent le cellobiose en glucose.

Les membres de plusieurs *Actinobactérie* mésophiles et thermophiles ont été étudiés pour leur capacité à dégrader la cellulose (**Saci, 2012**).

Les actinobactéries mésophiles connues pour produire des complexes cellulolytique comprennent *Streptomyces antibioticus*, *S. flavogriseus* et *S. viridosporus*. Les streptomycètes mésophiles produisent également des cellulases complexes à un pH compris entre 5 et 7, ils montrent leur activité la plus élevée à 40°C - 55°C.

Lors des processus industriels difficiles, les bactéries thermophiles constituent une bonne source de cellulase industrielle. C'est la cas par exemple de désencrage du papier, le ramollissement de tissu, de la pâte et de papier, le biopollissage des tissus, du jus et des aliments pour animaux, etc (**Sahoo et al, 2019**).

II.3.6 Lipases

Les lipases font partie des familles d'estérase, elle sont des hydrolases d'esters carboxylique (**Fickers et al, 2008**). Chez les *actinobactéries*, les lipases endo et exocellulaire sont isolées à partir de l'espèce *Thermoactinomyces vulgaris*. Des phospholipases sont également isolées avec un taux élevé à partir des espèces du genre *Streptoverticillium* et de l'espèce *Micromonospora chalcea* (**Saci, 2011**).

En industrie agro-alimentaire, les lipases interviennent dans la maturation des fromages et de certaines charcuteries, dans la biorémédiation. L'addition de lipase dans les effluents des industries agroalimentaires souvent riche en lipides, ou même la culture dans ces effluent de microorganisme, les produisant, permet de a chréduire large lipidique (**Fickers et al, 2008**).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

L'objectif de ce travail est l'isolement des actinobactéries possédant un potentiel de production des molécules bioactives et doté des activités hydrolytiques, à partir du sol de Hammam Salhine, du sol rhizosphérique la région de Hafiane Laid de la wilaya de Khenchela et l'eau de Sebkha (El-Mahmal) de la wilaya de Khenchela.



Figures N° 05 : Site de prélèvement l'échantillon du sol forestier la région de Hammam Salhine de la wilaya de Khenchela (photo prise Le : 12/04/2021).



Figures N° 06 : Site de prélèvement de l'eau du Sebkh (El-Mehmal) de la wilaya de Khenchela (photo prise le : 17/04/2021).



Figure N° 07: Site de prélèvement l'échantillon du sol rhizosphérique la région de Hafiane Laid de la wilaya de Khenchela (photo prise Le : 19/04/2021).

I. Echantillonnage

1.1 Le sol

À l'aide d'une grande spatule stérile, les dix (10) première centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés. Les échantillons du sol ont été collectés avec une petite spatule stérile plongée dans la couche sous-jacente entre (5 et 20 cm de profondeur) (Figure N° 08),



Figures N° 08 : Méthode de prélèvement de l'échantillon du sol. (a) : prélèvement de sol rhizosphérique, (b) : prélèvement du sol forestier, (c) : tamiser du sol, (d) : séchage du sol.

Les échantillons triés sont placés dans des flacons stériles et transportés au laboratoire. Ces échantillons ont été séchés à l'air libre et broyés dans un mortier pour éliminer les grumeaux de terre et faciliter l'isolement des souches d'actinobactéries.



Figure N° 09: Photo des échantillons du sol forestiers et rhizosphérique. (a) : les échantillons du sol après le prélèvement, (b) : les échantillons du sol après le tamisage, séchage et refroidissement (l'échantillon du zone 1 c'est le sol du Hammam Salhine, l'échantillon du zone 2 c'est le sol du Hafiane Laid).

1.2 L'eau

Les échantillons d'eaux, ont été prélevés au niveau des sources de Sebkhya située à El Mahmal de la wilaya de Khenchela. L'eau recueillie est introduite dans des flacons stérile et transportée dans une glacière au laboratoire, puis les analyses sont effectuées au plus tard dans les 24 heures qui suivent les prélèvements.



Figure N° 10 : Prélèvement de l'eau de Sebkhya dans la région d'El Mahmal La wilaya de Khenchela.

II. Isolements et purification des actinobactéries

Des suspensions mères ont été préparées après avoir introduit 10g de chaque échantillon dans des flacons contenant 100ml d'eau physiologique stérile. L'isolement des actinobactéries a été réalisé sur milieu gélosé Olson (Annexe 01) additionné d'un antifongique, la nystatine (50µg/l). Pour chaque échantillon, des dilutions décimales de 10^{-1} jusqu'à 10^{-6} sont préparées à partir des solutions mères.

Par la suite, 0,1 ml de chaque dilution est étalé sur le milieu Olson précédemment stérilisé et coulé dans des boîtes de Pétri stériles. Ces dernières sont, alors incubées à 30°C et observées après deux, trois et quatre semaines d'incubation.

À l'aide d'un microscope optique, les colonies d'actinobactéries sont repérées d'après leur aspect macroscopique caractéristique. Les colonies possédant un aspect typique aux actinobactéries sont purifiées sur milieu *Yeast Malt Extract Agar (YMEA) + CaCO₃* (Annexe 01) (Boudemagh, 2007 ; kitouni, 2007 ; Arasu et al, 2009).

III Activité antimicrobienne des isolats d'actinobactéries

III.1. Activité antibactérienne

a) Les bactéries-tests

L'activité antibactérienne des isolats purs d'actinobactéries a été recherchée contre les bactéries-tests obtenues auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC). Les bactéries à coloration de Gram positive sont : *Staphylococcus aureus* ATCC 2592 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Les bactéries à coloration de Gram négative sont : *Escherichia coli* ATCC 25922.

L'activité antibactérienne a été testée également contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (*MRSA : Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) ATCC 43300. À partir d'une culture de 24h sur gélose nutritive, une suspension de chaque bactérie test est préparée. La densité cellulaire de chaque suspension est ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre afin d'avoir d'une absorbance qui ne dépasse pas 0.05 à $\lambda = 625 \text{ nm}$

b) Technique des cylindres d'agar

Les isolats purs d'actinobactéries sont ensemencés sur milieu solide *YMEA* en stries très

serrées, puis incubés pendant 7 jours à 30°C. Par la suite, des cylindres de 6 mm de diamètres, de culture d'actinobactéries bien sporulées à raison de 108 spores/ml sont découpés stérilement, déposés à la surface du milieu Mueller Hinton (Annexe 01) 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.

III.2. Activité antifongique

La capacité des isolats d'actinobactéries à inhiber le développement des champignons (deux contaminants fongiques) et de levure (*Rhodotorula*) a été testée en utilisant la technique de cylindre d'agar. Un disque de 06 mm de diamètre issu d'une culture pure de la moisissure testée est déposé au centre de la boîte. Ensuite, des disques de l'actinobactéries 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**).

Pour l'activité contre *Rhodotorula*, des cylindres de 06 mm des actinobactéries pures ont été déposés sur des boîtes de pétri préalablement ensemencé par des stries très serrées de la souche de la levure (*Rhodotorula*).

IV. Etude des caractères biochimiques

IV.1 Production de sulfure d'hydrogène (H₂S)

Des tubes contenant du milieu TSI (Triple Sugar Iron) ont été ensemencés puis incubés pendant 14 jours à 28°C. La production de l'H₂S est appréciée par l'apparition d'une coloration noire dans le milieu (**Guiraud et al, 1998**).

IV.2 L'activité d'hydrolyse

L'hydrolyse de la gélatine (0,4%), la caséine (1%), l'amidon (1%) a été déterminé sur le milieu de base de ISP9 (Annexe 1). Les activités de dégradation sont notées après 14 jours d'incubation. Pour la caséine, l'activité a été détectée par l'apparition, autour des colonies, de zones claires. Cependant, le résultat pour la gélatine, l'amidon est notée après inondation des cultures respectivement avec la solution de chlorure mercure (HgCl₂), de lugol, et laisser à température ambiante pendant quelque minute (**Hankin et al, 1971 ; William et al, 1983 ; Nicemol, 2006**).

Résultats et discussion

I. L'isolement et purification des actinobactéries

Les colonies d'actinobactéries apparaissent après 02 à 04 semaines d'incubation, elles sont souvent compactes et bien incrustées dans la gélose (Figure N° 11).

Après observation microscopique, les colonies d'actinobactéries ont été purifiées par repiquage dans le milieu *YMEA* incubées à 30°C pendant 07 jours. Ainsi, l'isolat d'actinobactéries ont été obtenus et se répartissent comme suit : plus de 100 isolats du sol rhizosphérique de Hafiane Laid Khenchela, 18 isolats du sol forestier (Foret de Hammam Salhine Khenchela) et 05 isolats du sol environnant de la Sebkha (Sebkha El Mahmal Khenchela) (Tableau N° 05).

La figure (12) montre l'aspect de quelques isolats d'actinobactéries après l'étape de purification.

Tableau N° 05: Nombre d'isolat d'actinobactéries par site exploré.

	Echantillons	Site de prélèvement	Nombre d'isolats
01	Sol forestier SHK	Foret de Hammam Salhine Khenchela.	18
02	Eau de Sebkha MSK	Sebkha El Mahmal Khenchela.	05
03	Sol rhizosphérique HLK	Hafiane Laid Khenchela.	Plus de 100 isolats

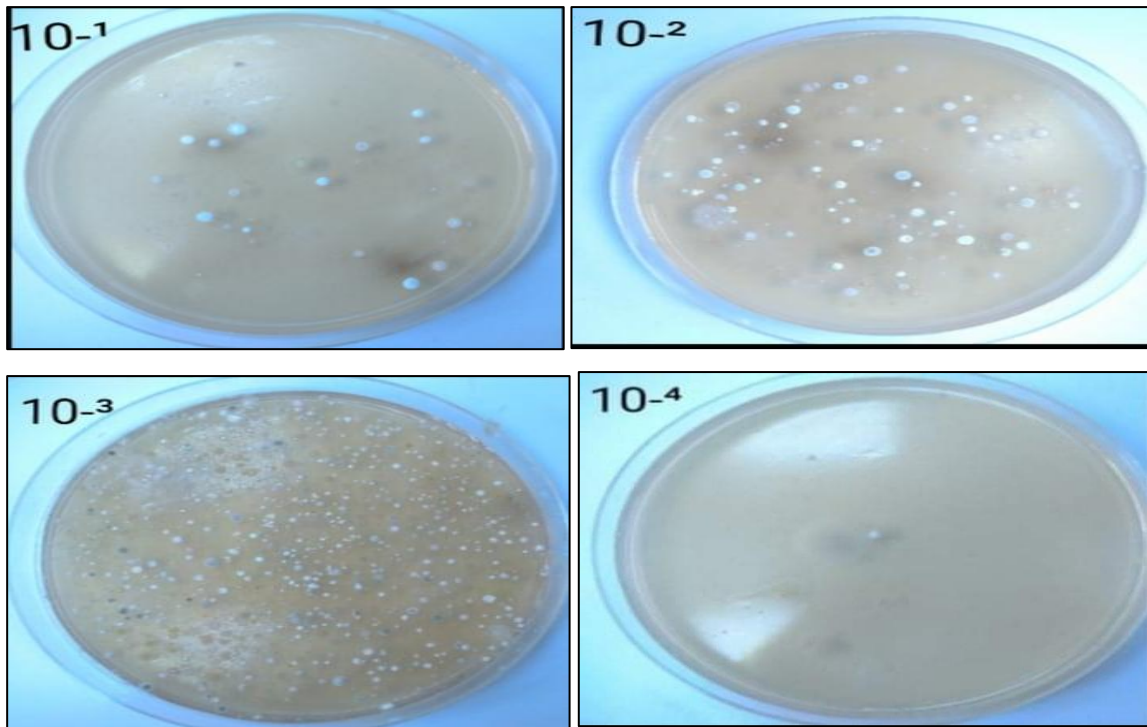


Figure N° 11 : Colonies d'actinobactéries sur milieu Olson (sol rhizosphérique).

