

République Algérienne Democratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur

et de la Recherche Scientifique

Université Abbès Laghrour-Khenchela



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

MEMOIRE

*Présenté Pour l'obtention du Diplôme de
MASTER académique*

FILIERE : Biologie

OPTION : Microbiologie appliquée

THEME

**Distribution quantitative des
actinomycètes dans certaines couches de
sols arides algériens**

Présenté Par

BOUGHERARA Fouzia

et

MAACHE Fahima

Soutenu le : 02/ 0 7 /2017 devant le jury:

Président : Mme MERIDJA wafa

MAA Uni. Abbès Laghrour khenchela

Examineur: Melle BOUTARFA Soumia

MAA Uni. Abbès Laghrour khenchela

Encadreur: Mme BENSOUICI Karima

MAA Uni. Abbès Laghrour khenchela

Juillet 2017

Le travail a été réalisé au laboratoire de Biologie de l'Université Abbès Laghrour- Khenchela

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience pour l'élaboration de ce travail.

En second lieu, on remercie les membres du jury de soutenance : Mme Meridja w. pour nous faire l'honneur de présider le jury et Melle Boutarfa S. pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

*Nous tenons à remercier vivement notre encadreur Madame **BENSOUICI KARIMA**, pour ses encouragements, ses fructueux conseils, son aide précieuse tout au long de la réalisation de ce travail.*

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique de MICROBIOLOGIE de l'institut de Biologie à l'université de KHENCHÉLA avec l'aide des ingénieurs du laboratoire. Qu'elles trouvent ici le témoignage de nos profondes reconnaissances et nos sincères gratitude.

Nos chaleureux remerciements s'adressent également à nos très chers parents pour le courage et le sacrifice qu'ils ont consentis pendant la durée de nos études en leurs souhaitant une longue vie pleine de joie et de santé.

Enfin, nos sincères remerciements vont aussi à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenus et encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à toute personne qui nous a aidés de loin ou de près.

Merci 

Dédicace

Je remercie avant tout « Allah »

Je dédie ce modeste travail

A mon père Ahmed.

A ma mère Fatima.

*« Je remercierai éternellement pour leur amour et leur appui
inconditionnel durant toutes ces années. »*

A mon mari Bachir.

*« Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse
sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir
mes études. »*

A mon encadreur madame Karima Bensouici.

*A mes sœurs : Amira , Massouda , Rahima et mes
frères : Fouad , Samir.*

A la mère de mon mari Kalthoum.

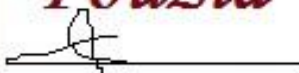
A toute ma famille Bougherara.

*A mes amies surtout : chams elhouda, Fahima, Souad,
Samira, widad.*

*Mes collègues de promotion de Master II microbiologie
(Université de Khenchela)*

A tout mes amis

Fouzia



Dédicace

Je dédie ce mémoire :

je remercie avant tout « Allah »

A mon Très cher père « Mebarek », mon exemple dans cette vie, qui m'a toujours soutenue et encouragée, et qu'a été toujours présent pour moi.

A la plus chère au monde, ma mère « Aïcha », qui m'a toujours encouragé durant mes études. Je t'aime maman.

Je prie le bon Dieu de les protéger et leur réserver une longue vie.

A mes Très chères sœurs : Zohra et Faïza

A mes Très chers frères : Abdelrahim, Abdassalem.

A mon ami : Fouzia Bougherara

A Mon encadreur madame : Karima Bensouici

A Toutes mes chères amies

A Toute la famille : Maache

A toute la promotion master Biologie (2017).

Tous les enseignements du département de La Biologie qui nous ont enseignés pendant notre formation.

FAHIMA MAACHE



Table des matières

| | Page |
|--|-------------|
| Remerciements | |
| Dédicaces | |
| Résumés | |
| abstract | |
| ملخص | |
| Liste des tableaux | I |
| Liste des figures | II |
| Liste des photographies | III |
| Liste des annexes | IV |
| Liste des abréviations | V |
| Introduction | 1 |
| <i>Partie I : Revue Bibliographique</i> | |
| Chapitre I : Les actinomycètes | |
| 1. Historique. | 3 |
| 2. Définition et caractères généraux | 3 |
| 3. Morphologie | 4 |
| 4. Caractères cultureux | 6 |
| 5. Génétique et structure de l'ADN | 7 |
| 6. Physiologie | 7 |
| 6.1. L'oxygène | 7 |
| 6.2. Le pH | 7 |
| 6.3. La température | 7 |
| 6.4. L'activité de l'eau (Aw) | 7 |
| 6.5. Tolérance en NaCl | 7 |
| 6.6. Source d'énergie | 8 |
| 7. Cycle biologique | 8 |
| 8. Taxonomie des actinomycètes | 9 |
| 9. Distribution dans la nature | 13 |
| 10. Ecologie des actinomycètes | 14 |
| 11. Importance des actinomycètes | 18 |
| 11.1. Rôle des actinomycètes dans la bio remédiation | 18 |

| | |
|---|----|
| 11.2. Utilisation des actinomycètes dans la décomposition des polymères complexes | 18 |
| 11.3. Utilisation des actinomycètes dans la dégradation de la lignocellulose | 18 |
| Chapitre II : Sol et microorganismes | |
| 1. Définition du sol | 20 |
| 2. Les Composants du sol | 20 |
| 2.1. Constituants minéraux | 20 |
| 2.2. Constituants organiques | 20 |
| 3. Principaux critères d'évaluation à observer dans un sol | 20 |
| 3.1. L'humus | 20 |
| 3.2. Texture et structure des horizons | 20 |
| 3.3. La couleur des horizons | 21 |
| 3.4. La succession des horizons | 21 |
| 3.5. La profondeur de la rhizosphère | 21 |
| 3.6. Le pH | 21 |
| 3.7. La pétrologie | 21 |
| 4. Les microorganismes de sol et leur rôle | 21 |
| 4.1. Les algues | 23 |
| 4.2. Les champignons | 23 |
| 4.3. Les actinomycètes | 24 |
| 4.4. Les bactéries | 24 |
| 4.5. Les protozoaires | 24 |
| Partie 2 : Matériel et méthodes | |
| 1. Ecosystème étudié | 26 |
| 2. Prélèvement des échantillons du sol | 26 |
| 3. Analyses physicochimiques des échantillons de sol | 27 |
| 4. Préparation du milieu d'isolement | 27 |
| 5. Dilutions | 27 |
| 6. Ensemencement et incubation | 28 |
| 7. Lecteur et dénombrement des isolats | 28 |
| 8. Purification et conservation des souches actinomycétales | 28 |
| Partie 3 : Résultats et discussion | |
| 1. Prélèvements des échantillons du sol | 29 |
| 2. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons de sols | 29 |
| 2.1. Caractères physico-chimiques des échantillons de sol d'El oued | 29 |

| | |
|---|----|
| 2.2. Caractères physico-chimiques des échantillons de sol de Biskra | 31 |
| 3. Isolement des actinomycètes à partir des écosystèmes étudiés | 33 |
| 4. Dénombrement des actinobactéries | 34 |
| Conclusion et perspectives | 37 |
| Références bibliographiques | 38 |
| Annexes | |

Résumés

Résumé

La distribution quantitative des actinobactéries a été étudiée dans la surface et dans deux couches du sol des régions arides d'El oued et de Biskra. Le dénombrement montre une répartition hétérogène des actinomycètes dans ces écosystèmes désertiques. Dans le sol d'El-oued, le plus grand nombre des colonies a été isolé à partir d'une profondeur de 20 cm. Ce nombre représente 41 % de la totalité des isolats obtenus. Dans le sol de Biskra, Il apparait que le nombre d'actinobactéries diminue quand la profondeur du sol augmente. Le grand nombre des colonies a été obtenu à partir de la couche superficielle avec un pourcentage de 54 % de la totalité des isolats. En outre, nos investigations montrent que le nombre d'actinomycètes isolés à partir des écosystèmes telluriques arides dépend de la profondeur et du pH du sol. En effet, le nombre d'actinomycètes augmente quand les valeurs du pH sont neutres ou légèrement basiques et ceux pour les deux zones d'études. Le taux de salinité et de la matière organique, n'ont pas d'influence significative, sur cette distribution quantitative des actinobactéries dans ces régions arides. Par ailleurs, le sol d'El-oued offre une quantité plus importante d'actinomycètes par rapport à celui de Biskra.

Mots-clés :

Actinomycètes, distribution, sol arides, dénombrement, couches.

Abstract

The quantitative distribution of actinobacteria was studied in the surface and in two layers of the soil of the arid regions of El-oued and Biskra. Counting shows a heterogeneous distribution of actinomycetes in these desert ecosystems. In El-Oued soil, the largest number of colonies was isolated from a depth of 20 cm. This number represents 41% of the total isolates obtained. In Biskra soil, it appears that the number of actinobacteria decreases as soil depth increases. The large number of colonies was obtained from the surface layer with 54% of all isolates. In addition, our investigations show that the number of actinomycetes isolated from arid terrestrial ecosystems depends on depth and of soil pH. Indeed, the number of actinomycetes increases when the pH values are neutral or slightly basic and those for the two study areas. Salinity and organic matter do not have a significant influence on this quantitative distribution of actinobacteria in these arid regions. In addition, El-oued soil offers a greater amount of actinomycetes compared to that of Biskra.

Keywords:

Actinomycetes, distribution, arid soil, enumeration, layers.

ملخص:

تم دراسة التوزيع الكمي للاكتينومييسات في الطبقة السطحية و في طبقتين من الأرض من المناطق القاحلة في الوادي و بسكرة. العد يبين توزيع غير متجانس من الفطريات الشعاعية في هذه النظم البيئية الصحراوية. في تربة الوادي، تم عزل أكبر عدد من المستعمرات في عمق 20 سم. ويمثل هذا الرقم 41% من جميع الاكتينومييسات المعزولة التي تم الحصول عليها. في تربة بسكرة، يبدو أن عدد الاكتينومييسات تنقص كلما زاد عمق التربة. حيث تم الحصول على عدد كبير من المستعمرات من الطبقة السطحية بنسبة 54% من إجمالي الاكتينومييسات المعزولة بالإضافة إلى ذلك، تحقيقاتنا تشير إلى أن عدد الاكتينومييسات المعزولة من النظم الإيكولوجية البرية القاحلة يعتمد على عمق و حموضة التربة. في الواقع، عدد الاكتينومييسات يزداد عندما تكون درجة الحموضة محايدة أو قاعدية قليلا، لكل من منطقتي الدراسة. معدل الملوحة والمواد العضوية، ليس لها تأثير كبير على توزيع كمية الاكتينومييسات في هذه المناطق القاحلة. وعلاوة على ذلك، تربة الوادي حازت على كمية كبيرة من الاكتينومييسات مقارنة مع بسكرة.

الكلمات المفتاحية:

الاكتينومييسات، التوزيع التربة القاحلة، العد، الطبقات

Liste des tableaux

| N° de Tableau | Titre du tableau | Page |
|----------------------|---|-------------|
| Tableau 1 | Exemples de tailles de spores de quelques actinomycètes | 5 |
| Tableau 2 | Répartition de quelques genres d'actinomycètes par type d'habitat | 14 |
| Tableau 3 | Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol | 15 |
| Tableau 4 | Quelques groupes de microorganismes du sol | 22 |
| Tableau 5 | Caractéristiques physico-chimiques des trois échantillons de sol d'El-oued. | 30 |
| Tableau 6 | Caractéristiques physico-chimiques des trois échantillons de sol de Biskra | 32 |
| Tableau 7 | Résultats du dénombrement des actinobactéries des échantillons d'El-oued et de Biskra | 34 |

Liste des figures

| N° de Figure | Titre | Page |
|---------------------|---|-------------|
| Figure 1 | Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes. | 4 |
| Figure 2 | Cycle de développement des actinomycètes sur milieu solide. | 9 |
| Figure 3 | Préparation des dilutions décimales. | Annexe 1 |
| Figure 4 | Etapes de fabrication d'un râteau d'étalement. | Annexe 3 |
| Figure 5 | Technique d'ensemencement en surface. | Annexe 4 |

Liste des photographies

| Photographie N° | Titre | Page |
|------------------------|---|-------------|
| Photographie 1 | Site de prélèvement (Biskra) : (a) Couche superficielle, (b) Couche moins vingt centimètres, (c) Couche moins quarante centimètres | 26 |
| Photographie 2 | Site de prélèvement (El-Oued) : (a) Couche superficielle, (b) Couche moins vingt centimètres, (c) Couche moins quarante centimètres. | 27 |
| Photographie 3 | Prélèvements du sol d'El-Oued | 29 |
| Photographie 4 | Prélèvements du sol de Biskra | 29 |
| Photographie 5 | Aspect macroscopique des colonies d'actinomycètes isolés sur milieu GLM | 33 |

Liste des annexes

Annexe 1 :

- Composition du milieu de culture GLM (Gélose à l'extrait de levure-extrait de malt)
- Préparation de l'eau physiologique.

Annexe 2 : Préparation des dilutions décimales.

Annexe 3 : Etapes de fabrication d'un râteau d'étalement.

Annexe 4 : Technique d'ensemencement en surface.

Liste des abréviations

- * **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- * **ARNr** : acide ribonucléique ribosomique
- * **ADNr 16S** : désoxyribonucléique codant pour la sous unité ribosomique 16S.
- * **ARNr16S** : acide ribonucléique codant pour la sous unité ribosomique 16S
- * **Aw** : activité de l'eau
- * ***E.coli*** : *Escherichia coli*
- * **G+C** : Guanine +cytosine (Coefficient de Chargaff).
- * **GLM** : glucose-extrait de levure-malt
- * **Hab/ km²** : Habitant par kilomètre carré
- * **INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique
- * **ISO** : Organisation Internationale de Normalisation
- * **Km²** : kilomètre carré
- * **me / l**:milliéquivalent par litre
- * **mm /an**: millimètre par année
- * **MO** : matière organique
- * **N** : azote
- * **NaCl** : Chlorure de Sodium
- * **NF** : nanofarad
- * **pH** : potentiel Hydrogène
- * **photo** : photographie
- * **RUM** : Réserve utile maximale des sols
- * **%** : Pourcentage.
- * **°C** : degré Celsius
- * **μ** : micro
- * **μm** : micromètre.
- * **μS** : Micro Siemens

Introduction

Les actinomycètes sont des bactéries mycéliennes à Gram positif. Ils possèdent une croissance lente et une aptitude formidable à produire de nombreuses substances enzymatiques et antibiotiques leur conférant un rôle essentiel dans les interrelations entre les microorganismes (**Goodfellow et Williams, 1983**).

Généralement, les actinomycètes habitent le sol et sont capables de décomposer toutes sortes de matières organiques, ce qui rend le sol fertile. Ils participent par conséquent à l'amélioration des récoltes. Ces bactéries ont été isolés dans de nombreux environnements aquatiques, comme les écosystèmes marins, l'eau douce et les marécages salés (**Al-Zarban et al, 2002 ; Boughachiche et al., 2005 ; Kitouni et al., 2005**).

Les sols des zones arides et semi-arides étaient supposés pendant longtemps, comme milieux stériles. Mais les travaux d'exploration ont montré qu'il existe des espèces microbiennes, qui s'adaptent aux conditions climatiques extrêmes (**Sasson, 1967**).

Les sols Sahariens de l'Algérie, bien que soumis à un climat aride à semi-aride, montrent une biodiversité surprenante d'actinomycètes, leur nombre dans ces écosystèmes telluriques dépend de la nature, de la profondeur, du pH, de l'humidité et de l'aération (**Larpent et Sanglier, 1989**).

Dans la même optique, l'intérêt d'étudier la distribution quantitative des actinomycètes dans les sols arides du Sahara Algérien est d'une importance environnementale, microbiologique et biotechnologique capitale. Les connaissances de cette répartition verticale selon les couches de surface ou de profondeur dans les sols, permettent dans les programmes d'isolement, de s'orienter et de choisir les endroits les plus riches par les actinomycètes et d'éviter ainsi ceux les moins peuplés par ces bactéries. Ces informations sont très bien connues dans les sols des zones humides, mais restent pratiquement dissimulés dans les sols des zones arides ou semi-arides. Nous avons voulu comparer le nombre d'actinomycètes dans deux sols qui proviennent de deux écosystèmes sahariens différents afin de voir également si cette distribution est stable ou variable selon les régions. Les deux écosystèmes choisis, sont particulièrement dures et extrêmes. La région de Biskra est une zone semi-aride caractérisée par son climat saharien, sec en été et très agréable en hiver. La pluviométrie est en moyenne entre 120 et 150 mm/an. La température moyenne sur toute l'année est de 20,9 °C (**site web 1**). La région El-oued se caractérise par un climat aride de type saharien désertique. En hiver

la température baisse au dessous de 0°C alors qu'en été elle atteint 50°C. La pluviométrie moyenne varie entre 80 et 100 mm/an (période d'Octobre à février) (**site web 2**).

Les objectifs majeurs tracés dans notre travail sont :

- L'isolement des actinomycètes à partir des différentes couches de sol dans les deux écosystèmes choisis,
- La détermination de la teneur en matière organique et l'étude de quelques caractères physico-chimiques des deux sols,
- Le dénombrement des actinomycètes dans les différentes couches des sols,
- La comparaison entre les nombres bactériens inter-écosystème selon les différentes couches,
- La comparaison de la distribution quantitative intra-écosystèmes selon les caractéristiques physico-chimiques du sol,

Pour atteindre ces objectifs, nous avons partagé notre travail en trois grandes parties.

La première partie présente une synthèse bibliographique qui regroupe deux chapitres, le premier sur les actinomycètes qui parle sur les caractères des actinomycètes, leur taxonomie et leur écologie ainsi que de leur importance dans les différents secteurs. Le deuxième chapitre est consacré aux caractéristiques des sols et la distribution des microorganismes dans ces derniers.

La deuxième partie est expérimentale. Elle présente les régions d'étude, les méthodes d'isolement des actinomycètes et la détermination de quelques propriétés physico-chimiques des sols utilisés dans cette étude.

La troisième partie de ce mémoire est consacrée aux résultats et à la discussion des résultats. Dans cette partie les comparaisons entre les nombres d'actinomycètes dans les différentes couches et selon les propriétés physico-chimiques du sol sont également réalisées.

*Revue
bibliographique*

*Chapitre I : Les
actinomycètes*

1. Historique

L'histoire des Actinomycètes se divise en cinq grandes catégories.

*La première, est celle de la découverte de leur rôle dans la pathologie et qui va de 1874 aux années 1990.

*La seconde période (1900-1919) se rapporte à la mise en évidence et à l'étude des actinomycètes du sol, avec les travaux de **Krausky**, de **Cohn**, de **Waksman** et de **Curtis**.

*C'est ensuite la période (1919-1940) au cours de laquelle une meilleure connaissance des germes a été acquise grâce aux recherches de **Waksman**, de **Lieske**, de **Krassilnikov** entre autres.

*La quatrième période, est celle des antibiotiques produits par les actinomycètes. Elle commence en 1940 et le nom de **Selman Waksman** lui est indissolublement lié (**Le minor, 1989**).

* La dernière époque historique : depuis les années 1960, l'essor des méthodes de génétique, initiées par Hopwood (**Chater, 1999 ; Hopwood, 1973**) puis de génomique (**Hopwood, 2003**) a révolutionné la classification des espèces (**Ventura et al., 2007**) et d'exploration du potentiel biotechnologique de ces microorganismes. Depuis, les actinomycètes ont été isolés des sols, des matières organiques en décomposition, des eaux, de presque tous les habitats où la vie est possible (**Theilleux, 1993 et bergey's manual, 2007 cité par Djinni, 2009**).

2. Définition et caractères généraux

Le mot « actinomycète » a été dérivé des mots grecs « Aktis » qui veut dire rayon et « mykes » qui veut dire champignon (**Andriambololona, 2010**) signifie "champignons rayonnants", expression également utilisée en anglais (ray fungi), en allemand et en russe (**Krassilnikov, 1938**). Les actinomycètes sont également connus sous le nom *Actinobacteria*. (**Perry et al., 2004**). La plupart des espèces sont immobiles, hétérotrophes mais certaines sont chimio-autotrophes (**Ensign et al., 1993**), aérobies, mésophiles et croissent de façon optimale dans la gamme de pH 5,0 à 9,0 avec une proximité optimale à la neutralité (**Williams et Wellington, 1982 ; Goodfellow et Williams, 1983**). Les actinomycètes se composent d'un grand nombre d'espèces de bactéries filamenteuses, gram positif. Cette aptitude à la filamentation et à la ramification permet la formation d'une structure appelée *mycélium*. La plupart des actinomycètes possèdent la propriété de sporuler, cependant, le mode de sporulation diffère et constitue un critère de classification (**Madigan et Martinko, 2007**), à taux élevés de (G+C) compris entre 60-70 % (**Pelmont, 2005**). Ils ont une croissance lente par rapport aux autres bactéries, le temps de génération moyenne est environ 2 à 3 heures

(Beckers *et al.*, 1982). Malgré leur aspect morphologique de type fongique, leur composition, leur physiologie et leur organisation cellulaire sont de type procaryote et confirment leur classification parmi les bactéries (Bousseboua, 2002).

Les actinomycètes sont abondamment répandus dans la nature où ils jouent un rôle très actif dans la biodégradation de la matière organique et dans la fertilisation des sols. Ils comprennent également des espèces pathogènes pour l'homme, l'animal et les végétaux, tel *mycobacterium tuberculosis* (agent de la tuberculose). Les actinomycètes et notamment le genre *streptomyces*, sont également d'importants producteurs de substances organiques complexes dont une large variété d'antibiotiques (Bousseboua, 2002).

3. Morphologie

Morphologiquement on peut rencontrer, en plus des filaments ramifiés, des bacilles et aussi des coccobacilles comme *Rhodococcus* et *Mycobactérium* (Avril *et al.*, 1992). Certains peuvent présenter un mycélium se développant sur et dans les milieux (mycélium végétatif ou mycélium de substrat) ou dans l'air au-dessus du substrat (mycélium aérien) (fig.1). Les filaments peuvent produire des spores soit isolées, soit groupées en chaînes ou même enfermées dans un sporange ou conidies qui libèrent des spores de formes variées, d'aspects lisses, ridées, etc....(tab.1)(Perry *et al.*, 2004).

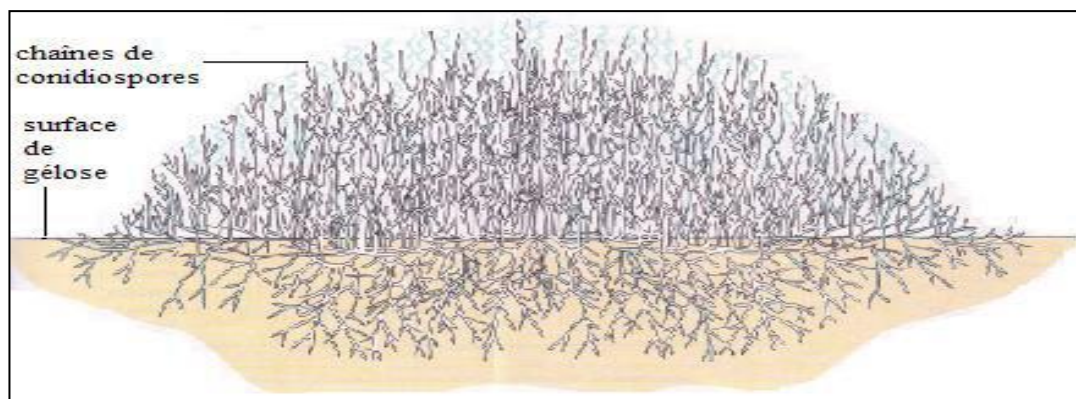


Figure 1 : Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes, la colonie est constituée d'hyphes aériens croissant activement et qui cannibalisent les hyphes végétatifs pour en capter les nutriments. Les hyphes vivants sont (bleus) et les hyphes morts sont (blancs) (Coyette et Mergeay, 2013).

Tableau 1 : Exemples de tailles de spores de quelques actinomycètes.

| Référence | Genre ou espèce | Grandeur mesurée | Valeur |
|---------------------------------|---|--|----------------------------------|
| Madelin et Johnson, 1992 | <i>Faeniarectivirgula</i> (= <i>Saccharopolysporarectivirgula</i>) | diamètre aérodynamique longueur x largeur | 1,1 à 1,5 µ m 0,8 x 0,8 µ m |
| | <i>Streptomycesalbus</i> | diamètre aérodynamique longueur x largeur | 1,2 à 2,1 µ m 0,7-1 x 0,7 µ m |
| | <i>Saccharomonosporaviridis</i> | diamètre aérodynamique longueur x largeur | 1,2 à 1,5 µ m 0,9 x 0,7 µ m |
| Grinshpun et al., 1997 | <i>Streptomycesalbus</i> | diamètre aérodynamique | 0,98 µ m |
| Reponen et al., 1998 | <i>Micromonosporahalophytica</i> | diamètre aérodynamique longueur x largeur | 1,28 µ m 0,72 x 0,55 µ m |
| | <i>Streptomycesalbus</i> | diamètre aérodynamique longueur x largeur | 0,85 µ m 0,84 x 0,68 µ m |
| | <i>Thermoactinomycesvulgaris</i> | diamètre aérodynamique longueur x largeur | 0,57 µ m 0,79 x 0,66 µ m |
| Reponen et al., 1998 | <i>Faeniarectivirgula</i> (= <i>Saccharopolysporarectivirgula</i>) | longueur x largeur | 1,5 x 0,7 µ m |
| | <i>Micromonosporahalophytica</i> | diamètre | 1,2 µ m |

Les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium). Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (**Lechevalier, 1985**). Il existe d'autres structures morphologiques: les sclérotés et les synnemas (corémies) qui sont présentes, respectivement, chez les *Chainia* et les *Actinosynnema*. La majorité des actinomycètes cultivés sur milieu solide forment un mycélium de substrat et un mycélium aérien. Néanmoins, il existe des groupes qui ne forment qu'un mycélium de substrat poussant à la surface et dans le milieu de culture ou un mycélium aérien dont les hyphes sont attachés au milieu par des crampons (**Kalatouskii et Agre, 1976**).

La composition de la paroi cellulaire des actinomycètes varie fortement d'un groupe à l'autre et prend une importance taxinomique considérable. On peut distinguer quatre types principaux de paroi sur la base de la structure du peptidoglycane et la teneur en sucre de la paroi cellulaire. Deux aspects de la structure du peptidoglycane sont utilisés : l'acide aminé en position 3 de la chaîne latérale térapeptidique. Et la présence de glycine dans les points interpeptidique. Les parois cellulaires contiennent, outre l'acide N-acétylmuramique et la N-acétylglucosamine trouvés dans le peptidoglycane (**Coyette et Mergeay, 2013**).

4. Caractères cultureux

Les meilleurs milieux de culture pour l'isolement des actinomycètes sont ceux contenant de l'amidon, du glycérol ou de la chitine comme source de carbone, la caséine, l'asparagine ou l'arginine comme source d'azote organique (**Burman, 1973 ; Williams et al., 1993 ; Hilali et al., 2002**).

Pour l'isolement des actinomycètes, les antibiotiques sont ajoutés dans les milieux sélectifs pour inhiber la croissance de certains germes indésirables. Les molécules les plus utilisées sont : la nystatine, le cycloheximide (Actidione), la pimaricine, l'amphotéricine B pour l'inhibition des champignons. La polymixine, la novobiocine, l'acide nalidixique, la colistine pour stopper les bactéries Gram négatif (**Nonomura et Hayakawa, 1988 ; Larpent et Larpent, 1990, Takizawa et al., 1993 ; Kurtboake et Wildman, 1998**). L'incubation se fait, généralement, à une température de 28°C ou 30°C qui favorise le développement des actinomycètes (**Burman, 1973**).

Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux d'isolement solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

*des colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.

*des colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.

*des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons. (**Kalakoutskii et Agre, 1976**)

Le diamètre des colonies est de 1 à 4 millimètres. Elles sont très souvent pigmentées en blanc, crème, jaune, violet, rose, gris, etc. (**Perry et al., 2004**).

En culture liquide sans agitation, les hyphes formés après la germination des spores montent en surface pour croître en contact de l'air (**Keulen et al., 2003**). Cependant, en milieu

liquide avec agitation, il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. (**Reichl et al., 1992; Tamura et al., 1997**).

5. Génétique et structure de l'ADN

Le matériel génétique des actinomycètes est constitué par l'ADN chromosomique ainsi que chez certaines souches par l'ADN plasmidique ou de l'ADN phagique. Un caractère majeur est la proportion élevée environ 70 % de guanine et cytosine (G+C) dans l'ADN de la plupart des actinomycètes (**Theilleux, 1993**). La taille de l'ADN des actinomycètes est de 3.7 Méga Daltons c'est à dire deux fois celui de *E.coli*, la durée de réplication de l'ADN est de 50 à 65 minutes. (**Larpent et al., 1989**).