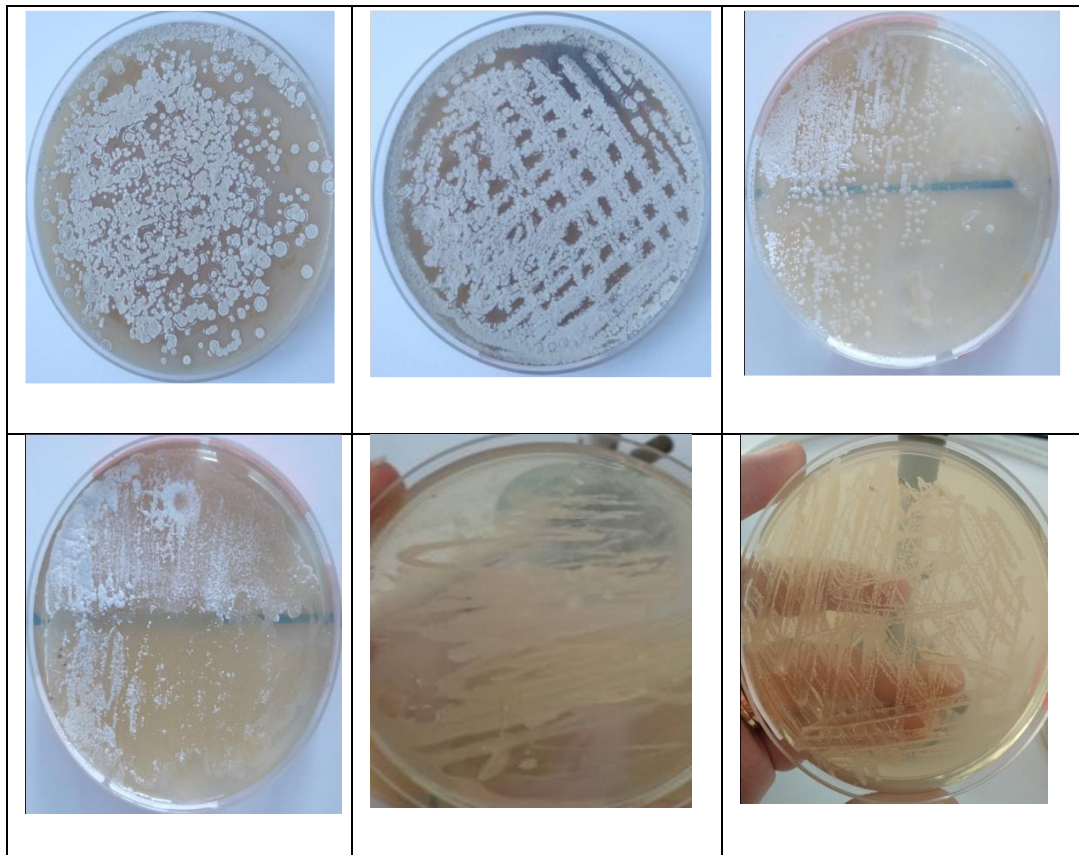


Figure N° 12 : Aspect sur milieu solide YMEA des isolats purs d'actinobactéries.

Les actinobactéries sont des microorganismes capables de coloniser différents écosystèmes grâce à leur caractéristique compétitive.

Dans ce travail, l'isolement des actinobactéries a été réalisé à partir d'un sol rhizosphérique et d'un sol forestier provenant de la région de Khenchela et de l'eau de Sebkha (Khenchela).

D'après les résultats obtenus, il est très clair que le nombre des actinobactéries est très différent d'un site à un autre. Cette différence peut être expliquée par la disponibilité de la matière organique essentielle pour la croissance des actinobactéries.

La variation des sites de prélèvement a pour but d'augmenter nos chances d'isolement d'actinobactéries possédant un potentiel élevé de production de molécules bioactives.

Le milieu Olson, employé s'est avéré efficace pour l'isolement de ce groupe de bactéries. En effet, ce milieu contient de caséine de sodium et asparagine qui favorisent la croissance des actinobactéries **Hilalli et al (2002)**.

L'addition au milieu d'isolement des substances inhibitrices comme la nystatine pour stopper la croissance des germes envahisseurs et diminuer le nombre des bactéries non mycéliennes **Williams et Davies (1965)**.

Le nombre d'isolats obtenu à partir du sol forestier est proche avec celui obtenu par **Amara et Boukhorsa (2019)** qui ont pu récupérer 15 isolats à partir d'un échantillon de sol forestier (site Abdelmalek Ramdane, Ouillis de la wilaya de Mostaganem).

Un nombre très faible d'isolat a été obtenu à partir de Sebkha en comparaison avec les résultats obtenus par **Messoudi (2013)** qui ont pu récupérer 18 isolats à partir de Sebkha (site Kenadsa, le sud-ouest de la wilaya de Béchar).

Le nombre d'isolat obtenu dans notre étude à partir d'un échantillon du sol rhizosphérique est supérieur à celui obtenue par **Leulmi (2019)** (65 isolat à partir du sol rhizosphérique, El Hamma, Khenchela).

II. L'activité antibactérienne des actinobactéries

II.1 Des isolats d'actinobactéries du sol forestier

Les isolats qui ont une activité antibactérienne sont présentés dans le (Tableau N° 06). Parmi les 18 isolats d'actinobactéries provenant du sol forestier, on a 05 isolats qui ont présenté une activité antibactérienne vis-à-vis au moins de l'une des souches cibles.

Les isolats SHK1 et SHK8 ont présenté une activité contre l'*E. Coli* et *S. aureus* successivement. L'isolat SHK3 a une activité contre *S. aureus*, *MRSA*, *E. Coli* avec une zone d'inhibition presque proche l'une de l'autre (Figure N° 13).

Les résultats de l'activité antibactérienne de tous les isolats indiquent que la plupart sont plus actifs sur les bactéries à Gram positif (*S. aureus*, *B. subtilis*) que sur les bactéries à Gram négatif (*E. coli*). En effet plusieurs chercheurs ont observé la résistance remarquable des bactéries à Gram négatif par rapport à leurs homologues bactéries Gram positif **Ullah et al (2012)**.

Nos résultats sont faibles, par rapport, à ceux de **Leulmi (2019)** qui ont pu isoler 11 actinobactéries à partir d'échantillon de sol forestier de Djbel Chélia, Khenchela dont 11 sont dotés d'une activité antibactérienne (avec une zone d'inhibition de 19 à 40 mm). Les travaux de **Bouaziz (2018)** ont montré également lors d'un criblage initial de 19 souches d'actinobactéries isolées du sol, 16 souches seulement ont présenté une activité antibactérienne contre les germes cibles.

Tableau N° 06 : Activité antibactérienne des isolats du sol forestier.

Isolats, SHK	Présence/absence d'inhibition			
	<i>S. aureus</i>	<i>MRSA</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>
1	-	-	-	+
3	+	+	-	+
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-
8	+	-	-	-

(-) : absence d'inhibition (+) : Présence d'inhibition

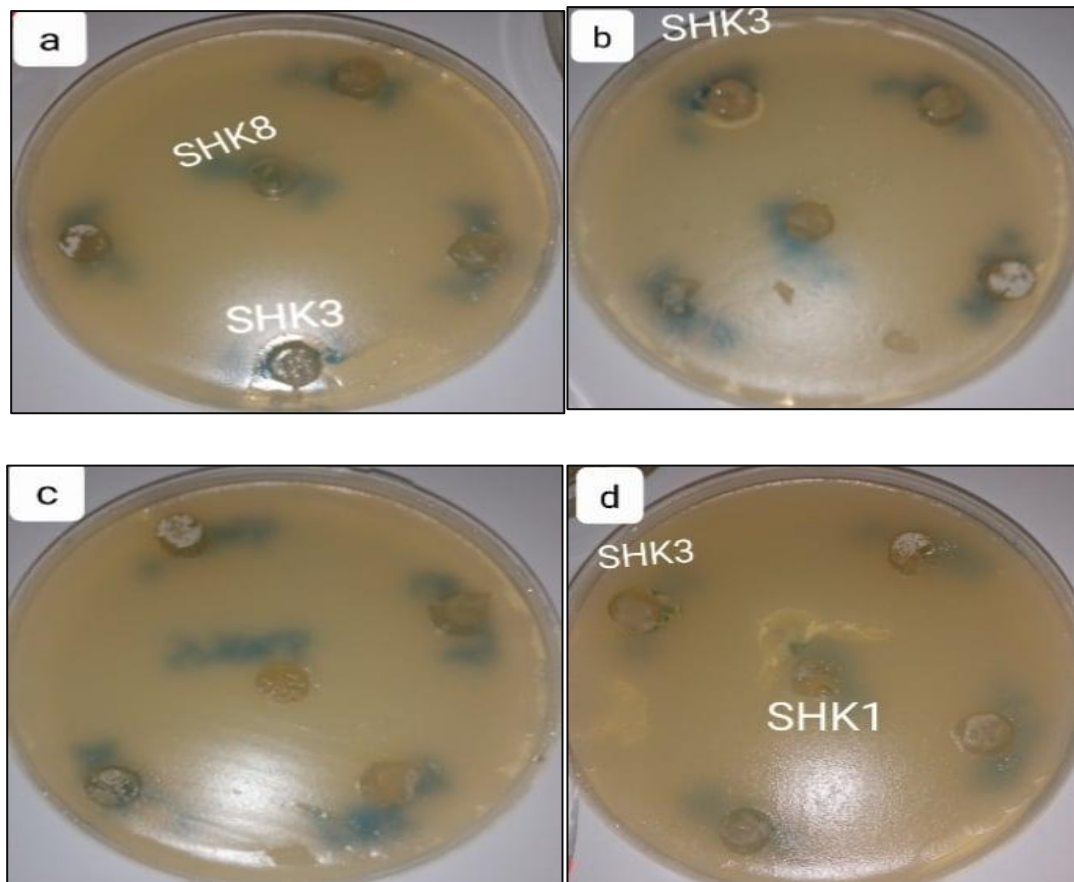


Figure N° 13: Activité antibactérienne sur milieu Muller Hinton des isolats purs d'actinobactéries du sol forestier, évaluée par la technique des cylindres d'agar. (a) : *Staphylococcus aureus*, (b) : *MRSA*, (c) : *Bacillus subtilis*, (d) : *Escherichia coli*.