6. Physiologie

La croissance des actinomycètes est influencée par plusieurs paramètres physiologiques en particulier: l'oxygène, le pH, la température...etc.

6.1. L'oxygène : les actinomycètes peuvent être séparés en deux groupes : les formes oxydatifs aérobies, qui se trouvent essentiellement dans le sol et les formes fermentatifs anaérobies strictes ou facultatives, qui vivent dans les cavités naturelles de l'homme et des animaux. (**Silini, 2012**).

6.2. Le pH : Les actinomycètes préfèrent un pH neutre (**Omura, 1992**), dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8, mais on peut observer une croissance à des valeurs de pH inférieurs à 4 (**McKinney, 2004**), telle est le cas pour les souches acidophiles comme le genre *Streptacidiphilus* (**Wang et al., 2006**).

6.3. La température : La température optimale de croissance est entre 25 à 30 C°, mais les espèces thermophiles peuvent croître à des températures de 55 à 65 C° (**Rangaswami et al., 2004**).

6.4. L'activité de l'eau (Aw) : La germination des spores de la plupart des actinomycètes, peut être observée à des valeurs d'activité d'eaux supérieures ou égales à 0.67, l'activité d'eau optimale pour la croissance et le développement des actinomycètes est égal à 0,98 (**Zvyagintsev et al., 2005**).

6.5. Tolérance en NaCl

Selon leurs exigences en NaCl, les microorganismes sont divisés en deux groupes :

- Les halophiles ont besoin de sel (NaCl) pour leurs croissances,
- Les halotolérants acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leurs croissances (**Nanjani, 2011**).

6.6. Source d'énergie

Ce sont généralement des organismes hétérotrophes, qui ont des exigences réduites et tirent leur énergie à partir d'une source très variée de substrats azotés et carbonés. En conséquence, ils sont très largement distribués dans la nature. De nombreuses espèces sont fortement protéolytiques et agarolytiques (**Hsu et Lockwood, 1975**).

7. Cycle biologique

Les actinomycètes possèdent une structure de procaryotes mais un cycle biologique semblable à certains champignons (**Boudemagh, 2007**). De nombreux actinomycètes ont un cycle biologique complexe (**fig. 2**). Le cycle biologique de nombreux actinomycètes comprend le développement de cellules filamenteuses, appelées hyphes, et de spores (**Coyette et Mergeay, 2013**). Il débute par la germination d'une spore, qui donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes qui se ramifie (**Kim et al., 2004 ; Smaoui, 2010**). La germination des spores passe par quatre étapes : L'activation, l'initiation, l'émergence du tube digestif et enfin la croissance. Dans certains cas, un choc thermique induit l'activation, par exemple un traitement de 5 minutes à 50 °C pour les spores de certaines espèces de *Streptomyces*. Le tube de germination croît et donne des hyphes qui se ramifient intensément (**Boudemagh, 2007**).

Lorsqu'ils croissent sur un substrat solide comme le sol ou la gélose, les actinomycètes développent un réseau ramifié d'hyphes qui poussent à la fois à la surface et à l'intérieur du substrat pour former un tapis dense d'hyphes, qu'on appelle mycélium végétatif (ou de substrat). Des septums divisent habituellement les hyphes en longues cellules (20 µm de longueur et plus) contenant plusieurs nucléotides. Chez beaucoup d'actinomycètes, les hyphes végétatifs se différencient en hyphes qui poussent vers le haut et forment un mycélium aérien qui s'élève au-dessus du substrat. C'est à ce moment-là que les composés médicalement utiles sont synthétisés (**Coyette et Mergeay, 2013**).

Les hyphes aériens forment par séparation des spores à paroi mince. Ces spores sont considérées comme des exospores, parce qu'elles ne se développent pas dans une cellule mère, comme les endospores de *Bacillus* et de *Clostridium*. Si les spores sont localisées dans un sporange, on peut parler de sporangiospores. Ces spores peuvent avoir des formes fortes variables. Comme pour la formation de spore chez les autres bactéries, la sporulation actinomycétale répond habituellement à une privation en éléments nutritifs. La plupart des spores d'actinomycètes ne sont cependant pas particulièrement résistantes à la chaleur, mais elles supportent bien la dessiccation. La plupart des actinomycètes ne sont pas mobiles, leurs

spores se dispersent grâce au vent ou en adhérant à des animaux. Ils peuvent, de cette façon trouver un nouvel habitat qui leur fournira la nourriture nécessaire. Chez les genres, peu nombreux, doté de mobilité, celle-ci est limitée aux spores flagellées (Coyette et Mergeay, 2013).

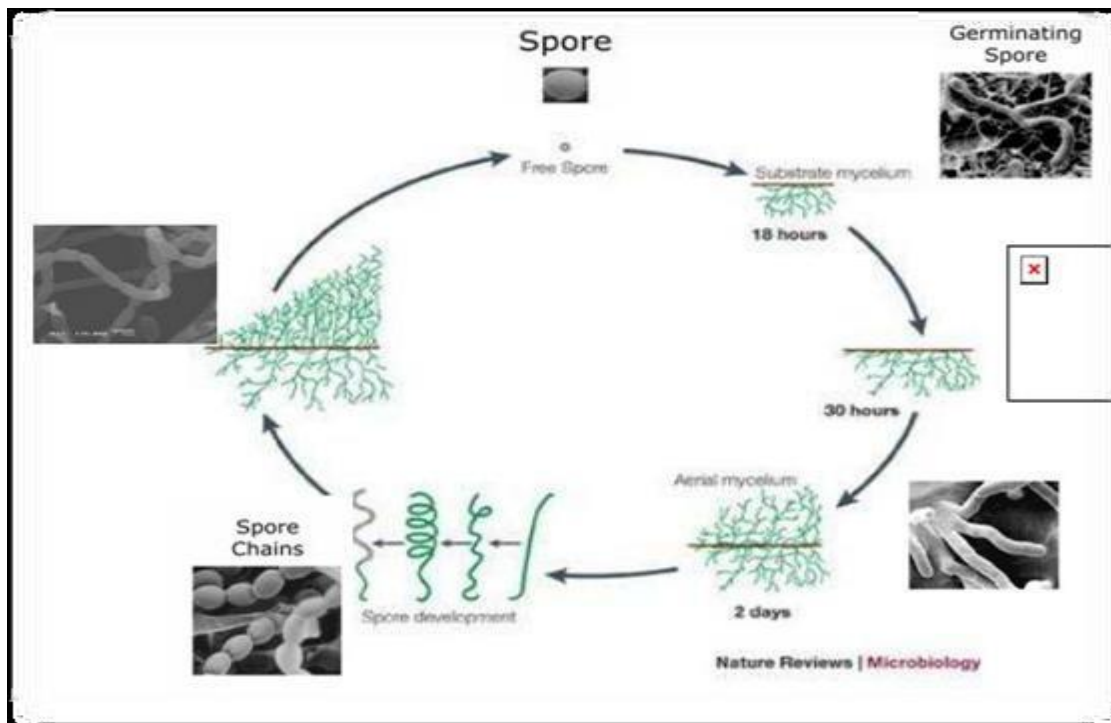


Figure 2: Cycle de développement des actinomycètes sur milieu solide (Breton et al., 1989)

8. Taxonomie des actinomycètes

La taxonomie des actinomycètes a beaucoup évolué au cours des vingt à trente dernières années en même temps qu'évoluait le nombre de genres d'actinomycètes (Zermane, 2007). Actuellement, le phylum Actinobacteria tel qu'il figure dans le Bergey's manual (2007) renferme une seule classe : Actinobacteria, cette classe est subdivisée en 5 sous classe, 6 ordres, 13 sous ordre (dont 9 appartiennent à l'ordre des Actinomycétales), 41 familles, 193 genres et près de 1711 espèces (Ventura et al., 2007). On peut distinguer les sous-ordre et on décrira aussi brièvement l'ordre des *Bifidobacteriales* comme suivant :

- **Le sous-ordre des *actinomycineae***

Dans le sous-ordre des *actinomycineae*, il ya une seule famille de Cinque genres : *Actinomyces*, *Actinobaculum*, *Arcanobacterium*, *Mobiluncus* et *Vabriobaculum*. La plupart sont des bâtonnets Gram-positives, non sporulants, de forme irrégulière, au métabolisme aérobies ou facultatif (Coyette et Mergeay 2013).

Les membres du genre *Actinomyces* sont soit des bâtonnets droits ou légèrement incurvés dont la forme varie considérablement, soit de minces filaments avec de vraies ramifications. Ce sont des anaérobies facultatifs ou stricts. Les espèces d'*Actinomyces* habitent normalement les surfaces muqueuses chez les hommes et autres animaux à sang chaud. *Actinomyces* provoque chez l'homme des actinomycoses (**Coyette et Mergeay, 2013**).

- **Le sous-ordre des *Micrococcineae***

Comprend 14 familles et une grande variété de genres. Deux des genres les mieux connus sont *Micrococcus* et *Arthrobacter*.

Le genre *Micrococcus* contient des coques aérobies catalase-positives, qui se présentent le plus souvent en paire, en tétrades ou en amas irréguliers ; elles sont généralement non mobiles. Les colonies de microcoque sont souvent jaunes, oranges ou rouges. Ce sont des organismes très répandus dans le sol, dans l'eau et sur la peau des mammifères.

Le genre *Arthrobacter* contient des bâtonnets aérobies, catalase-positifs, avec un métabolisme respiratoire et de lysine dans leur peptidoglycane. Le caractère le plus distinctif est un cycle de développement bâtonnet-coque. Bien que les *Arthrobacter* se trouvent dans les poissons, les eaux usées, sur les plantes, leur principal habitat est le sol, où ils constituent un composant important de la flore microbienne (**Coyette et Mergeay, 2013**).

Un troisième genre dans ce sous-ordre : *Dematophilus* (type HIB) peut former aussi des amas de spores mobiles grâce à des touffes de flagelles. Anaérobies facultatif est un parasite des mammifères, responsable d'une infection de la peau, la streptothricose (**Coyette et Mergeay, 2013**).

- **Le sous-ordre des *Corynebacterineae***

Ce sous-ordre contient sept familles et plusieurs genres bien connus. *Corynebacterium*, *Mycobacterium* et *Nocardia* sont trois des genres les plus importants. La famille des *Corynebacteriaceae* ne compte qu'un genre, *Corynebacterium*, qui comprend des bâtonnets droits à légèrement incurvés souvent avec des extrémités effilées, aérobies et anaérobies facultatifs, catalase-positifs. Beaucoup de corynébactéries sont pathogènes pour les végétaux ou les animaux (**Coyette et Mergeay, 2013**).

La famille des *Mycobacteriaceae* contient un genre *Mycobacterium*, fait de bâtonnets légèrement incurvés ou droits qui parfois se ramifient ou forment des filaments. Les filaments mycobactériens diffèrent de ceux des actinomycètes, car ils se fragmentent facilement en bâtonnets et formes coccoïdes lorsqu'ils sont perturbés. Ce sont des aérobies catalase-positifs. Les mycobactéries croissent très lentement et doivent être incubées de deux à quarante jours après inoculation, sur un milieu complexe solide, pour former une colonie visible. Les

mycobactéries possèdent une vraie membrane externe .la paroi des mycobactéries est acido-résistante. Bien que certaines soient des saprophytes libres, les mycobactéries les mieux connues sont des pathogènes des animaux (**Coyette et Mergeay, 2013**).

La famille des *Nocardiaceae* se compose de deux genres, *Nocardia* et *Rhodococcus*. (**Coyette et Mergeay, 2013**).

Le genre *Nocardia* est répandu dans les habitats terrestres et aquatiques du monde entier. Les nocardies interviennent dans la dégradation des hydrocarbures et des cires et peuvent contribuer à la biodétérioration des joints en caoutchouc dans les conduites d'eau potable et d'égouts. La plupart vivent en saprophytes libres (**Coyette et Mergeay, 2013**).

Rhodococcus est très répandu dans les habitats terrestres et aquatiques.les membres du genre peuvent dégrader une énorme variété de molécules, comme les hydrocarbures, les détergents, les biphényles et divers pesticides. Il pourrait être possible d'utiliser les rhodocoques pour éliminer le soufre des carburants et réduire ainsi la pollution de l'air (**Coyette et Mergeay,2013**).

- **Le sous-ordre des *Micromonosporineae***

Le sous-ordre des *Micromonosporineae* ne contient qu'une seule famille les *Micromonosporaceae*. Parmi les genres, on compte *Micromonospora*, *Dactylosporangum*, *Pilielia* et *Actinoplanes*. On fait souvent référence à cette famille sous le nom collectif d'actinoplane [du grec *actinea*, rayons ou faisceau, et *planes*, vagabond].les actinoplanètes ont un mycélium végétatif étendu et les cellules ont une paroi de type II D (**Coyette et Mergeay, 2013**).

Le mycélium aérien est normalement absent ou rudimentaire. Les spores sont mobiles ou non. Ces bactéries varient dans la disposition et le développement de leurs spores .Certains genres (*Actinoplanes*, *Pilimelia*) présentent des sporanges sphériques, cylindriques ou irréguliers contenant de quelques spores à plusieurs milliers par sporange.

Dactylosporangum produit des sporanges en forme de massue, de doigt ou de poire, qui contiennent de 1 à 6 spores .*Micromonospora* porte des spores isolées qui apparaissent souvent sur des ensembles ramifiés de sporophores (**Coyette et Mergeay,2013**).

Les actinoplanètes se développent dans presque tous les biotopes du sol, depuis la litière forestière jusqu'au sable des plages, dans les eaux douces, particulièrement dans les ruisseaux et les rivières. On. *pilimelia* croît là où il y a de la kératine. *Micromonospora* dégrade activement la chitine, et produit des antibiotiques comme la gentamycine (**Coyette et Mergeay, 2013**).

- **Le sous-ordre des *Propionibacterineae***

Ce sous-ordre comprend deux familles et 14 genres. Le genre *Propionibacterium* contient des bâtonnets pléomorphes, non mobiles ou sporulants, souvent en forme de massue avec une extrémité elles et l'autre arrondie. Les cellules peuvent aussi être coccoïdes ou ramifiée. Les genres est anaérobie facultatif ou aérotolérant ; il fermente le lactose et les sucres et produit de grandes quantités d'acides propionique et acétique, et souvent du dioxyde de carbone. *Propionibacterium* est catalase-positif. On trouve ce genre en développement sur la peau et dans le système digestif des animaux, ainsi que dans les produits laitiers comme le fromage (Coyette et Mergeay, 2013).

- **Le sous-ordre des Streptomycienseae**

Le sous-ordre des *Streptomycienseae* ne comprend qu'une famille les *Streptomycetaceae*, et trois genres dont le plus importantes est *streptomyces*. Ces bactéries ont des hyphes aériens qui se divisent en un seul plan pour former des chaînes de 5 à 50 spores et plus non mobiles. Toutes possèdent une paroi cellulaire de type I et un contenu en G+C de 69 à 78 moles %. On désigne souvent les membres de cette famille et les bactéries similaires sous le terme de **streptomycètes** (du grec *streptos*, courbé ou tordu et *myces*, champignon) (Coyette et Mergeay, 2013).

Le genre *streptomyces* est immense. On y trouve environ 150 espèces. Les membres du genre sont des aérobies stricts. On distingue les espèces du genre *Streptomyces* grâce à un ensemble de caractéristique morphologiques et physiologiques incluant : la couleur du mycélium aérien et végétatif, la disposition des spores, les caractères de surface des spores, l'utilisation des hydrates de carbone, la production d'antibiotiques, la synthèse de mélanine, la réduction du nitrate et l'hydrolyse de l'urée et de l'acide hippurique (Coyette et Mergeay, 2013).

Les streptomycètes sont très importants d'un point de vue écologique comme d'un pont de vue médical. L'habitat naturel de la majorité d'entre eux est le sol, où ils peuvent représenter de 1 à 20 % de la population cultivable. En fait, l'odeur de terre humide est en grande partie due à la production par les streptomycètes, de substances volatiles. Comme la géosmine. Ces micro-organismes jouent un rôle majeur dans la minéralisation (Coyette et Mergeay, 2013).

- **Le sous-ordre des streptosporangineae**

Le sous ordre des *streptosporangineae* contient trois familles et 16 genres. La famille inclut les maduromycètes qui des parois cellulaire de type III et du madurose (3-O-méthyl-D-galactose), un dérivé glucidique, dans les homogénats de cellule entière. Leur contenu en G+C varie de 64 à 74 moles %. Les hyphes aériens portent des paires ou de courtes chaînes

de spores et les hyphes végétatifs sont ramifiés. Certains genres forment des sporanges. Comme *S. somaliensis*, *Actinomadura* est associé à des actinomycétomes (**Coyette et Mergeay, 2013**).

- **Le sous-ordre des *Frankineae***

Comprend les genres *Frankia* et *Geodermatophilus*. Tous deux forment des sporanges multiloculaires, caractérisées par des amas de spores. (Multiloculaire signifie que le sporange comporte de nombreuses cellules ou compartiments). Ils ont des parois cellulaires de type III. Le contenu en G+C varie de 57 à 75 moles %. *Geodermatophilus* (type III C) donne des spores mobiles et est un organisme aérobic du sol. *Frankia* (type III D) forme des spores non mobiles dans un corps sporogène. Cet organisme microaérophile capable de fixer l'azote atmosphérique croît en association symbiotique avec les racines d'au moins huit familles de plantes supérieures non légumineuses (**Coyette et Mergeay, 2013**).

Un autre genre de ce sous ordre, *sporichthya*, est un des actinomycètes les plus étranges. Il est dépourvu de mycélium végétatif (**Coyette et Mergeay, 2013**).

- **L'ordre des *Bifidobacteriales***

Ne compte qu'une famille, les *Bifidobacteriaceae*, et 10 genres. On trouve *Falcvibrio* et *Gardnerella* dans le système uro-génital des humains. *Bifidoacterium* est probablement le genre le mieux étudié de cet ordre. Les bifidobactéries sont des bâtonnets Gram-positifs, non sporulants, non mobiles, de formes variées, Elles sont souvent ramifiées. En fait plusieurs espèces sont commercialisées comme agents probiotiques qui passent pour avoir des effets bénéfiques sur la santé (**Coyette et Mergeay, 2013**).

9. Distribution dans la nature

Les actinomycètes sont retrouvés presque partout dans la nature. Ils constituent une part importante de la microflore tellurique: 10 à 20% ou parfois plus (**Dommergues et Mangenot, 1970; Ishizawa et Araragi, 1976**).

Les actinomycètes sont très largement distribués dans la nature et principalement dans les sols de différentes natures(**Tab.2**). Ils ont été trouvés dans les eaux douces ou salées, dans les compostes, dans l'atmosphère et dans les substrats les plus divers. Dans le sol, ils sont présents depuis la surface jusqu'à plus de 2 mètres de profondeur (**Goodfellow et Williams, 1983**).

Tableau 2 : Répartition de quelques genres d'actinomycètes par type d'habitat (Goodfellow et Williams, 1983).

| Genre | Habitat |
|--------------------------|---|
| <i>Actinomadura</i> | Sol |
| <i>Actinoplane</i> | Sol, Eau, Litière |
| <i>Frankia</i> | Nodules des racines |
| <i>Microbiospora</i> | Sol |
| <i>Micromonospora</i> | Sol, Eau |
| <i>Rhodococcus</i> | Sol, Eau, Fumier, Litière, Matière en décomposition |
| <i>Saccharomonospora</i> | Sol, Eau, Litière |
| <i>Streptomyces</i> | Sol et Eau |
| <i>Streptosporangium</i> | Matière en décomposition et en fermentation |

10. Ecologie des actinomycètes

Plusieurs travaux relativement nombreux, montrent la présence des actinomycètes dans différents écosystèmes.

- **Dans le sol**

Les actinomycètes sont largement répandus dans tous les sols à l'exception des sites exposés à des conditions trop extrêmes. Ils sont surtout présents dans la couche comprise entre la surface du sol et jusqu'à 2 mètres de profondeur. Ils produisent des substances spécifiques telles que la géosmine et le 2-méthyl isobornéol qui sont responsable de l'odeur d'humus caractéristique des sols (Zaitlin et al., 2003). Leur nombre varie dans de fortes proportions selon les cas mais il est courant dans des terres fertiles de dénombrer 10^6 unités formatrices de colonies par gramme de terre sèche. Les actinomycètes sont généralement moins nombreux que les autres bactéries mais plus nombreux que les champignons. Leurs proportions par rapport aux autres microorganismes entre 10 et 50%. Les genres *Streptomyces*, *Nocardia* et *Micromonospora* sont les plus fréquents, le genre *Streptomyces* couvre à lui seul 95 % des souches d'actinomycètes isolées (Lechevalier et Lechevalier, 1967).

Tableau 3 : Fréquence des divers genres d'actinomycètes dans le sol (Lechevalier et Lechevalier, 1967).

| Genre | Pourcentage |
|--------------------------|-------------|
| <i>Streptomyces</i> | 95,34 |
| <i>Nocardia</i> | 1,98 |
| <i>Micromonospora</i> | 1,4 |
| <i>Thermomonospora</i> | 0,22 |
| <i>Actinoplanes</i> | 0,20 |
| <i>Microbispora</i> | 0,18 |
| <i>Mycobacterium</i> | 0,14 |
| <i>Streptosporangium</i> | 0,10 |
| <i>Actinomadura</i> | 0,10 |
| <i>Micropolyspora</i> | 0,10 |
| <i>Pseudonocardia</i> | 0,06 |
| <i>Microellobosporia</i> | 0,04 |

- **Dans les sédiments**

En 1991 (Jensen et al.) ont isolés les actinomycètes à partir de sédiments marins près de la rive collectés dans 15 établissements insulaires dans les Bahamas. Un total de 289 colonies d'actinomycètes a été observé, et tous, sauf 6, pourraient être affectés aux groupes supragénéralisés actinoplanètes et streptomycètes. Une distribution bimodale dans la population d'actinomycètes par rapport à la profondeur a été enregistrée, les nombres maximaux se produisant dans les sites d'échantillonnage peu profonds et profonds. Cette répartition s'explique par une diminution rapide des streptomycètes et une augmentation de l'actinoplanète avec une profondeur croissante et n'est pas conforme à la théorie selon laquelle les actinomycètes isolés des sources marines sont d'origine terrestre. Soixante-trois des actinomycètes isolés ont été testés pour les effets de l'eau de mer sur la croissance. La croissance de *Streptomyces* dans les milieux non salés a été réduite de 39% par rapport à celle de l'eau de mer. Les actinoplanètes présentaient un besoin presque obligatoire d'eau de mer pour la croissance, et ceci est présenté comme preuve que les actinomycètes peuvent être physiologiquement actifs dans le milieu marin. Les problèmes rencontrés avec l'énumération des actinomycètes dans les sédiments marins sont également discutés.

En 2006 (Wasu et al.) ont isolé trente-huit actinomycètes à partir de sédiments prélevés dans la fosse Mariana (10 898 mètres) en utilisant de l'agar marin et des milieux sélectifs pour les actinomycètes, notamment la gélose raffinose-histidine. Les isolats ont été attribués à la classe *Actinobacteria* en utilisant des amorces spécifiques pour les membres de ce taxon. L'analyse phylogénétique basée sur le séquençage du gène ARNr16S a montré que les isolats appartenaient aux genres *Dermaococcus*, *Kocuria*, *Micromonospora*, *Streptomyces*, *Tsukamurella* et *Williamsia*.

- **Dans l'eau**

En 2002 (Tracy et al.) ont trouvé un taxon important de bactéries marines obligatoires de l'ordre *Actinomycetales* dans les sédiments de l'océan. Les populations de ces bactéries sont persistantes et répandues, couvrant au moins trois systèmes océaniques distincts. Dans cette étude, 212 isolats d'actinomycètes possédant des morphologies examinées et tous sauf deux ont présenté une exigence obligatoire de l'eau de mer pour la croissance. Quarante-cinq de ces isolats, représentant tous les morphotypes observés nécessitant de l'eau de mer, ont été partiellement séquencés et ont révélé qu'ils partagent des nucléotides de signature d'ARNr de petite sous-unité caractéristiques entre les positions 207 et 468 (*Escherichia coli* numérotage). La caractérisation phylogénétique de sept isolats représentatifs à partir de séquences presque complètes des gènes codant pour l'ARNr 16S (ADNr 16S) ont produit un clade monophylétique dans la famille *Micromonosporaceae* et suggère la nouveauté au niveau du genre. C'est la première preuve de l'existence de populations d'actinomycètes marins obligatoires.

En 2004 (Magarvey et al.) montrent que une procédure d'enrichissement sélectif unique a permis d'isoler et d'identifier deux nouveaux genres d'actinobactéries dérivées du milieu marin. Environ 90% des microorganismes cultivés en utilisant les méthodes étaient des nouveaux genres prospectifs, un résultat indicatif de sa sélectivité élevée. Dans cette étude, 102 actinomycètes ont été isolés à partir de sédiments marins subtidiaux recueillis à partir de la mer de Bismarck et de la mer de Salomon au large de la côte de Papouasie-Nouvelle-Guinée. Une combinaison de paramètres physiologiques, de caractéristiques chimiotaxonomiques en distinguant les séquences de gène 16S ARNr, et l'analyse phylogénétique basée sur les gènes 16S ARNr fourni des preuves solides pour les deux nouveaux genres au sein de la famille des *Micromonosporaceae*.

En 2005 (Jensen et al.) ont cultivé les actinomycètes à partir de 275 échantillons marins collectés autour de l'île de Guam à l'aide de divers médias et de techniques d'isolement sélectif. Au total, 6425 colonies d'actinomycètes ont été observées et 983 (15%) de celles-ci,

représentant la gamme de diversité morphologique observée pour chaque échantillon, ont été obtenues en culture pure. La majorité des souches isolées (58%) ont besoin d'eau de mer pour la croissance, ce qui indique un degré élevé d'adaptation marine. L'actinomycète dominant récupéré (568 souches) appartenait au taxon marin «*Salinospora*», un nouveau genre au sein de la famille des *Micromonosporaceae*. Une description formelle de ce taxon a été acceptée pour publication et comprend une révision de l'épithète générique de *Salinisporagen*. Les membres de deux nouveaux clades majeurs liés à *Streptomyces spp.* ont été cultivés et semblent représenter de nouveaux genres dans les *Streptomycetaceae*. Au total, cinq nouveaux phylotypes marins, dont deux dans les *Thermomonosporaceae* qui semblent représenter de nouveaux taxons, ont été obtenus en culture. Ces résultats confirment l'existence de populations taxonomiquement diverses d'actinomycètes phylogénétiquement distincts résidant dans le milieu marin. Ces bactéries peuvent être facilement cultivées en utilisant des milieux nutritifs faibles et représentent une ressource inexplorée pour la découverte de médicaments pharmaceutiques.

- **Dans l'air**

En 1988 (Lacey et Crook) ont montré que les spores de champignons et d'actinomycètes sont presque toujours présentes dans l'air, mais leur nombre et leur type diffèrent selon l'heure du jour, le temps, la saison et l'emplacement (surtout si les sources de spores sont grandes et voisines). Sans une source de spores dans un bâtiment, les nombres à l'intérieur sont généralement plus petits que l'extérieur, mais les types trouvés sont similaires. L'exposition la plus lourde aux spores aéroportées se retrouve souvent sur le lieu de travail. Les sources importantes sont les cultures agricoles, en particulier pendant la récolte ou pendant la manipulation et le traitement après le stockage. Les champignons, les actinomycètes, le bois pour le bois ou la pâte à papier, les composts, la transformation des aliments et, de plus en plus, les procédés biotechnologiques. Bon nombre des spores concernées ont un diamètre de 1 à 5 μm et peuvent représenter jusqu'à 10^{10} spores m^{-3} d'air. Bon nombre des organismes trouvés sont des allergènes bien connus et ont été impliqués dans l'asthme professionnel ou l'alvéolite allergique extrinsèque. Certains peuvent également provoquer une infection, par ex. *Aspergillus fumigatus*, ou transporter des mycotoxines, par ex. *Aspergillus flavus*, alors qu'une exposition très intense peut provoquer un «syndrome de poussière organique toxique». Les facteurs importants dans le développement de l'asthme professionnel et de l'alvéolite allergique sont la prédisposition et la nature, l'intensité et la durée de l'exposition. Des exemples d'exposition à des spores fongiques et actinomycètes dans différents milieux professionnels sont décrits.