II.2 Des isolats d'actinobactéries du sol rhizosphérique

Les isolats provenant du sol rhizosphérique ont montré des activités antibactériennes notamment pour HLK1 et HLK2 (Tableau N° 07). HLK1 à une activité contre les bactéries suivant : *MRSA*, *B. subtilis*, *E. coli*. HLK2 présente une activité contre les deux bactéries *MRSA* et *E. coli*.

HLK2 présente une activité contre les deux bactéries *MRSA* et *E. coli*. L'isolat HLK3 inhibe seulement la croissance de la bactérie *E. coli*. Pour l'isolat HLK4, aucune activité n'a présenté (Figure N° 14).

L'activité des isolats du sol rhizosphérique est très faible avec une zone d'inhibition de 1 mm par rapport aux résultats de **Leulmi (2019)** qui ont montré que plus de 30 souches sont actives contre les bactéries à Gram positif à l'origine de 62 souches testées avec une zone d'inhibition de (10 à 40mm). Nos résultats sont d'autant plus singuliers en comparaison avec

ceux de **Habibeche (2013)** qui a isolé des actinobactéries à partir de sol de la région de Mniaa (El Golea) dans la wilaya de Ghardaia où tous les isolats présentent un pouvoir antibactérien remarquable contrairement aux notre.

Tableau N° 07 : Activité antibactérienne des isolats du sol rhizosphérique.

Isolats, HLK	Présence/absence d'inhibition			
	<i>S. aureus</i>	<i>MRSA</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>
1	-	+	+	+
2	-	+	-	+
3	-	-	-	+
4	-	-	-	-

(-) : absence d'inhibition (+) : Présence d'inhibition

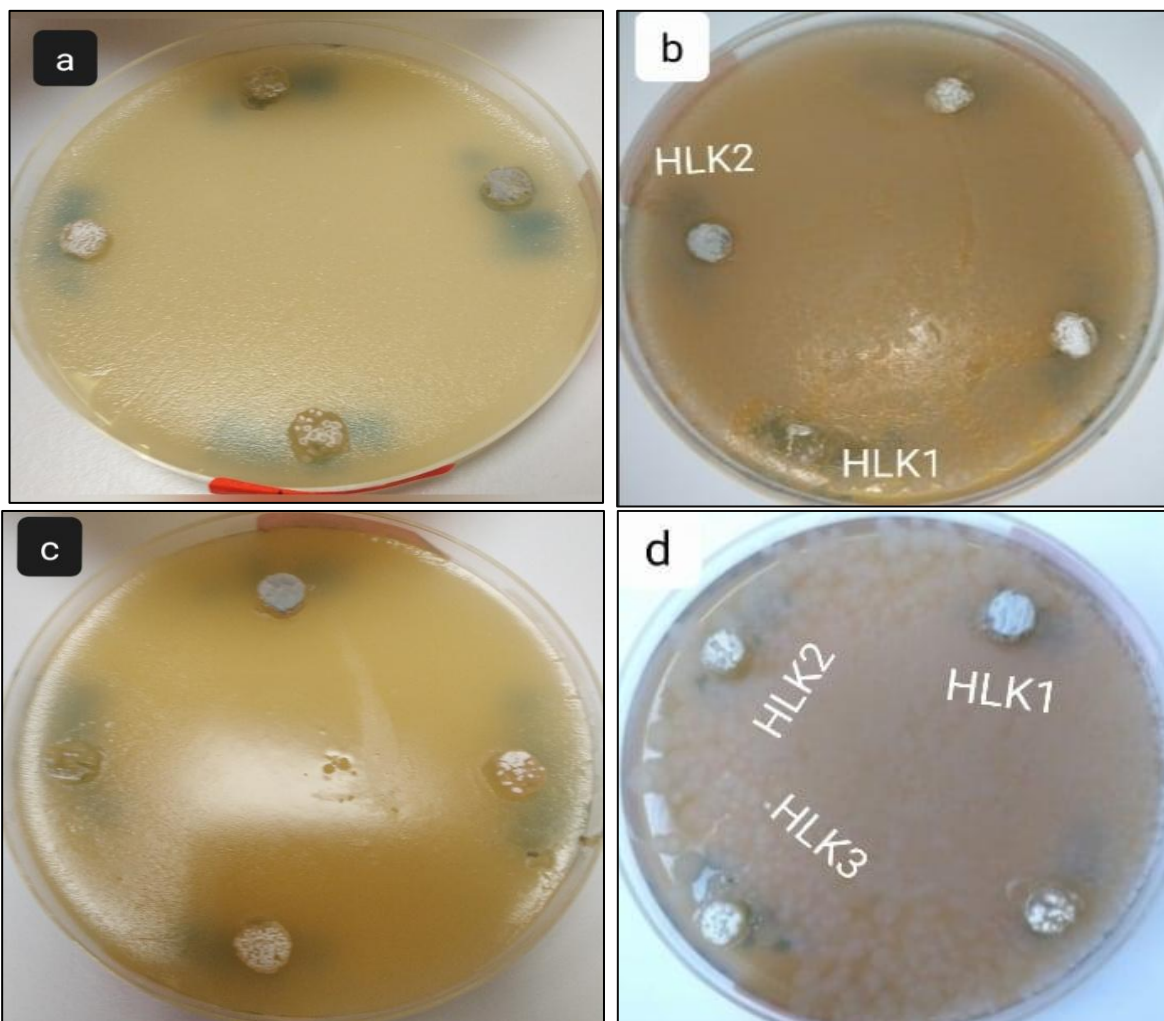


Figure N° 14 : Activité antibactérienne sur milieu Muller Hinton des isolats purs d'actinobactéries du sol rhizosphérique, évaluée par la technique des cylindres d'agar. (a) : *Staphylococcus aureus*, (b) : *MRSA*, (c) : *Bacillus subtilis*, (d) : *Escherichia coli*.

L'activité antibactérienne des isolats purs a été mise en évidence par la technique des cylindres d'agar. Cette étude a démontré la capacité des isolats d'actinobactéries à produire des substances antibactériennes notamment ceux provenant du sol rhizosphérique et du sol forestiers.

Les isolats les plus actifs sont les isolats du sol rhizosphérique. Ceci pourrait être expliqué par la relation symbiotique existant entre les actinobactéries colonisent les racines des plantes, particulièrement avec leurs racines. Les actinobactéries colonisent les racines des plantes, en influençant positivement via la synthèse de molécules bioactive (antibiotique) qui vont protéger la plante d'agent phytopathogènes.

Les résultats de l'activité antibactérienne de tous les isolats indiquent que la plupart sont plus actifs contre *E. coli* que les bactéries à Gram positif (*S. aureus*, *B. subtilis*).

III L'activité antifongique des actinobactéries

III.1 Des isolats d'actinobactéries du sol forestier

- **Levure " *Rhodotorula* "**

Rhodotorula est une levure unicellulaire genre de champignons imparfaits de la famille Cryptococcées, caractérisée par un taux de croissance fort. Il a une couleur rose à rouge et largement répandue dans l'air, les produits laitiers, le sol et l'eau. Ils sont parfois été identifiés comme une cause d'infection opportuniste chez des hôtes compromis. Sont des agents responsables de mycoses (Soliman et al, 2018).

Les isolats montrant une activité contre la levure *Rhodotorula* sont présentés dans le (Tableau N° 08). Parmi les 18 souches d'actinobactéries provenant du sol forestier, 02 isolats (SHK3 et SHK4) d'entre elles ont présenté une activité vis-à-vis la levure testée.

Nos résultats sont similaires, par rapport, à ceux d'Elhitti (2015) qui a montré que les actinobactéries testées n'ont aucune activité inhibitrice contre *Candida albicans*, *Candida glabrata*.

- **Contaminant fongique n°1**

Les isolats SHK1, SHK2, SHK3, SHK4 et SHK9 présentent une activité antifongique

contre le contaminant fongique testé n°1 (Figure N° 15), et SHK5, SHK8 n'ont pas une activité antifongique contre le champignon testé n°1 issue d'une contamination lors de l'isolement des actinobactéries (Tableau N°08).

Tableau N° 08 : Activité antifongique des isolats du sol forestier.

Isolats, SHK	<i>Rhodotorula</i>	Contaminant fongique n°1
1	-	+
2	/	+
3	+	+
4	+	+
5	-	-
6	-	/
8	/	-
9	-	+

(-) absence d'inhibition, (+) présence d'inhibition, (/) on n'a pas effectué le test.

Pour l'échantillon provenant du sol forestier, l'activité antifongique des isolats s'est avérée faible en comparaison avec celle des isolats provenant du sol rhizosphérique. Nos résultats sont faibles en comparaison avec ceux de **Bakdi (2016)** qui a montré que 05 isolats présentent un pouvoir antifongique remarquable contre (*Aspergillus niger* et *Candida albicans*) contrairement au notre. Les travaux de **Bouaziz (2018)** a montré également lors d'une 37 souche d'actinobactéries testé, seulement 09 souches ont présenté une activité antifongique contre *Aspergillus* et *Fusarium* avec une zone d'inhibition de 8 à 30 mm respectivement.