11. Importance des actinomycètes

11.1. Rôle des actinomycètes dans la bio remédiation

L'un des problèmes les plus urgents du monde est la décontamination des sols pollués par différentes substances toxiques comme les hydrocarbures qui sont considérés comme les principaux polluants de l'environnement (Daane *et al.*, 2001; Chaudhary *et al.*, 2011), en utilisant des biotechnologies écologiquement sûres. La biorestauration est une méthode généralement basée sur l'activation de la microflore endémique et l'introduction de microorganismes adaptés à l'environnement. À cet égard, l'utilisation de microorganismes extrêmophiles, parmi eux halophiles, alkaliphiles et thermophiles, adaptés aux conditions locales de l'environnement, est la plus efficace. L'utilisation d'actinomycètes halophiles capable de décontaminer les sols d'hydrocarbures pétroliers (hexane, benzène, naphthalène, pétrole brut) a fait l'objet d'études qui ont donné des résultats positifs (Margesin et Schinner, 2001). Les actinomycètes utilisés sont *Nocardiopsis* sp. NCIM 5124 (Dixit et Pant, 2000), *Streptomyces streptomycini*295H et *Streptomyces* sp. 278H (Gurielidze *et al.*, 2009).

11.2. Utilisation des actinomycètes dans la décomposition des polymères complexes

La diversité de la forme dans les Actinomycetales est bien reconnue, en raison de la production soutenue d'isolats environnementaux pour le dépistage pharmaceutique. Les actinomycètes isolés du sol et des substrats apparentés présentent une activité biodegradative primaire, sécrétant une gamme d'enzymes extracellulaires et présentant la capacité de métaboliser les molécules récalcitrantes. Le compostage est un processus qui repose largement sur une telle activité actinomycète prolifique. Parmi les actinomycètes présents dans le sol, il existe des exemples de stratégies différentes, allant des cycles de prolifération et de sporulation rapides au maintien des populations par croissance lente prolongée, et les preuves à cet égard sont examinées. Les mécanismes de dégradation de la lignocellulose par les actinomycètes sont discutés en relation avec la conservation fonctionnelle au sein du groupe et les corrélations avec celles décrites dans d'autres bactéries et champignons (McCarthy et Williams, 1992).

11.3. Utilisation des actinomycètes dans la dégradation de la lignocellulose

Les actinomycètes constituent une communauté microbienne responsable du recyclage des nutriments dans des substrats naturels. La caractérisation de l'activité cellulolytique des actinomycètes a bien entendu reçu la plus grande attention puisque la cellulose est la principale composante de la biomasse végétale. Les cellulases actinomycètes sont des cellules

extracellulaires indicibles enzymes qui semblent attaquer la cellulose dans de la même manière que les cellulases hydrolytiques fongiques. Les xylanases d'actinomycètes se conforment les modes de production et d'activité de base établis dans d'autres bactéries et champignons, mais ils ont été relativement peu étudiée. La preuve de l'activité des actinomycètes contre la lignine n'a été obtenue que récemment, avec le développement de radiométriques qui permettent la détection de l'activité ligninolytique limitée (McCarthy, 1987).

Quarante-deux isolats d'actinomycètes cellulolytiques ont été récupérés à partir du sol. Ceux-ci ont été identifiés au niveau du genre comme: *Streptomyces* (26 isolats), *Nocardiopsis* (5 isolats), *Micromonospora* (4 isolats), *Nocardioides* (4 isolats) en plus de trois isolats identifiés provisoirement comme *Nocardia*, *Kibdelosporangium* et *Saccharomonospora*. Ces actinomycètes ont été examinés pour leur activité cellulolytique en utilisant des bandes de papier filtre et des morceaux de paille de riz. Quatre isolats des quatre genres *Kibdelosporangium*, *Micromonospora*, *Streptomyces* et *Nocardioides* ont permis de dégrader efficacement les morceaux de paille de riz en milieu minimal, ce qui entraîne une perte de poids significative entre 50 et 61%. L'application de cette connaissance peut améliorer la gestion des déchets de paille de riz (Abdulla et El-Shatoury, 2007).

*Chapitre II : Sol
et
microorganismes*

1. Définition et caractéristiques du sol

Le sol est un environnement complexe caractérisé par une grande diversité d'organismes (notamment les microorganismes) et les composés chimiques et par la structure physique complexe (**Wild, 1993**). C'est un véritable laboratoire biologique où se déroulent des réactions qu'on ne trouve nulle part ailleurs (**Pedro, 1996**). Le sol ne constitue pas un environnement homogène, mais une mosaïque d'habitats avec pour chacun des populations microbiennes propres, le nombre et le type d'organismes varient d'un système et d'un milieu à l'autre. Le nombre, la composition et la diversité des espèces dans un sol donné dépendent de nombreux facteurs, notamment l'aération, la température, l'acidité, l'humidité, la teneur en éléments nutritifs et en substrat organique. La rhizosphère représente un compartiment d'intérêt majeur (**Marilley et al., 2007**). Le sol désertique est caractérisé par des conditions climatiques extrêmes, les sels minéraux bruts sont très peu évolués. Le processus chimique d'altération des roches et des minéraux y sont très peu développés et des désagréations sont au contraire dominantes (**Aubert, 1960**)

2. Les composants du sol

2.1. Constituants minéraux

Les constituants minéraux du sol sont primaires, hérités directement de la roche-mère, ou secondaires, issus de la transformation chimique des précédents et réunis alors dans le complexe d'altération. Celui-ci comporte des sels (ex. carbonates de calcium ou de magnésium) ou des silicates (ex. micas et argiles) ; ces dernières sont des colloïdes, comme les hydroxydes de fer ou d'aluminium, autres minéraux secondaires (**Gobat, 2003**).

2.2. Constituants organiques

Concernant l'humus (constituants organiques), il contient les produits de décomposition partielle des végétaux, ainsi certaines matières végétales peu dégradables comme la lignine ou les acides humiques (**Jerome et al., 2004**).

3. Principaux critères d'évaluation à observer dans un sol

3.1. L'humus

L'analyse de l'humus est indispensable en milieu forestier car elle nous renseigne sur la vitesse de dégradation de la matière organique (son *turn-over*). En fait, les feuilles des arbres ont des compositions chimiques différentes qui influencent directement le sol sous-jacent (**Ardouin et Bourgogne, 2012**).

3.2. Texture et structure des horizons

La texture dépend du matériau parental en place. Elle conditionnera la porosité et l'aération du sol ainsi que sa capacité de rétention en eau (**RUm**). La structure, qui est un paramètre difficile à appréhender, témoigne des conditions pédochimiques et de l'activité du vivant dans le sol (**Ardouin et Bourgogne, 2012**).

3.3. La couleur des horizons

C'est un des critères fondamentaux. Elle donne de précieuses indications sur la présence de matière organique, de fer (sous différentes formes) et sur la dynamique de l'eau dans le *solum* (**Ardouin et Bourgogne, 2012**).

3.4. La succession des horizons

Chaque horizon se distingue par sa couleur, sa texture et sa structure. Leur empilement forme le *solum*, qui permet ensuite de déduire le processus pédogénétique en place (**Ardouin et Bourgogne, 2012**).

3.5. La profondeur de la rhizosphère

C'est une grandeur importante pour calculer la capacité de sol de rétention en eau (la réserve utile maximale des sols « **RUm** ») en la corrélant avec la texture et la charge en éléments grossiers (**Ardouin et Bourgogne, 2012**).

3.6. Le pH

Le pH renseigne sur le processus pédogénétique en place ainsi que sur son état trophique. C'est une grandeur fréquemment utilisée en foresterie ou agronomie (**Ardouin et Bourgogne, 2012**).

3.7. La pétrologie

L'étude de la texture de la roche en place et de ses minéraux donne des indications sur son produit d'altération donc sur les propriétés du sol : vitesse d'évolution, épaisseur, texture de l'horizon, fertilité (**Ardouin et Bourgogne, 2012**).

4. Les microorganismes du sol et leur rôle

Le monde microscopique se divise, lui aussi, en animaux et végétaux. Les premiers ayant surtout comme rôle de manger les seconds. Les animaux microscopiques les plus importants du sol sont les amibes, dont il existe cent à trois cents kilos par hectare et qui sont présents dans le monde entier. Certaines espèces mangent la matière organique et d'autres mangent les bactéries. Cette action carnassière est très utile, car elle permet aux populations microbiennes de rester en bonne santé, en éliminant les corps microbiens en excès et surtout en libérant des niches écologiques pour d'autres espèces microbiennes. Ainsi, par exemple, lorsqu'un brin de paille tombe au sol, il est d'abord attaqué par les bactéries capables de

dégrader la cellulose et qui pullulent sur les fibres cellulosiques de la paille. Puis, les amibes mangent ces bactéries et libèrent les fibres de lignine, permettant ainsi aux champignons qui dégradent celles-ci d'intervenir. Sans l'action de ces amibes, les champignons seraient gênés par les bactéries de la cellulose et ne pourraient pas attaquer les fibres de lignine. Les amibes sont donc les régulatrices du monde microbien (**Bourguignon, 2008**)

Les agents de la microflore du sol se divisent en cinq groupes : les algues, les champignons, les bactéries filamenteuses ou actinomycètes, les bactéries et les protozoaires (**Bourguignon, 2008**) (**Tab. 4**). Les bactéries et les champignons sont les organismes dominants (**Hoorman et Islam, 2010**).

Tableau 4 : Quelques groupes de microorganismes du sol (**Roger et Garcia, 2001**)

| Grands groupes | Taxons considérés comme importants dans le sol |
|----------------|--|
| Bactéries | <i>Pseudomonas</i> <i>Bacillus</i> Protistes inférieures |
| Actinomycètes | Actinomycètes <i>Mycobactériacées</i> <i>Actinomycétacées</i> (ou Proactinomycètes) <i>Streptomycétacées</i> <i>Actinoplanacées</i> |
| Champignons | Moisissures à plasmodium Champignons à flagelle Zygomycètes Champignons supérieurs Champignons imparfaits |
| Algues | Algues vertes Eugléniens Algues jaunes, Diatomées Testacés Flagellés Ciliés |

4.1. Les algues

Les algues sont photoautotrophes et sont surtout présentes sur la surface du sol ou en subsurface pour recevoir un minimum d'éclairage nécessaire pour la photosynthèse. Certaines sont hétérotrophes (Euglènes) peuvent vivre plus profondément. De nombreuses algues sont entourées d'une couche mucilagineuse abritant de nombreuses bactéries. Elles sont de l'ordre de 5000 à 10000 cellules/g de sol (Maier *et al.*, 2000). Leur activité est limitée pendant les périodes où le sol est humide (Bourguignon, 2008).

- **Le rôle dans le sol**

Malgré leur faible nombre (cent mille par gramme de sol), les algues ont un rôle important comme sources de matière organique et comme fixatrices d'azote en symbiose avec des algues bleues (Bourguignon, 2008). Quatre groupes majeurs sont retrouvés dans le sol, il s'agit des algues vertes, vert-jaune ou rouges et des cyanobactéries. Elles participent aux processus de formation de sol (Wild, 1993).

4.2. Les champignons

Ce sont des microorganismes non photosynthétiques, ils regroupent une grande variété d'organismes d'eucaryotes qui sont divisés en sous-groupes en fonction de critères morphologiques (Roger et Garcia, 2001). Les champignons forment un règne à eux tous seuls, leur importance est telle, dans la fertilité des sols. Ils ne sont pas les plus nombreux des micro-organismes du sol, mais leur poids est très important, du fait de leur grande taille. Ils représentent les deux tiers de la biomasse microbienne du sol (Bourguignon, 2008). Les champignons semblent être plus résistants que les bactéries aux conditions d'aridité (Berthelin, 1999).

- **Le rôle dans le sol**

Le rôle des champignons est varié ; ils ont une action mécanique sur la structure du sol en laçant les particules du sol dans les mailles très fines du mycélium. Ils assurent ce qu'on appelle la stabilité structurale du sol. Mais leur rôle le plus déterminant est la capacité de décomposer la lignine des plantes. Or, la lignine est la principale source d'humus dans le sol. Pour effectuer ce travail fondamental, les champignons ont besoin d'un sol bien aéré, car tous les champignons, sauf ceux très particuliers du rumen des bovins, ont besoin d'oxygène pour vivre. On dit qu'ils sont aérobies. Une autre caractéristique de ces organismes, qu'ils ne partagent qu'avec les actinomycètes, est leur capacité à sécréter des antibiotiques qui leur permettent de résister dans le sol à l'envahissement des bactéries, plus nombreuses et plus prolifiques (Bourguignon, 2008).

4.3. Les actinomycètes

Les actinobactéries sont intermédiaires entre les champignons et les bactéries. Les champignons ont l'aspect filamenteux et la capacité de sécréter des antibiotiques alors que les bactéries, elles ont la possibilité d'effectuer de très nombreuses réactions biochimiques. Leur nombre dans le sol est élevé : d'un à cent millions par gramme de terre, et leur poids total est d'environ une tonne par hectare (**Bourguignon, 2008**).

- **Le rôle dans le sol**

Les actinomycètes participent à la formation des humus, en particulier dans les composts où font partie des germes thermophiles qui permettent la pasteurisation des déchets grâce aux antibiotiques qu'ils sécrètent. Ils minéralisent aussi la matière organique et participent ainsi dans l'alimentation des plantes. Certaines espèces peuvent fixer l'azote atmosphérique en association avec certains arbustes et arbres, comme l'aulne ou l'argousier (**Bourguignon, 2008**).

4.4. Les bactéries

C'est le groupe le plus varié et le plus nombreux, puisque leur densité peut s'élever de dix millions à un milliard par gramme de sol. Du fait de leur très petite taille, leur poids reste inférieur à une tonne par hectare de sol. Ce qui donne aux bactéries une place si importante dans le sol c'est leur extraordinaire variabilité biochimique (**Bourguignon, 2008**). Dans l'ordre des Pseudomonales et Eubactériales, on retrouve les principaux genres vivants dans le sol (**Dommergues et Mangenot, 1970**). Elles prolifèrent dans les milieux les plus riches en N et peu acides, un milieu aéré à pH supérieur à 6. Elles sont surtout abondantes autour des racines de certaines plantes (graminées, légumineuses) au sein de la rhizosphère (**Duchaufour, 2001**).

- **Le rôle dans le sol**

Les bactéries Permettent de transformer toutes les substances du sol et de les faire entrer dans le monde vivant. Elles sont participantes à la formation des microagrégats (**Gobat et al, 2003**). Les bactéries aérobies du sol participent essentiellement dans les réactions d'oxydation de la matière organique alors que celles anaérobies assurent les réactions de réduction au cours de fermentations. Les hétérotrophes peuvent être saprophytes, elles minéralisent la matière organique morte (nécromasse), d'autres sont appelées « humifiantes » (**Vitousek, 1991**).

4.5. Les protozoaires

Les genres de protozoaires du sol sont les mêmes que ceux des environnements aquatiques. Très peu sont exclusivement trouvés dans le sol. Les espèces les plus communes

sont: *Heteromitaglobosa*, *Colpodacucullus* et *Hartmanellahyalina*. La plupart sont hétérotrophes, certains sont phototrophes; ils se nourrissent de bactéries, de levures, de champignons et d'algues, ils peuvent être impliqués dans la décomposition de la matière organique (**Maier *et al.*, 2000**)

Matériel
et
Méthodes

1. Ecosystème étudié

Les échantillons de sol sont prélevés à partir d'écosystèmes arides. Il s'agit des deux régions suivantes :

-**Biskra** La wilaya de Biskra est située à l'Est de pays et au Sud des Aurès. Elle s'étend jusqu'à la zone du Chott Melghir au Sud-est et jusqu'à l'Erg oriental au Sud-ouest. Elle comprend 12 daïra et 33 communes; ses limites territoriales se résument comme suit :au Nord, la wilaya de Batna, au Nord-ouest, la wilaya de M'Sila, au Sud-ouest, la wilaya de Djelfa, au Sud, la wilaya d'El-Oued et au Nord-est, la wilaya de Khenchela. Son altitude est de 125 mètres/au niveau de la mer. Biskra occupe une superficie de 21.671.2 Km² avec une densité de l'ordre de 30 Hab/ km² (**Sedrati, 2011**)

-**El-Oued** (Longitude 006°E53', Latitude033°N20') chef lieu de la wilaya qui porte le même nom. Elle se situe au Nord de la mer de grand erg oriental, avec une superficie de 82800 Km². Cette région est aussi appelée Oued-souf, selon le dialecte employé à cause d'un grand fleuve souterrain qui traverse la wilaya. La ville est aussi surnommée « La ville aux mille coupes », elle se trouve à 720 Km au Sud d'Alger (**Boudemagh, 2007**).

2. Prélèvements des échantillons du sol

Tous les échantillons de sol testés dans cette étude sont prélevés à partir de zones arides. Trois échantillons de sol proviennent de la région de Biskra. Trois autres échantillons sont prélevés à partir de la région d'El oued. Pour chaque région, les prélèvements sont effectués à partir de la surface du sol, puis à une profondeur de 20 centimètres en dessous la surface du sol, ensuite à une profondeur de 40 centimètres (**photo. 1.2**). Pour la couche superficielle, 100 grammes de terre sont prélevées à l'aide d'une spatule stérile puis déposés dans un flacon stérile. Les pierres, les racines et autres débris sont éliminés de l'échantillon. Les prélèvements sont immédiatement transportés au laboratoire d'analyse.

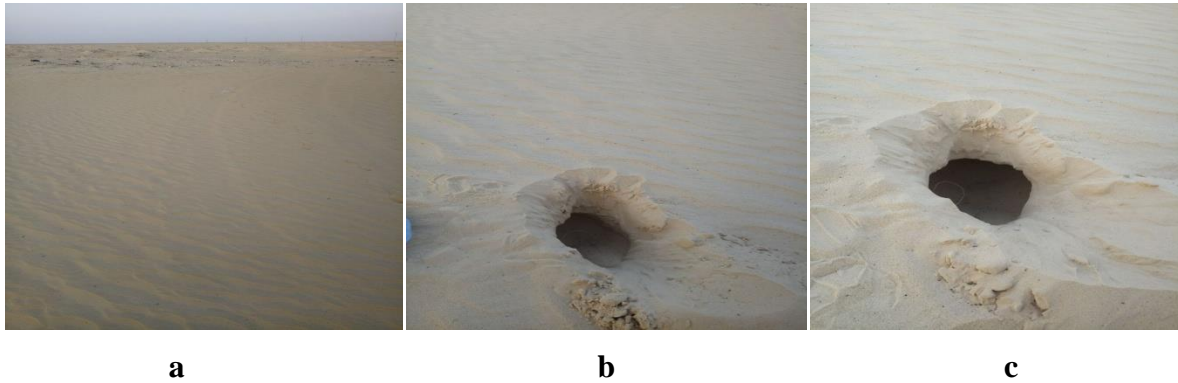


a

b

c

Photographie 1 : Site de prélèvement (Biskra) : (a) Couche superficielle, (b) Couche moins vingt centimètres, (c) Couche moins quarante centimètres



Photographie 2 : Site de prélèvement (El-Oued) :(a)Couche superficielle,(b)Couche moins vingt centimètres,(c)Couche moins quarante centimètres.

3. Analyses physicochimiques des échantillons de sol

La qualité physico-chimique du sol est importante à connaître car elle conditionne la diversité de la microflore tellurique. Les caractères physico-chimiques étudiés sont réalisés dans un laboratoire privé d'analyses microbiologiques et physico-chimiques du docteur Sid (EURL SID LABORATOIRE) Khenchela. Ils concernent le pH, la conductivité électrique, la salinité et le taux de matière organique.

4. Préparation de milieu d'isolement

L'isolement bactérien des actinomycètes est réalisé sur milieu : GLM (glucose-extrait de levure-malt). C'est un milieu de croissance et d'isolement sélectif pour les actinobactéries. La composition du milieu est indiquée dans **l'annexe 1**. Le milieu GLM est un milieu riche en sources de carbone et d'azote et plus favorable pour l'isolement des actinomycètes à partir des sols sahariens (**Boudemagh et al., 2005**). Le pH est ajusté à 7.2 avant la stérilisation à l'autoclave (120°C/20 min).L'amphotéricine B est utilisée comme agent antifongique afin d'éliminer la flore fongique envahissante qui perturbe et empêche les actinomycètes de se développer. Elle est additionnée aseptiquement au milieu de culture à une concentration de 100 µ/ml de milieu de culture (**Boudemagh et Bensouici, 2014**) à l'aide d'un filtre de 0.2µm de diamètre de porosité.

5. Dilutions

1 gramme de chaque échantillon de sol est dilué dans 9 ml d'eau physiologique stérile (**annexe 1**).Après agitation au vortex pour homogénéisation, on obtient la solution mère. A partir de la solution mère des dilutions décimales sont préparées jusqu'à la dilution 10^{-4}

(Kitouni, 2007). Les différentes étapes des dilutions réalisées sur les six échantillons de sol, sont schématisées dans l'annexe 2.

6. Ensemencement et incubation

0.1mL de chaque dilution sont ensemencés en surface sur le milieu d'isolement GLM (annexe 4). Les boîtes de pétri sont incubées dans une étuve réglée à 30° C pendant 21 jours. Des observations régulières sont effectuées chaque semaine.

7. Lecteur et dénombrement des colonies des actinomycètes

Le dénombrement des isolats est effectué quotidiennement, après la première semaine d'incubation. Les actinobactéries sont reconnus par leur aspect macroscopique caractéristique (colonies poudreuses, dures et incrustées dans la gélose) et également par leur aspect microscopique (colonies circulaires constituées d'hyphe), par observation directe sous microscope optique grossissement $\times 10$.

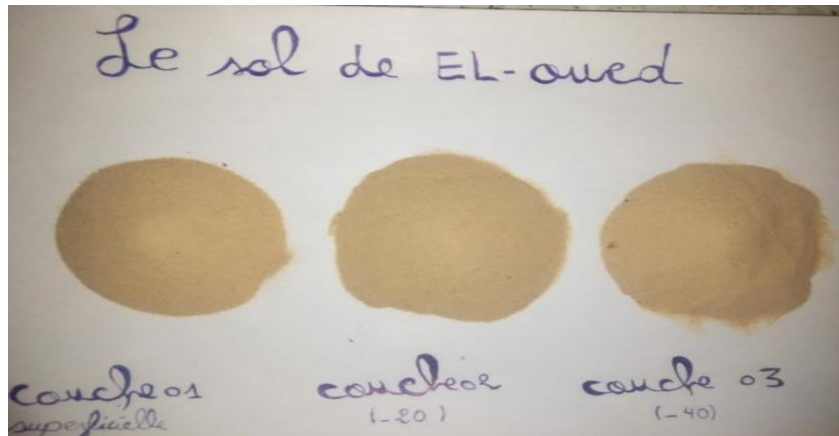
8. Purification et conservation des isolats actinomycétales

Afin d'obtenir des isolats purs, les différentes colonies obtenues sont repiquées et ensemencées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant le même milieu d'isolement, puis incubées jusqu'à croissance à 30°C. Dans le but de les conserver, les souches purifiées sont placées, par la suite dans un réfrigérateur à 4°C.

Résultats
Et
discussion

1. Prélèvements des échantillons du sol

Les trois échantillons de sol qui proviennent de la région de Biskra ainsi que les trois échantillons qui sont prélevés à partir de la région d'El oued sont présentés dans les photographies 3 et 4.



Photographie 3 : Prélèvements du sol d'El-Oued



Photographie 4 : Prélèvements du sol de Biskra

2. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons de sols

2.1. Caractères physico-chimiques des échantillons de sol d'El oued

Les propriétés physico-chimiques des trois échantillons du sol d'El oued et qui concernent le pH, la conductivité électrique, la somme des anions, la salinité (NF ISO 10390 Méthode INRA) et le taux de matière organique (NF 44-041 NF ISO 10694) sont résumées dans le tableau 5.

Tableau 5: Caractéristiques physico-chimiques des trois échantillons de sol d'El-oued.

| Echantillons | pH1/2.5 | Salinité (g/l) | Taux de matière organique (%) | Conductivité électrique ($\mu\text{S}/\text{cm}$) | Somme des anions (mé /L) |
|--------------|---------|----------------|-------------------------------|---|--------------------------|
| EO1 | 5,95 | 1,90 | 0,30 | 4460 | 44,60 |
| EO2 | 6,80 | 30,47 | 0,25 | 71100 | 711,00 |
| EO3 | 6,31 | 2,40 | 0,25 | 5640 | 56,40 |

EO1 : Echantillon du sol de surface d'El oued

EO2 : Echantillon du sol (- 20 cm) d'El oued

EO3 : Echantillon du sol (- 40 cm) d'El oued

Les résultats d'analyses nous ont permis de constater que le sol de surface d'El oued est acide, peu salé et très pauvre en matière organique selon les normes internationales NF ISO 10693 et NF ISO 10694. Le sol de moins 20 centimètres de profondeur tend vers la neutralité, très salé et très faible en matière organique. Quand au sol situé à 40 centimètres de profondeur, il est acide, peu salé et possède un très faible taux de matière organique selon les mêmes normes. D'après **Lee et Hwang (2002)**, le taux de matière organique en pourcentage dans un sol est considéré comme : faible dans l'intervalle (4.0-7.0) ; modéré entre 7.1 et 9.0 et élevé entre 9.1 et 11.0. Le taux très bas de la matière organique de nos trois échantillons pour le sol d'El oued, nous permet de conclure que la matière organique dans ces échantillons n'existe que sous forme de traces. La matière organique des trois couches est faible elle est entre 0.25-0.30%. Cela est dû probablement à l'absence de végétaux dans ces zones. Ce pourcentage à tendance à diminuer lorsqu'on va vers les profondeurs. Nous constatons aussi que le pH des différentes couches du sol d'El-oued n'est pas identique. Ce résultat indique que ce paramètre à lui seul, peut exercer un effet de sélection sur la biodiversité des microorganismes selon les couches du sol. En effet certains germes préfèrent les zones acides,

d'autres les pH neutres ou basiques. Nos résultats sont cependant différents de ceux trouvés par **Koul, 2007**, qui affirment que dans les régions arides, les sols sont généralement alcalins ($7,5 < \text{pH} < 8,5$).

La conductivité électrique permet d'obtenir une estimation de la teneur globale en sels dissous (**Aubert, 1978**). D'après les résultats obtenus, la conductivité électrique de l'échantillon de moins 20 centimètres de profondeur est presque 15 fois plus que celle des deux autres échantillons. Cette valeur se confirme avec la grande différence entre le taux de salinité de ces trois échantillons. Elle est de 30,47 g/l pour l'échantillon de moins 20 centimètres de profondeur contre 1,90 g/l pour le sol de surface et de 2,40 g/l pour le sol de moins 40 centimètres de profondeur. Ce paramètre indique clairement que les concentrations en sel dans les couches du sol ne sont pas identiques et peuvent par conséquent abriter une microflore halophile et halotolérante différente selon la profondeur du sol. Les résultats de la salinité sont confirmés avec ceux de la somme des anions qui sont généralement corrélés.

2.2. Caractères physico-chimiques des échantillons de sol de Biskra

Les résultats des analyses physico-chimiques des trois échantillons de sol de Biskra sont illustrés dans le **Tableau 6** suivant les normes et les références citées précédemment.

Tableau6 : Caractéristiques physico-chimiques des trois échantillons de sol de Biskra

| Echantillons | pH1/2.5 | Salinité (g/l) | Taux de matière organique (%) | Conductivité électrique $\mu\text{S/cm}$ | Somme des anions (mé /L) |
|--------------|---------|----------------|-------------------------------|--|--------------------------|
| EB1 | 7,87 | 5,98 | 0,25 | 12700 | 127.00 |
| EB2 | 8,01 | 2,70 | 0,20 | 6310 | 63.10 |
| EB3 | 6,33 | 36.40 | 0,25 | 85500 | 855.00 |

EB1 : Echantillon du sol de surface de Biskra

EB2 : Echantillon du sol (- 20 cm) de Biskra

EB3 : Echantillon du sol (- 40 cm) de Biskra

Selon ces résultats, nous constatons que la première couche du sol de la région de Biskra tend vers l'alcalinité, un taux de salinité faible et un pourcentage faible de la matière organique. Quand au sol de la deuxième couche, il est alcalin, peu salé et faible en matière organique. La troisième couche (- 40 cm), montre un pH acide, une salinité importante et un faible taux de matière organique. Cette disparité entre les couches du sol, indique également que les profondeurs du sol exercent un effet très sélectif sur la distribution microbienne.

Concernant la conductivité électrique, nous remarquons qu'elle présente une valeur très élevée dans la troisième couche avec $85500\mu\text{S/cm}$. Cette valeur confirme le taux de salinité de cet échantillon et qui est de 36.40 g/l . Pour la deuxième couche la conductivité diminue puis elle augmente dans la première couche avec des taux respectifs de $6310\mu\text{S/cm}$ et $12700\mu\text{S/cm}$, la somme des anions confirme aussi ces résultats. Nous constatons également que malgré la différence qui existe dans les valeurs de la conductivité électrique et la salinité, le taux de matière organique reste très faible et stable dans les trois couches de la région de Biskra. D'après **Duchaufour (1984)** la teneur en matière organique dans les zones arides ne dépasse pas 1%, ce qui est confirmé par nos résultats.

En comparant les deux zones de prélèvement, le sol d'El-oued est plus riche en matière organique dans ses deux premières couches que celui de Biskra. La concentration de la MO est cependant identique dans la troisième couche du sol dans les deux zones.