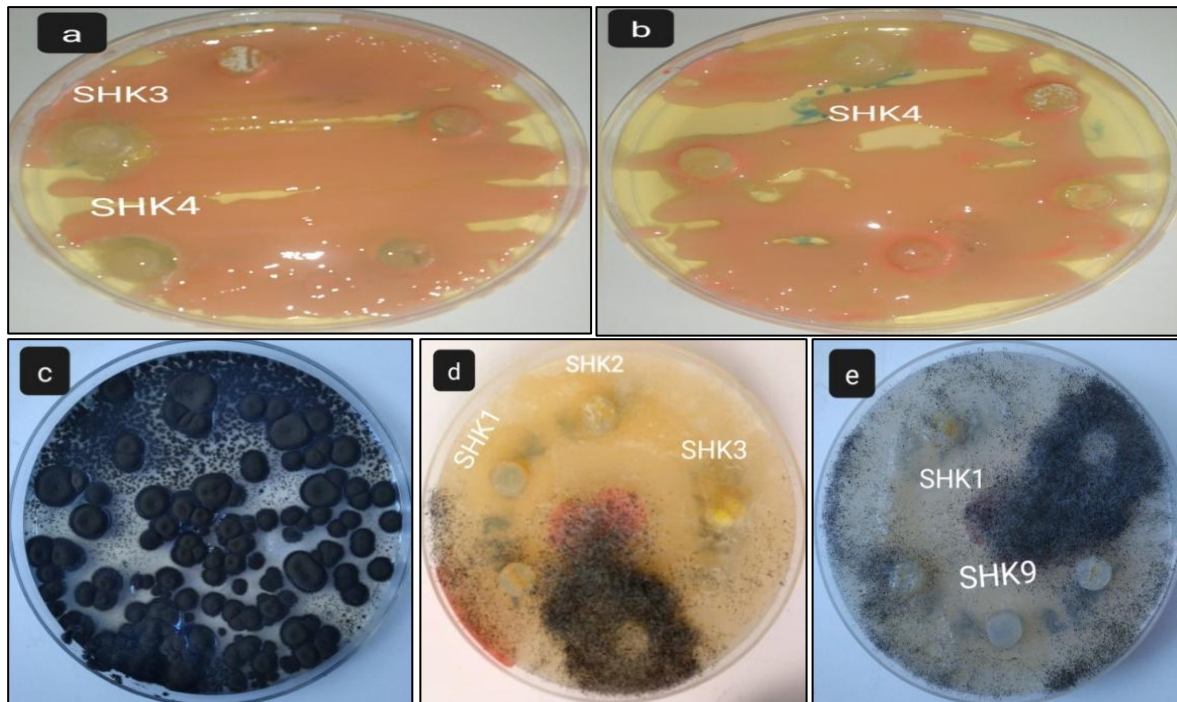


Figure N° 15 : Activité antifongique sur milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) des isolats pure d'actinobactéries du sol forestier par la technique de cylindre d'agar. (a) et (b) : résultat de la technique des cylindres sur *Rhodotorula*, (c) : contaminant fongique n°1 (Témoin), (d) et (e) : résultat de la technique des cylindres sur le contaminant fongique n°1.

III.2 Des isolats d'actinobactéries du sol rhizosphérique

- **Levure "*Rhodotorula* "**

Les isolats provenant du sol rhizosphérique, ont présentés une activité antifongique intéressante contre *Rhodotorula*. Les isolats HLK1, HLK2 et HLK3 sont avérés plus actifs pour inhiber la croissance de *Rhodotorula*. Par contre HLK4 ne possède pas une activité vis-à-vis cette levure.

Nos résultats sont intéressants, par rapport, à ceux d' **Elhitti (2015)** qui a montré que les actinobactéries testées n'ont aucune activité inhibitrice contre *Candida albicans*, *Candida glabrata* et contre des levures isolées à partir de différents rhizosphères d'oliviers.

- **Contaminant fongique n° 2**

En ce qui concerne l'inhibition de la croissance de contaminant fongique n° 2, les isolats prévenants du sol rhizosphérique, ont montré une activité antifongique moins importante (Tableau N° 09) par comparaison aux isolats du sol forestier. Les isolats HLK1 et HLK4 ont une activité positive contre le champignon testé n° 2, mais aucune activité antifongique n'a été détectée pour les autres isolats (Figures N° 16).

Tableau N° 09 : Activité antifongique des isolats du sol rhizosphérique.

Isolats, HLK	<i>Rhodotorula</i>	Contaminant fongique n° 2
1	+	+
2	+	-
3	+	-
4	-	+

(-) absence d'inhibition, (+) Présence d'inhibition

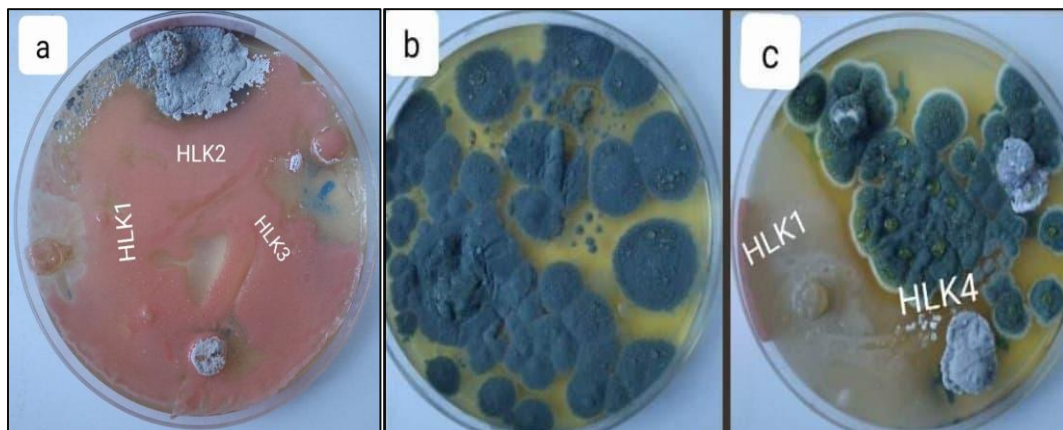


Figure N° 16 : Activité antifongique sur milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) des isolats pure d'actinobactéries par la technique de cylindre d'agar. (a): activité contre la levure *Rhodotorula*, (b) contaminant fongique n° 2 (Témoin), (c) : activité contre le contaminant fongique n°2.

Les actinobactéries sont caractérisées par un large spectre d'activité antifongique. Notre résultat est très faible par rapport à **Belyagoubi (2014)** où 43 ont fait l'objet d'un criblage de l'activité antifongique sur gélose contre les germes cibles.

Il y a aussi les études de **Dahmani et Bouzid (2017)** dont 04 souches parmi 09 souches d'actinobactéries isolés à partir d'un sol rhizosphérique ont une activité antifongique avec une zone d'inhibition entre 02 et 14 mm contre *Phytophthora infestant* et *Candida albican*. Et d'après **Abbes et Boutraa (2017)** 03 isolats d'actinobactéries du sol rhizosphérique ont été testés 02 isolats montrent une activité contre *C. albican* par un diamètre d'inhibition de 11 mm.

IV La production de sulfure d'hydrogènes

IV.1 Des isolats d'actinobactéries du sol forestiers

Les isolats appartenant du sol forestier, ont présenté une production d'H₂S intéressant. Les isolats SHK1, SHK3 et SHK8 sont avérés plus actif pour la production d'H₂S (Figure N° 17). Par contre SHK4, SHK5 et SHK9 ne possède pas une production (Tableau N° 10).

Tableau N° 10 : Production d'H₂S des isolats du sol forestier.

Isolats, SHK	Production des colonies noires
1	+
3	+
4	-
5	-
8	+
9	-

(-) absence des colonies noire, (+) présence des colonies noire

IV.2 Des isolats d'actinobactéries du sol rhizosphérique

Les souches HLK1, HLK2 et HLK3 produit de l'H₂S dans le milieu TSI (Tableau N° 11) par l'apparition des colonies noire, par contre la souche HLK4 ne présente aucune production (Figure N° 17).

Tableau N° 11 : Production d'H₂S des isolats du sol rhizosphérique.

Isolats, HLK	Production des colonies noire
1	+
2	+
3	+
4	-

(-) absence des colonies noire, (+) présence de colonies noire

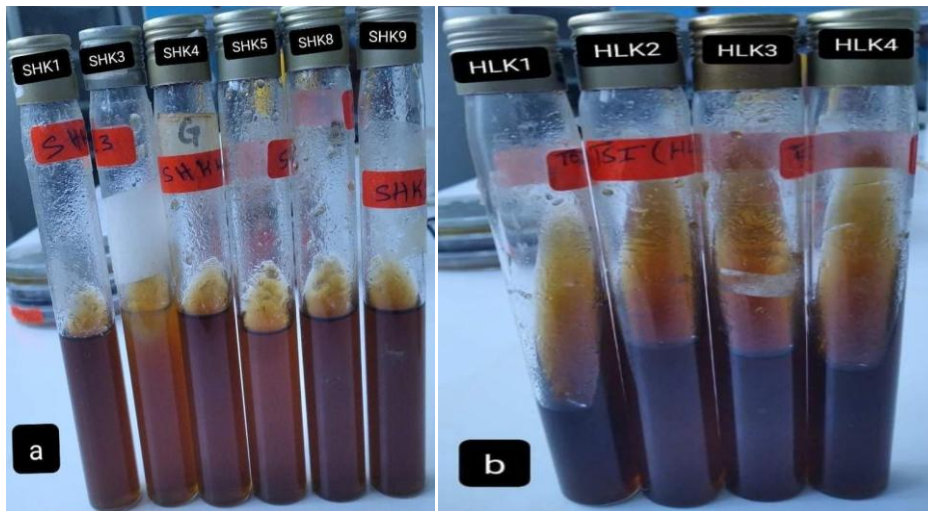


Figure N° 17 : Production d'H₂S dans milieu TSI. (a) : Production d'H₂S du sol forestier, (b) : production d'H₂S du sol rhizosphérique.

Les isolats du sol rhizosphérique sont plus actifs en production d'H₂S par rapport aux isolats du sol forestier.

Nos résultats sont intéressants comparativement avec celui obtenu par **Amara et Boukhoursa (2019)** qui ont obtenu 04 souches qui ne produisent pas d'H₂S à l'origine de 04 souches testés. D'après les recherches des littératures **Abbes et Bouteraa (2017)** ; **Leulmi (2019)**, ils ont obtenu une seule souche active (produit des colonies noires d'H₂S) à l'origine de 2 souches d'actinobactéries testés.

V Les activités d'hydrolyses

V.1 Des isolats du sol forestiers

Les résultats des activités de la dégradation figurent dans le Tableau N° 12. Ils montrent que les isolats SHK2, SHK4 et SHK5 se sont révélés positifs pour la dégradation de l'amidon (Amidon, Caséine, Gélatine). Par contre l'isolat SHK1 et SHK8 dégradent seulement la gélatine (Figure N°18).

L'isolat SHK9 dégrade l'amidon, caséine et la gélatine. Par contre l'isolat SHK3 hydrolysent l'amidon et ne dégradent pas la caséine et la gélatine (Tableau N° 12).

Tableau N° 12 : Activité hydrolytique des isolats du sol forestier.