Concernant le degré de salinité, la première et la troisième couche du sol de Biskra sont plus salins que ceux d'El-oued. Ce sol est donc d'après ce résultat, est une bonne source de microorganismes halophiles.

3. Isolement des actinomycètes à partir des écosystèmes étudiés

Après 21 jours d'incubation à 30°C sur le milieu GLM, les actinobactéries isolés et purifiés à partir des deux écosystèmes sont reconnus par leur aspect morphologique caractéristique. Elles apparaissent sèches, rugueuses, de couleur rose ou blanche, qui adhèrent à la gélose (**Photo.5**). Les colonies ne dépassent jamais 5 mm de diamètre. Toutes les colonies ont été purifiées par repiquage dans le milieu GLM et incubées à 28 °C pendant 7 jours.



Photographie 5: Aspect macroscopique des colonies d'actinomycètes isolés sur milieu GLM

4. Dénombrement des actinobactéries

Le nombre des isolats obtenus est représenté dans le **tableau 7**.

Tableau 7: Résultats du dénombrement des actinobactéries des échantillons d'El-oued et de Biskra

| Echantillons | Nombre de colonies (10^{-4}) | |
|------------------------|----------------------------------|---------------|
| | Sol d'El-oued | Sol de Biskra |
| Echantillon de surface | 6 | 12 |
| Echantillon (-20 cm) | 10 | 8 |
| Echantillon (-40 cm) | 8 | 3 |
| Total | 24 | 23 |

Le **tableau 7** illustre qu'il y'a une distribution hétérogène des actinomycètes dans les trois couches de sol d'El-oued. Le plus grand nombre des colonies a été isolé à partir de la deuxième couche. En effet, 10 isolats ont été sélectionnés de cette profondeur contre 6 dans la première couche et 8 colonies dans la troisième couche. Ce résultat s'explique par le fait que le pH de cette couche tend vers la neutralité (**Tab. 5**). Car les actinobactéries préfèrent un pH neutre (**Omura, 1992**).

Les résultats montrent aussi une différence dans la distribution des colonies des actinomycètes dans le sol de Biskra. Chaque fois que la profondeur de sol augmente, il y a une diminution du nombre de colonies. Le grand nombre des colonies existe dans la couche superficielle 12 colonies, contre 8 dans la deuxième couche et 3 dans la troisième couche.

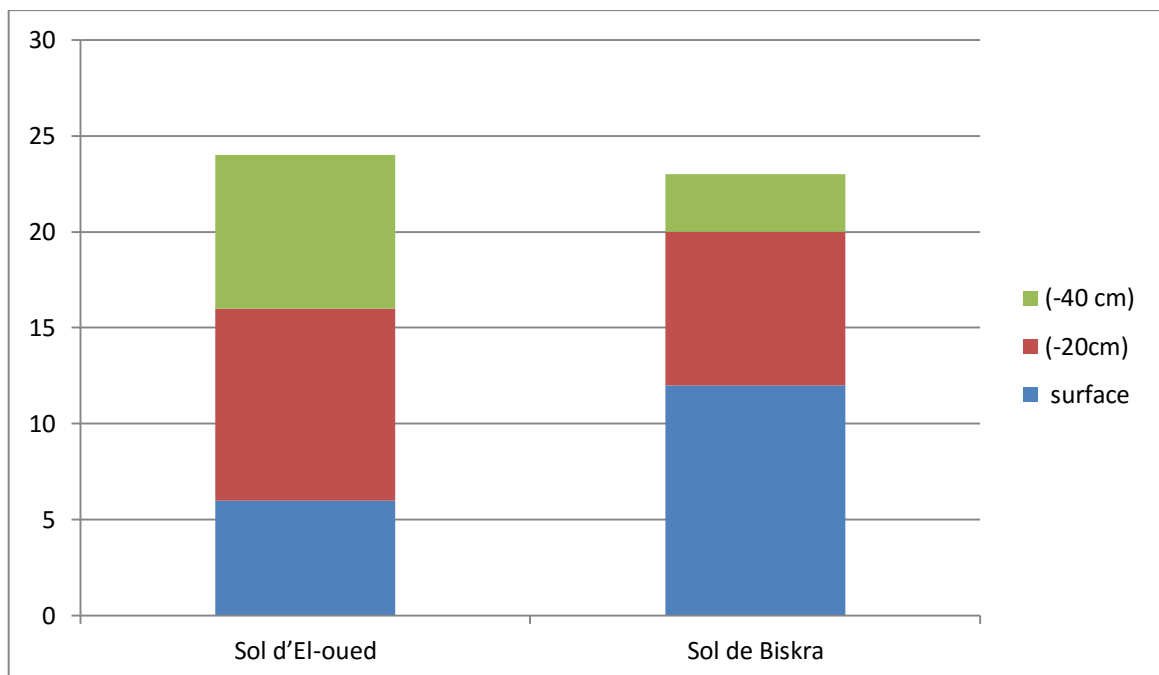
Selon les résultats rassemblés dans le **tableau7**, on constate que 24 colonies d'actinomycètes ont été isolées à partir de l'échantillon de sol de la région d'El Oued, contre 23 provenant de l'échantillon de Biskra. Ces deux zones sont considérées comme étant riches en actinobactéries.

En 1998 (**Sabaou et al.**,) ont montré, que les sols des oasis du Sahara Algérien, bien que soumis à un climat aride, se sont révélés relativement riches en actinomycètes. Certaines souches semblent même représenter de nouvelles espèces. On les trouve non seulement dans

les horizons de surface mais aussi à plus de 2 m de profondeur et en quantité appréciable. Nos résultats s'accordent parfaitement avec ceux trouvés par ces auteurs.

Meklat et al., 2011 ont isolés 52 souches d'actinomycètes à partir des échantillons collectés de diverses régions Sahariennes salines : Adrar, Béchar, Djelfa, El Golea, El Oued, Ghardaia, Laghouat, Ouargla et Tolga. Dans d'autres travaux similaires, **Djabellah, (2010)** a isolé 63 souches actinomycétales à partir des échantillons prélevés de la Sebkhia d'Ezmoul de la région de Batna. Alors que **Messoudi, (2013)** a isolé 18 souches seulement d'actinomycètes à partir de la sebkha de Kenadsa, située dans le sud-ouest de la wilaya de Béchar.

Une distribution hétérogène des actinomycètes isolés à partir de chaque échantillon est observée (**Histogramme 1**). En effet, les isolats obtenus sont d'aspects différents d'un échantillon à un autre. Ce résultat est d'après nous dû à la différence dans les facteurs physico-chimiques, des deux échantillons, surtout le degré du pH, de salinité et de la matière organique. Qui influent considérablement sur le nombre d'isolat (**Hop et al., 2012; Adegboye et al., 2012**). Selon **Lee et Hwang, 2002**, les trois facteurs écologiques les plus importants qui influent sur la diversité des actinomycètes dans le sol sont: le pH, la matière organique et l'humidité. D'autres facteurs sont aussi importants comme la température du sol, le type du sol, la végétation et l'emplacement géographique (**Adegboye et al., 2012**).



Histogramme 1 : Distribution quantitative des actinomycètes dans les sols d'El-oued et de Biskra.

Les résultats montrent que le nombre d'actinomycètes isolés à partir des écosystèmes telluriques arides dépend des couches du sol et plus spécialement du pH. En effet, le nombre d'actinomycètes augmente quand les valeurs du pH sont neutres ou légèrement basiques et ceux pour les deux zones d'études (**Tab. 5**). Le taux de salinité et de la matière organique, n'ont pas d'influence significative, sur la distribution quantitative des actinobactéries dans les régions arides.

Conclusion

Et

Perspectives

Afin de déterminer la distribution quantitative des actinobactéries dans les sols arides, nous avons dénombré les actinomycètes à partir de trois couches de sols de deux régions arides (EL-oued et Biskra). Dans ce travail, nous avons également analysé et réalisé une étude comparative de quelques caractères physico-chimiques de trois couches terrestres des deux régions choisies. Il en ressort que l'échantillon du sol d'EL-oued dans une profondeur de 20 cm, offrent le plus grand nombre d'actinobactéries. Cette couche se caractérise par un pH neutre, une conductivité électrique très élevée, une salinité de 30,47g/l et un taux de la matière organique pauvre de l'ordre de 0,25%. Le deuxième échantillon qui provient de Biskra est une source non négligeable d'actinobactéries mais c'est la couche superficielle qui est la plus riche. Chaque fois que la profondeur du sol augmente, il y a une diminution du nombre de colonies. Cette couche se caractérise par un pH neutre, une conductivité électrique élevée, une salinité élevée de 5.98 g/l et un taux de matière organique faible de l'ordre de 0,25%.

En perspectives nous préconisons de réaliser des isolements dans des profondeurs beaucoup plus importantes. Nous recommandons aussi de faire plusieurs autres analyses physico-chimiques des sols tels que l'analyse d'humidité, du carbone organique, de l'azote etc., afin de connaître les conditions exactes de développements des actinomycètes. Nous espérons faire également une étude qui permet d'identifier les espèces pour voir la distribution qualitative des actinomycètes par couches terrestres dans les sols désertiques.

*Références
bibliographiques*

-A-

- Abdulla Hesham M., El-Shatoury Sahar A., (2007).** Actinomycetes in rice straw decomposition. *Waste Management*. 27:6. p850.
- Adegboye M. F., Babalola O. O., (2012).** Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. *African Journal of Agricultural Research*. 7. N° 15. 2255-2261.
- Al-Zarban S. S.; Al-Musallam A. A.; Abbas I.; Stackebrandt E.; Kioppenstedt R. M., (2002).** Saccharomonospora halophila sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from marsh soil in Kuwait. *Int J Sys Env Microbiol*, (52): 555-558.
- Andriambololona T., (2010).** Etudes bibliographiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycètes telluriques cas de la forêt d'ANKAFOBE. Mémoire de recherche pour l'obtention du Diplôme d'études approfondies de biochimie. Université d'ANTANANARIVO, Madagascar : p 5.
- Ardouin et Bourgogne. (2012).** Guide pratique pour la description des sols de France. Conservatoire d'espaces naturels. France. P : 7.
- Aubert G., (1960).** Projet majeur relatif aux recherches scientifiques sur les terres arides. Colloque de paris. 5. p 02.
- Aubert G., (1978).** Méthodes d'analyses des sols. Edit : C.R.D.P., Marseille, 191p.
- Avril J. L. et al., (1992).** Bactériologie clinique. 2 éd. Paris : ellipses. P 511.

-B-

- Beckers h. J. A. Van Der Hoeven J. S., (1982).** Growth Rates of *Actinomyces viscosus* and *Streptococcus mutans* During Early Colonization of Tooth Surfaces in Gnotobiotic Rats. *Infection and immunity*. Vol. 35. N°. 2. Pp: 583-587.
- Berthelin J., (1999).** Microbiologie. DEA National de Science du Sol. INA, Paris, 237p.
- Boughachiche F.; Reghioua S.; Oulmi L.; Zerizer H. ; Kitouni M.; Boudemagh A. ; Boulahrouf A., (2005).** Isolement d'actinomycétales productrices de substances antimicrobiennes à partir de la sebkha de Ain Mlila. *Sciences & Technologie C*. 23, 5-10.
- Bousseboua H., (2002).** Éléments de microbiologie générale. Editions de l'université MENTOURI. Constantine (Algérie). p 17.
- Boudemagh A., Kitouni M., Boughachiche F., Hamdiken H., Oulmi L., Reghioua S., Zerizer H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A., Boiron P., (2005).** Isolement et identification moléculaire d'actinomycètes de quelques sols sahariens du Sud-est de l'Algérie

(Biskra, El-oued et Ourgla). Etude de l'activité antifongique des souches isolées. *Journal de Mycologie Médicale*. 15. 39–44

-Boudemagh A., (2007). Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse Présentée en vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université Mentouri de Constantine. Algérie. Pp 26-27 ,49.

-Boudemagh A., Bensouici K., (2014). The effect of thermic pretreatment and antibiotics on the selective isolation of the culturable actinomycetes from Algerian desert soil. *Sciences et technologie C-N°39*. 25-32.

-Bourguignon, Claude et Lydia. (2008). Le sol, la terre et les champs. Edition sang de la terre. France. Pp 68-70.

-Breton A., Theilleux J., Sanglier J.J., Viobis G., (1989). Organismes producteurs: biologie, taxonomie et écologie. In "Biotechnologie des Antibiotiques". Larpent J.P. et Sanglier J.J., Masson : Paris. Pp: 33-70.

-Burman N.P., (1973). The occurrence and significance of actinomycetes. In: *Actinomycetales. Characteristics and practical importance*. Academic Press (Ed). 219-230.

-C-

-Chater K., (1999). David Hopwood and the emergence of *Streptomyces* genetics. *Int Microbiol*, 2(2): 61–68.

-Chaudhary P., Sharma R., Singh S.B. et Nain L., (2011). Bioremediation of PAH by *Streptomyces* sp. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 86, 268-71.

-Coyette J. et Mergeay M., (2013). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 4eme edition Pp : 568-579.

-D-

-Daane L.L., Harjono I., Zylstra G.J. et Hasgglom M.M., (2001). Isolation and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria associated with the rhizosphere of salt marsh plants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 2683-2691.

-Djbellah C., (2010). Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de la sebkha d'Ain M'Lila. Thèse de Magister en Ecologie Microbienne. Université Mentouri Constantine. p 67.

-Djinni I., (2009). Etude taxonomique de souches d'actinomycètes halophiles modérées productrices de substances antimicrobiennes isolées dans la région de Béjaia. Mémoire De Magister en Microbiologie Appliquée, Université A. Mira de Bejaia : p 154.

-Dixit V.S. et Pant A., (2000). - Comparative characterisation of two serine endopeptidase from *Nocardiopsis*. NCIM 512. *Biochim.Biophys.Acta.*, 1523, 261-268.

-Dommergues Y., et Mangenot F., (1970). Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie (Eds.), Paris. p796 .

-Duchaufour (Ph.), (1984). Abrégé de Pédologie. Masson, éd Paris., p220 .

-Duchaufour. Ph, (2001). Introduction à la science du sol. 6ème édition de l'abrégé de pédologie. Dunod. Ed. Masson. Paris. p314.

-E-

-Ensign J. C.; Normand p.; Burden J. P.; Yallop C. A., (1993). Physiology of some actinomycetes genera. *Rev.Microbiol.* 144, 657-660.

-G-

-Gobat. J, Arango. M, Mathey.W, (2003). Le sol vivant, base de pédologie, biologie des sols ,p568.

-Goodfellow M.; Williams S. T., (1983). Ecology of actinomycetes. *Annuals Review of Microbiology* (37):189-216.