	SHK1	SHK2	SHK3	SHK4	SHK5	SHK8	SHK9
Amidon	-	++	++	++	++	-	++
Caséine	-	+	-	+	+	-	+
Gélatine	±	+	-	±	±	++	+

(-) pas de dégradation, (±) dégradation faible, (+) dégradation modérée, (++) dégradation forte

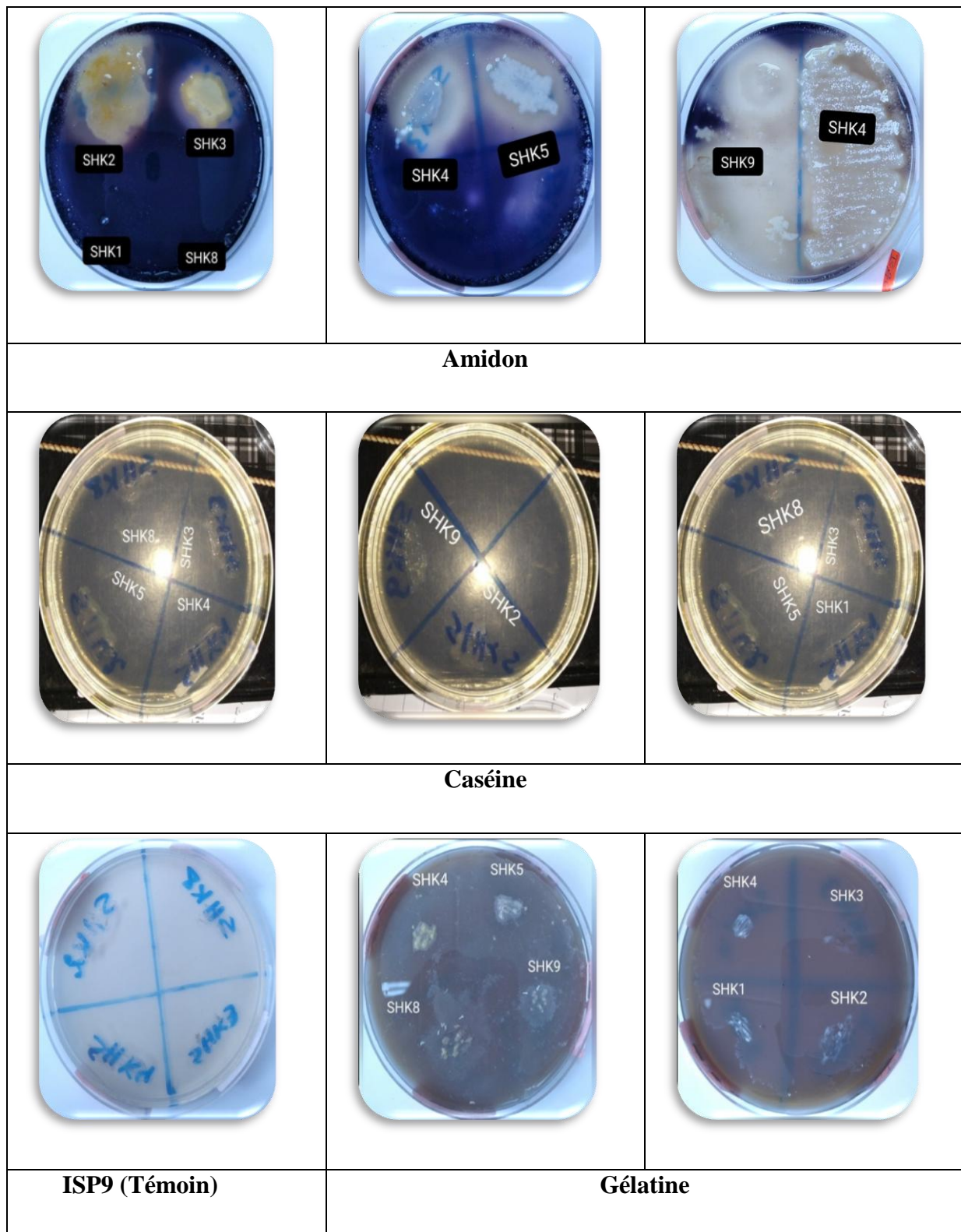


Figure N° 18: Photographies des activités de dégradation du sol forestier (photo personnelle).

V.2 Des isolats du sol rhizosphérique

L'isolat HLK1 hydrolyse la caséine et la gélatine alors que l'isolat HLK2 n'agit à aucune

de substances testée (amidon, caséine, gélatine) (Figure N° 19). L'amidon et la gélatine sont dégradés seulement par l'isolat HLK3. L'isolat HLK4 dégrade seulement la gélatine (Tableau N° 13).

Tableau N° 13: Activité hydrolytique des isolats du sol rhizosphérique.

	HLK1	HLK2	HLK3	HLK4
Amidon	-	-	±	-
Caséine	++	-	-	-
Gélatine	++	-	±	+

(-) pas de dégradation, (±) dégradation faible, (+) dégradation modérée, (++) dégradation forte.

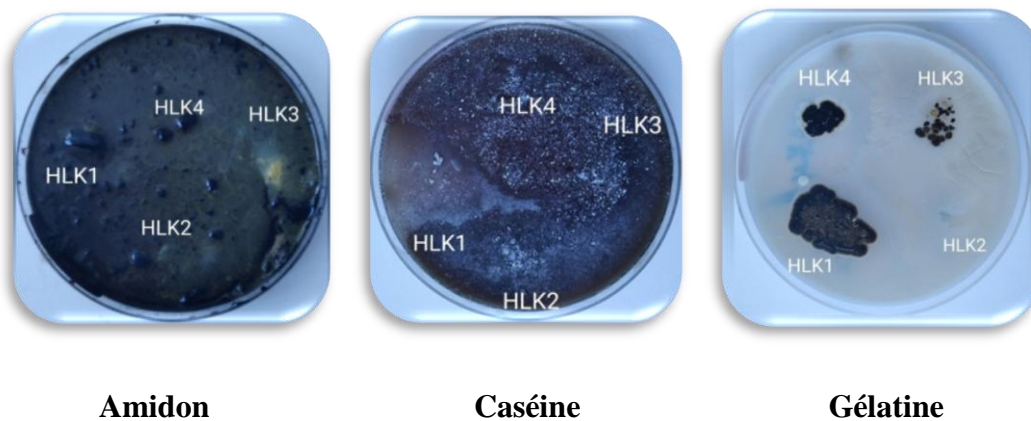


Figure N° 19 : Photographies des activités de dégradation du sol rhizosphérique (photo personnelle).

Les souches d'actinobactéries qui dégradent l'amidon sont pourvues de l'enzyme d'amylase qui résulte l'apparition d'une zone claire autour des colonies ; et cela est compatible avec Nos résultats. Cette constatation est similaire de celle rapportée par **Abbes et Bouteraa (2017)** où toutes les 03 souches testées pour l'activité hydrolytique de l'amidon montrent des résultats positifs. Les études de **Bouzigha et Bouchiba (2017)** également indiquent que 23 souches parmi 35 isolats d'actinobactéries ont une activité amylolytique qui se traduit par la présence d'un halo clair autour de la colonie après l'addition de lugol.

L'activité gélatinases se traduit par l'apparition d'un halo clair entourant la colonie. Nos résultats obtenus sont semblable à ceux obtenus par **Abbes et Bouteraa (2017)** ; **Benzekhroufa (2018)**.

La présence d'enzyme caséinase résulte de l'apparition des zones claires autour des

colonies comparant avec le témoin. Nos résultats sont semblables avec ceux obtenus par **Harir (2018)**. Les travaux de **Leulmi (2019)** montrent que les 03 souches testées ne dégradent pas la caséine à cause de l'absence de l'enzyme de caséinase chez les 03 souches.

*Conclusion
générale et
perspective*

Les actinobactéries avec leur diversité et leur arsenal métabolique occupent une place prépondérante en biotechnologie. Elles sont responsables de la production des métabolites secondaires bioactifs, tels que les antibiotiques, les agents immunosuppresseurs et les enzymes.

Dans le présent travail, nous sommes intéressés à l'investigation des sols des zones semi-arides algériennes (Wilaya de Khenchela) afin d'isoler des souches d'actinobactéries, de mettre en évidence leurs activités antimicrobiennes avec quelques activités biochimiques.

La première partie de ce travail est consacrée à l'isolement des souches d'actinobactéries productrices de substances antimicrobiennes. L'isolement a été effectué à partir de trois échantillons prélevés de trois écosystèmes différents : sol forestier de Hammam Salhine, sol rhizosphérique de Hafiane Laid et l'eau de Sebkhah (El Mahmal) de la wilaya de khenchela.

L'isolements des actinobactéries sur milieu de culture Olson, a permis d'obtenir 18 isolats de l'échantillon de Hammam Salhine et 5 isolats de Sebkhah El Mahmal, et plus de 100 isolats à partir de l'échantillon de Hafiane Laid. Ceci peut être expliqué par le fait que ce dernier est plus riche en matière organique que les autres sols.

Ce travail a porté sur le criblage des souches, d'actinobactéries productrices des molécules bioactives. Cette étude est effectuée vis-à-vis de bactéries pathogènes Gram positif et Gram négatif (*Staphylococcus aureus* 25 et *MRSA*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*), levure (*Rhodotorulla*) et deux champignon phytopathogènes par la technique des cylindres d'agar. Les résultats étaient relativement remarquables en comparaison avec ce qui a obtenu en littérature.

Les résultats des activités métaboliques ont révélé le pouvoir de biodégradation de différentes molécules par les isolats étudiés (amidon, caséine, gélatine) grâce à la production des enzymes hydrolytiques tel que : amylase, caséinase, gélatinase.

En conclusion, l'écosystème semi-aride représente un réservoir des actinobactéries dotés de la production de différentes biomolécules. Au nos jours, l'intérêt à découvrir des solutions efficaces au phénomène de multi résistance des microorganismes pathogènes pour l'homme et d'autres êtres vivants est plus urgent que contrôler la propagation de ces microorganismes multi résistants. Ce qui nécessite la découverte de nouveaux biomolécules actives. Egalement, les actinobactéries représentent une source importante des enzymes très utiles à l'échelle industrielle.

Le travail effectué ouvre des perspectives multiples qui concernent:

- L'isolement et purification des actinobactéries à partir des différentes régions de la wilaya de Khenchela en Algérie.
- L'élargissement des études des activités des actinobactéries sur d'autres microorganismes pathogènes.
- Extraction et purifications des molécules bioactives produites par ces actinobactéries.

Références
Bibliographiques

A

- **Abbes, S., Bouteraa, I. (2017)** Identification phénotypique de quelques isolats d'actinobactéries présentant une activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes pathogènes. Thèse de M'SILA.
- **Ahmad, M.S., El-Gendy, A.O., Ahmed, R.R., Hassan, H.M., ElKabbany, H.M., Merdash, A.G. (2017)** Exploring the antimicrobial and antitumor potentials of *Streptomyces sp.* AGM12-1 isolated from Egyptian soil. *Front. Microbiol.* 13: 438.
- **Ait Barka, E., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, HP., Clément, C., Ouhdouch, Y., Van Wezel, GP. (2016)** Taxonomy, Physiology, and Natural Products of *Actinobacteria*. *Microbiology and molecular biology reviews.* (80).1-43
- **Alexey, S., Vasilchenko, W.T., Julian, O.A., Lapchinskaya, G.S., Katrukha, V.S., Sadykova and Eugene, A., Rogozhin. (2020)** A Novel Peptide Antibiotic Produced by *Streptomyces roseoflavus* strain INA-Ac-5812 With Directed Activity Against Gram-Positive Bacteria, Gause Institute of New Antibiotics Moscow Russia, DOI: 10.3389/fmicb.2020.556063.
- **Amara, S., Boukhorsa, A.E.k. (2019)** Isolement et caractérisation des Actinomycètes productrices des antibiotiques et des lipides, et mise en évidence de leurs pouvoirs antibactériens vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*. Master en Science Biologique Université Abdelhamid Ibn Badis (Mostaganem).
- **Anandan, R., Dharumadurai, D., & Manogaran, G. P. (2016)** An introduction to actinobacteria. In *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. Intechopen. Antimicrobial activity from the extracts of fungal isolates of soil and dung.
- **Arasu, Valan, M., Duraipandiyar, V., Agastina, P., Ignacimuthu, S. (2009)** In vitro antimicrobial activity of *Streptomyces spp.* ERI-3, Isolated from Western Ghats rock soil (India). *Journal de Mycologie Médicale* : P 22-28.

B

- **Bakdi, K., & Lounis, A. (2016).** Evaluation de l'activité antimicrobienne et de la capacité de production enzymatique des actinomycètes (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- **Baldacci, E. (1962)** Tendances actuelles de la classification des actinomycètes. *Ann Soc Belge Méd Trop*, 4 : 633–646.
- **Barka, E.A, Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.P., Clément, C., Ouhdouch, Y., van Wezel, G.P. (2016)** Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 80:1–43.
- **Barka, E.A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J.P., Klenk, H.P., Clément, C., Ouhdouch, Y., van Wezel, G.P. (2015)** Taxonomy, Physiology, and Natural Products of *Actinobacteria*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* MMBR, 80, 1–43.
- **Baskaran, R., Subramanian, T., Zuo, W., Qian, J., Wu, G., & Kumar, A. (2017)** Major source of marine *Actinobacteria* and its biomedical application. *Microbial Applications* Vol. 2, 55-82.
- **Becker, B., Lechevalier, M.P. and Lechevalier, H.A. (1965)** Chemical Composition of Cell-Wall Preparations From Strains of Various From-Genera of Aerobic Actinomycètes. *Appl. Environ Microbiol*, 13(2) :236-243.
- **Belyagoubi, L. (2014)** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.9p.
- **Benzakhroufa, A. (2018)** Contribution à l'étude cinétique des extraits enzymatiques de quelques de *Streptomyces* isolées du sol de la région de Mostaganem.
- **Bergey Manuel, of Systematic Bacteriology. (1989)** Vol 4 Garrity, G.M. Bell, J.A., and Lilburn, T.G (Eds). Vol 5 The Actinobactéria. 2eme édition springer, New York 1750P.

- **Bouaziz, S. (2018)** Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah (Ourgla).
- **Boudemagh, A. (2007)** Isolement, À Partire Des Sols Sahariens, De Bactéries Actinomycétales Productrices De Molécules Antifongiques, Identification Moléculaire De Souches Actives, Thèse De Doctorat D'etat: P 1-132, Université Mentouri Constantine, Algerie.
- **Boudemagh, A., kitouni, M., Boughachiche, F., Hamdiken, H., Oulmi, L., Reghioua, S., Zerizer, H., Couble, A., Mouniee, D., Boulahrouf, A., Boiron, P. (2007)** Isolation and Molecular Identification of *Actinomycète microflora*, of Some Saharian Soils of South East Algeria (Biskra, El-Oud and Ourgla) Study of Antifungal Activity of Isolated Strains. Journal de Mycologie Médicale, 15 : 39-44.
- **Boulahrouf, A. (2017)** Optimization Of Alkaline Protease Production By *Streptomyces Sp.* Strain Isolated From Saltpan Environment. African Journal Of Biotechnology. Vol.15(26). Pp.1401-1412,29.
- **Bouzigha, N., Bouchiba, S. (2017)** Diversité métabolique et physiologique de quelques souches d'actinomycètes. 13-14
- **Brzezinski R, Dery CV, Beaulieu C (1999)** Thermostable Xylanase DNA, Protein And Methods In Use,” USA Patent 5871730, 1999.
- **Brandelli, A., Daniel, .J., Daroit, Alessandro, R. (2010)** Biochemical features of microbial keratinases and their production and applications. ApplMicrobiolBiotechnol. 85:1735–1750.

C

- **Cai, B., Lou, Zheng, X., Zhejiang, J. (2008)** University Science. 9,60.
- **Chakraborty, S., Raut, G., Khopade, A., Mahadik, K., Kokare, C. (2012)** Study On Calcium Ion Independent A-Amylase From Halo-Alkaliphilic Marine *Streptomyces* Strain A3. Indian J Biotechnol 11: 427-437.

- **Chater, K.F. (2016)** Recent advances in understanding *Streptomyces*. F1000Research. 5:2795.
- **Chater, K. (1999)** David Hopwood and the emergence of *Streptomyces* genetics. Int Microbiol, 2(2): 61–68.
- **Christophe Wittmann, C., Ydero Gilles, P., Van, W. (2017)** Taxonomy, Physiology, And Natural Products Of *Actinobacteria*. Journal Of Microbiology And Molecular Biology. Vol:80:1.
- **Cundell, D.R., Piechoski, M.P. (2016)** Potentially Novel *Actinobactéria* Derived Antibiotic From Unique Microenvironnements. In : Antimicrobials Synthetic And Natural Compounds. (Dhanasekaran Et Al. 210,Eds),P,83_98,CRC Press, New York.
- **Cai, B., Lou, Zheng, X., Zhejiang, J. (2008)** University Science. 9,60.

D

- **Dahmani, B., et Bouzid, W. (2017)** Activité antimicrobienne des actinobacteries isolés de la rhizosphère de *Daucus sahariensis* Murb (Doctoral dissertation, Université de m'sila).
- **Dastager, S., Dayanand, A., Li, W.J., Kim, C.J., Lee, J.C. (2008)** Proteolytic Activity From An Alkalithermo Tolerant *Streptomyces* *Gulbargensis* Sp. Nov. Curr Microbiol 57: 638-642.
- **Dickcers-Ouellet, L. (2018)** Optimisation De L'usage Des Coproduits Dans L'alimentation Des Porcs En Croissance : Impact Du Type De Fibre Et De La Xylanase Sur La Digestion Des Nutriments. Thèse De Doctorat. Université LAVAL Québec-Canada. P : 36-38.
- **Donadio, S., Sosio, M., Lancini, G. (2002)** Impact of the first *Streptomyces* genome sequence on the discovery and production of bioactive substances. Appl Microbiol Biotechnol, 60(4) : 377–80.
- **Dyah noor, H., YULIN, L., and Bambang, M. (2013)** Characterization of *Micromonospora spp* with Activity Against Beta-Lactam Antibiotic-Resistant

Escherichia coli ATCC 35218. Departement of Biology, Institut Pertanian Bogor, Darmaga Campus Bogor 16680. Indonesia. Vol 7 No 3 September 2013, P : 85-93.

E

- **Edna, M., Sabido, C. P., Tenebro, Angelica, F. L., Suarez, Sarah, D. C., Ong, D. J. V. L., Trono, D. S., Amago, J. E., Evangelista, J. R., Ann, M. Q., Reynoso, I. G. M., Villalobos, L. D. D., Alit, C. F., Surigao, C. A., Villanueva, J. P., Saludes, and D.S.D. (2020)** Marine, sediment-derived *Streptomyces* strain Produces Angucycline Antibiotics against Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Harboring SCCmec Type 1 Gene. Center For Natural Drug Discovery and Development. University of San Agustin, Iloilo City 5000, Philippines.
- **El-Tarabilya K.A., Sivasithamparem. (2006)** Rhizosphere-competent isolates of Streptomycete and non-Streptomycete actinomycetes capable of producing cell-wall degrading enzymes to control *Pythium aphanidermatum* damping-off disease of cucumber. *Can. J. Bot.* 84.211-222.
- **Elhitti, A. (2015)** Activité antifongique des actinomycètes vis-à-vis de quelques espèces de levures faculté des sciences et techniques settat. Université Hassan 1 Settat.
- **Erika, A. F. A., Erima, J. M. C., Viviane, S. S., Mateus, S. A., Léo R. L. D., Maycon, H. F. M., Ilana, M. A. S., Paulo, C. M. V., Maria, R. Q. B., Angela, F., Maria, R. C. S., Valério, M., Amanda, A., Luis, C. N. S. and Rita, M. M. (2020)** Brazile Antimicrobial Potential of *Streptomyces ansochromogenes* (PB3) Isolated From a plant native to the Amazon against *Pseudomonas aeruginosa*. *Front.Microbiol.* 11 :574693. Doi : 10.3389/fmicb.2020. 574693. Journal Frontiers in Microbiology.
- **Eunice, J.A and Prosser, J.I. (1983)** Mycelial growth and branching of *streptomyces* coelicolor A3 (2) on solid medium. *J. gen. Microbial.*, 129: 2029-2036.

F

- **Fickers, P., Destain, J., Et Thonart, P. (2008)** Les Lipases Sont Des Hydrolases Atypiques : Principales Caractéristiques Et Applications. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* Vol. 12 (2). P: 119-130.
- **Fjaervik, E., and Zotchev, SB. (2005)** Biosynthesis of the polyene macrolide antibiotic nystatin in *Streptomyces noursei*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 67(4).436-4.

G

- **Ganesh Kumar, C., Mongolla, P., Joseph, J., Nageswar, Y.V.D., Kaal, A. (2010)** Antimicrobial activity from the extracts of fungal isolates of soil and dung samples from Kaziranga National Park, Assam, India. *Journal de Mycologie medical* (20), 283-289. DOI : 10.1016/j.mycmed.2010.08.022.
- **Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G. (2004)** Taxonomic Outline of the Prokaryotes, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition Release 5.0, Springer Verlag, New York. 1-399. [http:// dx.doi.org/10.1007/bergeysoutline200310](http://dx.doi.org/10.1007/bergeysoutline200310).
- **Gebereselema, Gebreyohannes et Gebreyohannes,(2013)** Mebrahtu. Medicinal values of garlic. *Int. J. Med. Medical Sci*, vol. 5, no 9, p. 401-408.
- **Gerois, J. (2008)** Purification And Properties Of Three Endo B-1-4 Xylanases.
- **Gerry, A., Quinn, Alyaa, M., Abdelhameed, N.K., Alharbi, D., Cobice, S.A., Adu, M.T., Swain, H.C.C., Paul, D., Facey, H A., Bakshi, M. M., Tambuwala and Ibrahim, M., Banat. (2020)** The Isolation of a Novel *Streptomyces* sp. CJ13 from a Traditional Irish Folk Medicine Alkaline Grassland soil that Inhibits Multiresistant Pathogens and Yeasts. School of Biomedical Sciences, Ulster University Coleraine, Northern Ireland BT52 1SA, UK.
- **Ghribi, M. (2019)** La Biodiversité Microbienne Des Déchets (Boues, Papetières Et Huiles Usées) Et Son Potentiel D'application Enzymatique. Thèse De Doctorat. Université Du Québec À Troisrivières. P: 20.

- **Goodfellow, M. (2012)** Phylum XXVI. Actinobacteria phyl. nov. In : Goodfellow, M., Kampfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M.E., Suzuki, K., Lundwing, W., Burgey's Manual of Systematic Bacteriology-Actinobacteria. Second Ed. Springer. New York, NY, pp. 33-35.
- **Guiraud, J.P. (1998)** Techniques D'analyse Microbiologique, Dans Microbiologie Alimentaire. Dunod Paris, 171-334. Produces By *Streptomyces Sp.* Strain S38. Enzyme Microb. Technol. 26, 178-186.

H

- **Habbeche, A., Saoudi, B., Jaouadi, B., Haberra, S., Kerouaz, B. (2014)** Purification And Biochemical Characterization Of A Detergent-Stable Keratinase From A Newly Thermophilic *Actinomycete Actinomadura Keratinilytica* Strain Cpt29 Isolated From Poultry Compost. J Biosci Bioeng 117: 413-421.
- **Habibeche, L. (2013)** Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices d'antibiotique. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. Mémoire de Master.
- **Hankin, L., Zucker, M., Sands, D. C. (1971)** Improved Solid Medium For The Detection And Enumeration Of Pectinolytic Bacteria. Appl. Microbial., 22: 205-209.
- **Harir, M. (2018)** Caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d'actinobactéries isolées des sols arides et semi arides d'Algérie. 121-123.
- **Hartmann, A. (2018, November)** Les sols et la résistance aux antibiotiques. In Congrès de la Société Française de Toxicologie.
- **Hayrettin, S., Imen, N., Hilal, A., Kiyemet, G., Demet, C., Hans-Peter, K., Michael, G., Nevzat, Sahin. (2020)** Polyphasic Classification of *Nonomuraea* strains Isolated from the Karakum Desert and description of *Nonomuraea deserti sp. nov.* *Nonomuraea diastatica sp. nov.* *Nonomuraea longispora sp. nov.* And *Nonomuraea mesophila sp. nov.* International journal of Systematic And Evolutionary Microbiology. Int.J.SYST. Evol. microbiol 2020. 70 :636-647.

- **Hilali, L., Khattabi, A., Nessarlah, N., Malki, A., et Finance, C. (2002)** Isolement des Nouvelles Souches d'Actinomycétales Productrices de Substances Antifongiques à partir du Milieu Naturel Marocain. Rev. Biol. Biotech. 2 :49-53.
- **Hitesh, J., Nimita, U., Darshan, D., Manthan, K., Shilpa, S., And Jagdish, P. (2016)** Isolation, Optimization And Production Of Cellulase By *Aspergillus Niger* From Agricultural Waste. Journal Of Pure And Applied Microbiology.Vol. 10(2), Pp. 1159-1166.
- **Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. (1994)** Bergey's manual of determinative bacteriology.Williams and Wilkins, Baltimore.
- **Hopwood, D.A. (1973)** Genetics of the Actinomycetales. Soc Appl Bacteriol Symp Ser, 2: 131–53.
- **Hopwood, D.A. (2003)** Streptomyces genes: from Waksman to Sanger. J Ind Microbiol Biotechnol, 30(8): 468–471.
- **Hoza, A.S., Mfinanga, S.G.M., Rodloff, A.C., Moser, I., König, B. (2016)** Increased isolation of *nontuberculous mycobacteria* among TB suspects in Northeastern, Tanzania: public health and diagnostic implications for control programmes. BMC Res Notes. 2016; 9 (1): 109.

J

- **Janaki, T. (2017)** Enzymes From Actinomycetes. International Journal Of Chemtechresearch.10(2): 176-182.
- **Jean-Claude, N., Guy Leyral. (2014)** Microbiologie Technique : Dictionnaire Des Techniques. Edition 2014. Pp 404, 270, 239, 283.

K

- **Kamjam, M., Sivalingam, P., Deng, Z., Hong, K. (2017)** Deep sea actinomycetes and their secondary metabolites. *Front Microbiol.* 8:7 60.
- **Kar, S., And Ray, RC. (2008)** Statistical Optimization Of A-Amylase Production By *Streptomyces Erumpens* MTCC 7317 Cells In Calcium Alginate Beads Using Response Surface Methodology. *Pol. J. Microbiol* 57: 49-57.
- **Kitouni, M. (2007)** Isolement De Bactéries Actinomycétales Productrices D'antibiotiques À Partir D'écosystèmes Extrêmes. Identification Moléculaire Des Souches Actives Et Caractérisation Préliminaire Des Substances Elaborées.P15-17.
- **Kumar, R.R., Jadeja, V.J. (2016)** Isolation of Actinomycetes: A complete approach. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 5, 606–618.

L

- **Lacey, J. (1973)** Actinomycetes In Soils, Composts And Fodders. In: *Actinomycetales: Characteristics And Practical Importance*. Eds.: G. Sykes, F.A. Skinner. Academic Press, London, New York. 231–251.
- **Le Minor, L., Veron, M. (1989)** Bacteriologie medicale. 2ème édition. Medecine. Sciences Flammarion.
- **Lechevalier, H.A. (1970)** Chemical Composition as a Criterion In The Classification of Aerobic Actinomycètes. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 20 : 435-443.
- **Leulmi, N. (2019)** Identification Polyphasique des Souches d'Actinobactéries isolées d'échantillons de sols semi-arides, Caractérisation Structurale des Antibiotiques Produits. Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri l Constantine.

M

- **Mabrouka, B., Romaisa, M., Taha, M., Djamila, Gacemi-Kirane, Fatma Zohra, S., Stephane, R. (2020)** Broad-spectrum Antimicrobial Activity of Wetland-derived *Streptomyces sp.* Actif450. Biomolécule and Application Laboratory Faculty of exact Sciences and Natural and Life Sciences Larbi Tebessi University 12002 Tebessa Algeria.
- **Mariat, F., Sebald, M. (1990)** Les actinomycètes. Dans : Bactériologie médicale. Le Minor. Edition Médecine-Science. Flammarion. France.
- **Marija, M., Paul, M. D'Agostino., Aleksander, Pavic, S. V., Ramsankar, S., Branka, V., Tobias, A. M. G., Jasmina, N. (2020)** *Streptomyces sp.* BV410 isolate from chamomile rhizosphere soil efficiently produces staurosporine with antifungal and antiangiogenic properties Microbiologyopen DOI: 10.1002/mbo3.986.
- **Masand, M., et Menghani, E. (2015)** Antimicrobial activity of isolates of actinomycetes from soils of semi arid regions of Rajasthan. Word journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Volume 4, Issue 04,1549-1556.
- **Merizig, H., et Naami, F. (2015)** Etude taxonomique de quelques souches d'actinomycètes isolées de la région d'Ouargla. Mémoire de Master en Microbiologie fondamentale et Appliquée. Université Kasdi Merbah, Ouargla. pp 3-85.
- **Merniez, M., et Merniez, S. (2018)** Etude De La Resistance Aux Antibiotiques Des Souches D'Escherichia coli Isolées Du Lait De Vache Commercialise Dans La Région D'Ain M'Lila Et Ain Fakroun. Mémoire de Master en Microbiologie Appliquée. Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.65 p.
- **Messaoudi, O., Bendahou, M. (2020)** Biological Synthesis of Nanoparticles Using Endophytic Microorganisms : Current Development. In Nanotechnology and the Environment, Mousumi, S., Ed. Intech: Rijeka, Croatia,
- **Messoudi, O. (2013)** Contribution à la Caractérisation de souches d'actinomycètes Productrices de Métabolites Antibactériens isolées de la Sebka de Kenadsa (Bechar). Thèse de Magistère en Microbiologie Appliquée. Université Abou Bakr Belkaid

Tlemcen 78PP.

- **Minotto, E., Pasqualini, M.L., Trindade, O.M., And Van, Der Sand, S.T. (2014)** Enzyme Characterization Of Endophyto-Actinobacteria Isolated From Tomato Plants. *Journal Of Advanced Scientific Research.* 5 (2): 16-23.
- **Murray, R., Brenner, D. J., Holt, J. G., Krieg, N. R., Mulder, J. W., Pfenning, N., Sneath, P. H. (1989)** In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams & wilkins. Eds 4 : 2333-2648.

N

- **Navarre, Françoise, L. (2010)** *L'œnologie* 7e Edition.. Pp39 Et 42.
- **Newman, D.J., Cragg, G.M. (2016)** Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod.* 79:629–661.
- **Nicemol, Jacob, K.N., Niladevi, G.S., And Anisha, P. (2006)** Hydrolysis Of Pectin: An Enzymatic Approach And Its Application In Banana Fiber Processing. *J. Microbil. Res.*, 163: 538-544.

O

- **Oskay, T., Aykoln, & Sahilioglu, M. (2005)** Metastatic Crohn Disease In A Child, *Chemical And Experimental Dermatology*, 30 (4), 358-360.
- **Ouhdouch, Y. (2003)** Aperçu Bibliographique sur la Taxonomie des Actinomycètes. Premier atelier National du Réseau NAFRINET- MAROC. Pp : 18-70. Paris 481p.

P

- **Pandey, A., Chandra, N., Srivastava, A., Kumar, D. & Kumar, S. (2018)** Antimicrobial Metabolites Producing Soil Microorganisms. *Indian Journal of Applied Microbiology.*, 21(01):46-57.

- **Porter, J.N. (1971)** Prevalance And Distribution Of Antibiotic Producing Actinomycetes. *Adv Appl Microbiol*, 14: 73–92.
- **Prakash, D., Nawani, N., Prakash, M., Bodas, M., Mandal, A, Khetmalas, M. (2013)** Actinomycetes: A Repertory Of Green Catalysts With A Potential Revenue Resource. *Biomed. Res. Int.* 2013, 264020.
- **Priya, B.S., Stalin, T., Selvam, K. (2012)** Efficient Utilization Of Xylanase And Lipase Producing Thermophilic Marine Actinomycetes (*Streptomyces Albus* And *Streptomyces Hygroscopicus*) In The Production Of Ecofriendly Alternative Energy From Waste. *Afr J Biotechnol* 11: 14320-14325.

Q

- **Qin, S., Li, W. J., Dastager, S. G., and Hozzein, W. N. (2016)** Editorial: actinobacteria in special and extreme habitats: diversity, function roles, and environmental adaptations. *Front. Microbiol.* 7:1415. doi: 10.3389/fmicb.2016.01415.

R

- **Rajeeva, G., SonitTiwara. (2015)** Isolation, Production, Purification And Characterization Of An Organic-Solvent-Thermostable Alkalophilic Cellulase From *Bacillus Vallismortis* RG-07. *Journal Of BMC Biotechnology*. Vol15:19.
- **Ranjani, A., Gopinath, P.M., Rajesh, K., Dhanasekaran, D., Priyadharsini, P. (2016)** Diversity of silver nanoparticle synthesizing Actinobacteria isolated from marine soil, Tamil Na-du, India. *Arab J Sci Eng.* 2016 41(1) : 25.

S

- **Saci, A. (2011)** Production D’alpha-Amylase Par *Streptomyces Sp.* Optimisation D’un Milieu De Production À Base De Déchets D’orange. Thèse De Magister. Université Mentouri Constantine. P : 10-12.

- **Saci, A. (2012)** Production D'alpha-Amylase Par *Streptomyces Sp.* Optimisation D'un Milieu De Production À Base De Déchets D'orange. Thèse De Magister. Université Mentouri Constantine. P: 10-12.
- **Sahoo, K., Sahoo, R. K., Gaur, M., Et Subudhi, E. (2019)** Solation Of Cellulase Genes From Thermophiles. A Novel Approach Toward New Gene Discovery. New And Future Developments In Microbial Biotechnology And Bioengineering. P : 151-169.
- **Sanglier, J.J., Trujill, M. (1997)** Substances bioactives produites par les actinomycetes, strategie de selection de souches. Bull Soc Fr Microbiol, 12(3): 269–276.
- **Saturnino, R.S., Machado, N.M., Lopes, J.C., Nepomuceno, J.C. (2017)** Assessment of the mutagenic, recombinogenic, and carcinogenic potential of amphotericin B in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Drug Chem. Toxicol., 41, 9–15.
- **Saurav, Kumar., et Kannabiran, Krishnan. (2010)** Cytotoxicity and antioxidant activity of 5-(2, 4-dimethylbenzyl) pyrrolidin-2-one extracted from marine *Streptomyces VITSVK5 spp.* Saudi journal of biological sciences, vol. 19, no 1, p. 81-86.
- **Sharma, P., & Thakur, D. (2020)** Antimicrobial biosynthetic potential and diversity of culturable soil actinobacteria from forest ecosystems of Northeast India. Scientific reports, 10(1), 1-18.
- **Sharma, P., Dutta, J., & Thakur, D. (2018)** Future Prospects of Actinobacteria in Health and Industry. In New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering (pp. 305-324). Elsevier.
- **Shirling, E. B., Gottlieb, D. (1966)** Cooperative Description Of Type Cultures Of *Streptomyces*. IV. Species Descriptions From The Second, Third And Fourth Studies. International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology 19(4): 391–512.

- **Soliman, H., Elsayed, A., Dyaa, A. (2018)** Antimicrobial activity of silver nanoparticles biosynthesised by *Rhodotorula sp.* strain ATL72. Botany Departemrnt, Faculty of science, Mansoura University, Egypt. Egyptian journal of Basic and Applied Sciences.

T

- **Taibi, Z., Saoudi, B., Boudelaa, M., Trigui, H., Belghith, H., Gergouri, A., Ladjama, A. (2011)** Purification And Biochemical Characterization Of Highly Thermostable Xylanase From *Actinomadura Sp.* Strain Cpt20 Isolated From Poutry Compost. Appl. Biochem. Biotechnol. 011.9457.
- **Tanveer, P., S, G., Joginder, S., Ashishvyas, Manish, Kumar., Naseem Gaur., Madhubala., Reiaz, R., Ajit, V., Vivek, K., And Manoj, K. (2014)** Characterization Of Actinomycetes And *Trichoderma Spp.* For Cellulase Production Utilizing Crude Substrates By Response Surface Methodology. Journal Of Spirnger. Vol 3:622.
- **Tour, Y., Ongena, M., Jacques, P., Guiro, A., Thonart, P. (2004)** Rôle of Lipopeptides Produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the Reduction of Grey Mould Disease caused by *Botrytis Cinerea* on Apple. J.Appl. Microbiol 96 :1151-1160.

U

- **Ullah, I., Masood, A., Chaudhry, I. J. M., Noureen, U., Jadoon, W. A. (2012)** Actinomycètes screening for bioactive potential isolated from the moist ferest soils of Pakistan. Rec. Zool. Surv. Pakistan, 21 :10-13.

V

- **Valour, F., Sénéchal, A., Dupieux, C., Karsenty, J., Lustig, S., Breton, P., Gleizal,**

- A., Bousel, L., Laurent, F. (2014)** *Actinomycosis* : ethiology, clinical features, diagnosis, treatment, and drug resistance, 7,183.
- **Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G.F., Chater, K.F., van Sinderen, D. (2007)** Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol Mol Biol Rev*, 71(3): 495–548.
 - **Veyssiere, A. (2019)** La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Bordeaux. 15-87p.

W

- **Waksman, S.A. (1959)** *The Actinomycetes: Nature, Occurrence And Activities.*The Williams And Wilkins Company, Baltimore, 1: 29–46.
- **Williams, C.S., Richter, J.M., Mackenzie, J.C., Shih, H. (1990)** Isolation, identification and characterization of a feather degrading bacterium. *Appl Environ Microbiol.* 56:1509-1515.
- **Williams, S.T., et Davies, F.L. (1965)** Use of Antibiotics For Selective Isolation and Enumeration of Actinomycetes in soil. *J. Gen. Microbiol* 38 :251-261.
- **William, B., Whitman., Michael, Good, Fellow., Peter, Kämpfer. (2012)** *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology: Volume Un 5: The Actinobacteria,* Pp1928.
- **William, S. T., Goodfellow, M., Wellington, E. M., Vickers, J. C., Alderson, G., Sneath, P. H. A., Sackin M. J. Et Al. (1983)** A Probability Matrix For Identification Of Some Streptomyces's. *J. Gen. Microbiol.*, 129: 1815-1830.
- **Williams, S.T., Lanning, S., Wellington, E.M.H. (1984)** *Ecology Of Actinomycetes.* In: *The Biology Of The Actinomycetes.* Eds : M. Goodfellow, M. Mordarski And S.T. Williams. Academic Press, London, New York,

Sydney, Tokyo, Sao Paulo. 481–528.

X

- **Xu, L.H., Li, Q.R., Jiang, C.L. (1996)** Diversity Odf Soil Actinomycètes In Yunnan. China Applied In Environnezmental And Microbiology,(62).244_248.

Y

- **Yufeng, C., Dengbo, Z., Dengfeng, Q., Zhufen, G., Jianghui Xie and Yanping Luo. (2017)** Growth Promotion and Disease Suppression Ability of a Streptomyces sp .CB-75 from Banana Rhizosphere Soil. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou, China. Doi : 10.3389/fmicb.2017. 02704.

Z

- **Zhang, S., Fang, H., Yin, C., Wei, C., Hu, J., and Zhang, Y. (2019)** Antimicrobial metabolites produced by *Penicillium mallochii* CCH01 isolated from the gut of *Ectropis oblique*, cultivated in the presence of a histone deacetylase inhibitor.Front. Microbiol. 10:2186. doi: 10.3389/fmicb.2019.02186.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de cultures utilisés**1. Milieu Olson**

Sodium caséine.....	2g
L aspragine.....	0,1g
Sodium propionate	4g
K ₂ HPO ₄	0,5g
FeSO ₄	0,01g
Agar.....	10g
Eau distillée.....	1000ml
PH = 7,2	

3. Milieu ISP9 (*International Streptomyces Project*)

(NH ₄) ₂ SO ₄	2,64g
KH ₂ HPO ₄	2,38g
K ₂ HPO ₄	5,65g
MgSO ₄ 7 H ₂ O	1g
Solution d'oligoéléments.....	1g
Agar.....	15g
Eau distillée	1000ml
PH=7,4	

2. Milieu YMEA (*Yeast Malt Extract Agar*)

Extrait de levure	4g
Extrait de malt.....	10g
Glucose.....	4g
CaCO ₃	1g
Agar.....	20g
Eau distillée... ..	1000ml
PH=7,3	

4. Milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*)

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

5. Milieu Mueller Hinton

Extrait de viande.....2g

Hydrolysate acide de caséine.....17,5g

Amidon.....1,5g

Agar.....10 g

Eau distillée.....1000 ml

PH=7,4

Annexe 2: Les solutions**Eau physiologique**

Chlorure de sodium 09g

Eau distillée 1000ml

Solution d'oligo-élémentsFeSO₄ 7 H₂O 0,11gMnCl₂ 4 H₂O 0,79gZnSO₄ 7 H₂O 0,15gCuSO₄ 5 H₂O 0,64g

Eau distillée 100ml

Université Abbes Laghrour Khenchela

Campus des laboratoires Pédagogiques de la faculté de SNV Khenchela

Mémoire de Master en Sciences

Aouaidjia Zineb, Benchaib Loubna et Rim Takoua

Etude de quelques activités biologiques des souches d'actinobactéries isolées du sol de Hammam Salhine et Hafiane Laid et l'eau de Sebkha El-Mahmal.

Résumé

La résistance bactérienne aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses justifient l'urgence de disposer de nouvelles molécules antimicrobiennes. Notre choix s'est porté sur l'étude bibliographique et expérimentale des actinobactéries, car elles constituent une source naturelle et attractive de différentes molécules bioactives. La synthèse de ces molécules par les actinobactéries est considérée comme un moyen d'adaptation dans leurs habitats. Cette aptitude nous donne une large gamme de biomolécules : antibiotiques, antifongiques, enzymes, etc. A travers la revue bibliographique, nous avons donné une définition des actinobactéries et également mentionné les caractéristiques morphologiques, physiologiques, et chimiotaxonomiques les plus importantes qui les distinguent des autres microorganismes. On a abordé aussi leur classification, leur écologie, et leurs activités biologiques. La revue expérimentale a apporté une contribution à l'étude du pouvoir antimicrobien de certaines actinobactéries ayant la capacité à inhiber la croissance des microorganismes pathogènes. Des isolats d'actinobactéries ont été collectés à partir de 02 échantillons de sol et un échantillon d'eau, provenant de différentes régions de Khenchela. L'étude de l'activité antimicrobienne de ces isolats vis-à-vis de bactéries pathogènes Gram positif et Gram négatif, levures et champignons par la technique des cylindres d'agar a permis de sélectionner des isolats ayant une activité non négligeable. Par la technique d'ensemencement par touche, on a sélectionné les isolats productrices des différents enzymes et qui ont des activités hydrolytiques. En conclusion, on peut dire que les actinobactéries représentent une source prodigieuse de molécules antimicrobiennes d'une grande diversité, et la présente étude a permis de révéler le potentiel des écosystèmes semi-arides algériens comme étant des réservoirs importants de souches d'actinobactéries productrices de molécules bioactives.

Mot clés : Actinobactéries, Molécules bioactives, Activité antimicrobienne, Ecosystème semi-aride, Activité enzymatiques.