-Grinshpun, S. A., Reponen, T. et Willeke, K., (1997). Aerosol characteristics of airborne actinomycetes and fungi. *Journal of aero sol science* 28, 667-668.

-Gurielidze M., Berishvili T., Cholokava N., Pataraya D. et Nutsbidze N., (2009). Oil destructing extremophilic actinomycetes isolated from various types of soil of Georgia. *Bull. Georg. Natl. Acad. Sci.*, 3, 118-121.

-H-

-Hilali L., Khatabi A., Nassrallah N., Malki A. et finance C., (2002). Isolement des nouvelles souches actinomycétales productrices de substances antifongiques à partir d'un milieu naturel marocain. *Revue .Biol .Biotech.* 2, 49-53.

-Hop D.V., Sakiyama Y., Binh C.T.T, Otaguro M., Hang D.T., Miyadoh S., Luong D.T. et Ando K., (2012). Taxonomic and ecological studies of actinomycetes from Vietnam: isolation and genus-level diversity. *The Journal of Antibiotics.* 64: 599–606.

-Hopwood D. A., (1973). Genetics of the Actinomycetales. *SocApplBacteriolSympSer*, (2): 131–53.

-Hopwood D. A., (2003). Streptomyces genes: from Waksman to Sanger. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 30(8): 468–471.

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

-HSU S.C., LOCKWOOD J.L., (1975). Powder chitin agar as selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *Appl. Microbiol. Technol.* 66: 559-565.

-J-

-Ishizawa S. et Araragi M. (1976). Composition of actinomycetes population in soil. In: *Actinomycetes, the boundary microorganisms.* Arai T. (Eds.) Toppan Co. Ltd, Tokyo, 97-107.

-J-

-Jensen P. R., Gontang Erin, Mafnas Chrisy., Mincer Tracy J, Fenical William., (2005). Culturable marine actinomycete diversity from tropical Pacific Ocean sediments. *Environmental Microbiology*. 7 (7): P 1039.

-Jensen Paul R., Dwight Ryan, et Fenical William. (1991). distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. *applied and environmental microbiology*. 57(4): 1102.

-Jerome P., Lory S., Staley J S., (2004). *Microbiologie*, Ed Paris., p 891.

-K-

-Kalakoutskii L. V. et Agre N. S., (1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriol. Rev.* 40 (2), 469–524.

-Keulen, G.V., Jonkers, H.M., Cloesson, D.L.D., Woston H.A.B., (2003). Differentiation and anaerobiosis in standing liquid cultures of *Streptomyces coelicolor*. *J Bacteriol*, 185 (4): 1455–1458.

-Kim S.B., Seong C.N., Jeon S.J., Bae K.S., et Goodfellow M., (2004). Taxonomic study of neurotolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil and description of *Streptomyces yeochonensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54, 211-214.

-Kitouni M.; Boudemagh A.; Oulmi L.; Reghioua S.; Boughachiche F.; Zerizer H.; Hamdiken H.; Couble A.; Mouniee D.; Boulahrouf A.; Boiron P., (2005). Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north-east of Algeria. *Journal de Mycologie Médicale*, 15, 45–51.

-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 élaborées. Th doctorat : Microbiologie : Université Mentouri Constantine.

-Koul N., (2007). Effet de la matière organique sur les propriétés physiques et chimiques des sols sableux de la région de Ouargla. Mém. Ing. Agro. 6p.

-Krassilnikov NA., (1938). Ray fungi and related organisms, Actinomycetales ,AkademiyaNauk,SSSR, Moscow.

-Kurtbaeke D.I. et Wildman H.G., (1998). Accessing Australian biodiversity, towards an improved detection of Actinomycetes. 9 (1-2), 10-13.

-L-

-Lacey J., Crook B., (1988). Fungal and actinomycete spores as pollutants of the workplace and occupational allergens. *annals of work exposures and health*. 32 (4) :515.

-Larpent, J.P., Sanglier, J.J., (1989). Biotechnologie des antibiotiques. Ed. Masson. Paris, p481.

-Larpent J.P., Larpent G.M., (1990). Memento technique de Microbiologie. Editions *Tec. et Doc.* Lavoisier.

-Lechevalier H.A and Lechevalier M.P., (1967). Biology of actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.* 21, 71-100.

-Lechevalier M.P. and Lechevalier H., (1985). Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* In : *Biology of industrial microorganisms*. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc. 315-316.

-Le minor L., Véron M., (1989). Bacteriologie médicale. 2^{ème} édition. Pp 335-349.

-Lee. J. Y., Hwang. B. K., (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology* 48: 407–417.

-M-

-Madigan T.M., Martinko M.J., (2007). Biologie des micro-organismes 11^{ème} édition .Pearson. Paris. p 395-396.

-Madelin, T. M. et Johnson, H. E., (1992). Fungal and actinomycete spore aerosols measured at different humidities with an aerodynamic particle sizer. *Journal of applied bacteriology* 72, 400-409.

-Magarvey Nathan A., Keller Jessica M., Bernan Valerie, Dworkin Martin, and Sherman David H., (2004). Isolation and Characterization of Novel Marine-Derived Actinomycete Taxa Rich in Bioactive Metabolites. *applied and environmental microbiology*. 70 (12) : 7520.

- Maier, R. M., I. L. Pepper et C. P. Gerba.,(2000).** Microorganisms in surface soils.*In:Environmental microbiology*.Academic press. A Harcourt Science and technologycompany. Canada, pp. 79-82.
- Margesin R. and Schinner F., (2001).** Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology.*Extremophiles*, 5, 73-83.
- Marilley Laurent, Vogt Gudrun, Aragno Michel., (2007).** Diversité bactérienne du sol et de la rhizosphère et effet d'une augmentation en CO2 atmosphérique ; Laboratoire de microbiologie, Université de Neuchâtel, Rue Emile-Argand 11, Neuchâtel.
- McCarthy A.J., (1987).**Lignocellulose-degrading actinomycetes.FEMS Microbiology.46 .p 145-146.
- McCarthy Alan J., Williams Stanley T., (1992).**Actinomycetes as agents of biodegradation in the environment. Gene. 115: 1-2.p 189.
- McKinney. R.E.,(2004).**Environmental Pollution Control Microbiology. CRC Press: New York. Pp: 448.
- Meklat A.,Sabaou N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., (2011).**HalophilicActinomycetes in Saharan Soils of Algeria: Isolation, Taxonomy and Antagonistic Properties. AppliedEnvironmentalMicrobiology 77(18) Pp : 6710-4.
- Messoudi O., (2013).** Contribution à la caractérisation des souches d'actinomycètes productrices de métabolites antibactériens isolées de la sebkha de Kenadsa (Bechar). Thèse de Magistère en Microbiologie Appliquée. Université Abou BakrBelkaid Tlemcen. P 62

-N-

- Nanjani. S. G et Soni. H. P.(2011).** Isolation and characterization of extremely halotolerant and halophilic organisms from dwarka and veraval.Bioinformatica .Vol: 1. N°: 1. Pp: 1-15.
- Nonomura H., Hayakawa M., (1988).** New methods for selective isolation of soil actinomycetes,dans « biology of Actinomycetes ».Japon Scientific Societies Press.Tokoyo. (Ed). 88-100.

-O-

- Omura S., (1992).** The search for bioactive compounds from microorganisms. Ed: Springer Verlag, New York. Inc. Pp 281-303.

-P-

- Pedro G., (1996).** La science du sol a l'aube du XXI ème siècle. Rennes.17 :136-143.
- Pelmont J., (2005).** Biodégradations et métabolismes : les bactéries pour les technologies de l'environnement. EDP Sciences : Grenoble. Pp : 798 pages.
- Perry J.J., Staley J.T., et Lory S., (2004).**Microbiologie. Edition Dunod. Paris.CH :20 p 429, 497–498.

-R-

- Rangaswami. G. Bagyaraj. D. J. Bagyaraj D.G.,(2004).** Agricultural Microbiology.PHI : New Delhi. Pp : 440.
- Reichl, U., King, R., Gilles, E.D., (1992).** Characterization of pellet morphology during submerged growth of *Streptomyces tendae* by image analysis. *BiotechnolBioeng*, 39(2): 164–170.
- Reponen, T. A., Gazonko, S. V., Grinshpun, S. A., Willeke, K. et Cole, E. C. (1998).** Characteristics of airborne actinomycete spores. *Applied and environmental microbiology* 64, 3807-3812.
- Roger P et Garcia J.L. (2001).**Introduction à la microbiologie du sol. Marseille: Université de Provence. Pp : 193.

-S-

- Sabaou N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A., Lamari L., Bennadji H., Lefèbvre G., Germain P., (1998).**Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes, rares producteurs d'antibiotiques. *Science et changements planétaires Sécheresse*. 9(2) : 153
- Sasson. A., (1967).**Recherches éco-physiologique sur la flore bactérienne de sol des régions du Maroc. Série botanique et biologie végétale. Travaux de l'institut scientifique chérifien et de faculté des sciences, rabat, N°30:27-55.
- Sedrati N., (2011).** Origines et caractéristiques physico-chimiques des eaux de la wilaya de Biskra Sud est algérien. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en sciences. Universitébadjimokhtar-Annaba. algérie.p1.
- Silini S., (2012).** Contribution à l'étude de la biodégradation de la méthyléthylcétone en réacteurbatch par les actinomycètes isolés à partir des boues activées de la station d'épuration d'El-Atmania. Thèse de Magister en écologie option : Gestion des déchets : évaluation et solutionenvironnementales.Université des frères Mentouri Constantine. p101.

-Smaoui S., (2010). Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir demicroorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat. Université deToulouse, (France). Pp 251.

-T-

-Takizawa M., Colwell R.R., Hill R.T., (1993). Isolation and diversity of Actinomycets in theCesapeakeBay. Applied and Environmental Microbiology, 997-1002.

-Tamura, S., Park, Y., Toriyama, M., Okabe, M. (1997). Change of mycelial morphology in tyrosin production by batch culture of Streptomyces fradiae under various shear conditions. J Ferment Bioeng, 83(6): 523–528.

-Theilleux J., (1993). Les actinomycètes in Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel, Leveau. J.Y et Mouix. M. Lavoisier Tech et Doc, Apria, V : 612, pp 425.

-Tracy J. Mincer, Paul R. Jensen, Christopher A. Kauffman, et William Fenical.,(2002). Widespread and Persistent Populations of a Major New Marine Actinomycete Taxon in Ocean Sediments.applied and environmental microbiology. 68(10) : 5005.

-V-

-Ventura. M; Canchaya.C; Tauch.A; Chandra.G; Fitzgerald.G.F; Chater.K.F;and van Sinderen.D., (2007). Genomics of Actinobacteria: Tracing the EvolutionaryHistory of an Ancient Phylum. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 71 (3), 495–548.

-Vitousek, P. M. et R. W. Howarth. (1991). Nitrogen limitation on land and in the sea:How can it occur? Biogeochem.13: 87-115.

-W-

-Wang L; Huang. Y; Liu. Z; Goodfellow.Met Rodriguez.C., (2006).Sreptacidiphilusoryzae sp. nov.anactinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. In. J. Sys. Ev.Microbiol.Vol 56.Pp: 1257-1261.

-Wasu Pathom-aree-James E. M. Stach-Alan C. Ward-Koki Horikoshi-Alan T. Bull-Michael Goodfellow., (2006). Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10,898 m) from the Mariana Trench.Extremophiles(Microbial Life Under Extreme Conditions).10 (3): 181.

-Williams S. T.; Wellington E. M. H., (1982). Actinomycetes. In: Eds. Page A.L., Miller R.H., Keency O.R.: Methods of Soil Analysis, part 2, Chemical and Microbiological

Properties, second ed. American . Society of Agronomy/Soil Science Society of America, Madison, Pp. 969–987.

-Williams S. T., Locci R., Beswick A., Kurtboke D. I., Kuznetsov V. D., Le Monnier F. J., Long P. F., Maycroft K. A., palma R. A., Petrolini B., Quaroni S., Todd J.I. and West M., (1993). Detection and identification of novel actinomycetes. *Microbiology*. 144, 653-656.

-Wild(1993). Soils and the environment. An introduction. *In*: Cambridge price editions. Cambridge university press., Pp 281.

-Z-

-Zaitlin B., Watson S.b., Ridal J., Satchwill T. et Parkinson D. (2003). Actinomycetes in Lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. *Res. J. Can.* 95 (2), 113-118.

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

-Zvyagintsev. D. G; Zenova. G. M ;Sudnizin. I. I ;Doroshenko. E. A., (2005). The Ability of Soil Actinomycetes to Develop at an Extremely Low Humidity. Vol : 405. Pp 461-463.

Sites web :

-Site web 1 : <http://www.andi.dz/PDF/monographies/Biskra.pdf> ; 20/05/2017; 23:49.

-Site web 2 : <http://www.andi.dz/PDF/monographies/Oued.pdf> ; 25/05/2017; 01:11.

Annexes

Annexe 1*** Composition du milieu de culture GLM (Gélose à l'extrait de levure-extrait de malt)**

| | |
|---------------------|--------|
| - Extrait de levure | 03g |
| - Extrait de malt | 03g |
| - Glucose | 10g |
| - Peptone | 05g |
| - Agar | 20g |
| - Eau distillée | 1000ml |
| - Ph=7,2 | |

***Eau physiologie**

| | |
|-------------------------------|------------|
| - NaCl | 9g |
| - Eau distillée | 1000ml |
| - Stérilisation à l'autoclave | 120°/20min |

Annexe 2

• Préparation de la solution mère

A partir d'un échantillon de sol destiné à l'analyse microbiologique, 1 g de sol est pesé puis introduit dans un tube à essai contenant 9 ml de l'eau physiologique préalablement autoclavée. Le tube est ensuite agité énergiquement pendant 2 minutes à l'aide d'un vortex. Le contenu du tube représente la solution mère.

• Préparation des dilutions

- Marquer les tubes de diluant (Exemple : 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4}).
- Prélever aseptiquement (dans la zone stérile) 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette graduée stérile de 1 ml munie d'une poire à aspiration ; l'homogénéisation du prélèvement se fait par vortex.
- Transférer aseptiquement 1ml prélevé dans le premier tube 10^{-1} . La pipette ne devant pas pénétrer dans les 9 ml de diluant.
- Jeter la pipette utilisée dans un conteneur approprié. À l'aide d'une deuxième pipette stérile de 1 ml, procéder de même du tube 10^{-1} au tube 10^{-2}
- Faire de même pour les deux derniers tubes, en utilisant à chaque prélèvement une nouvelle pipette (**fig.3**).

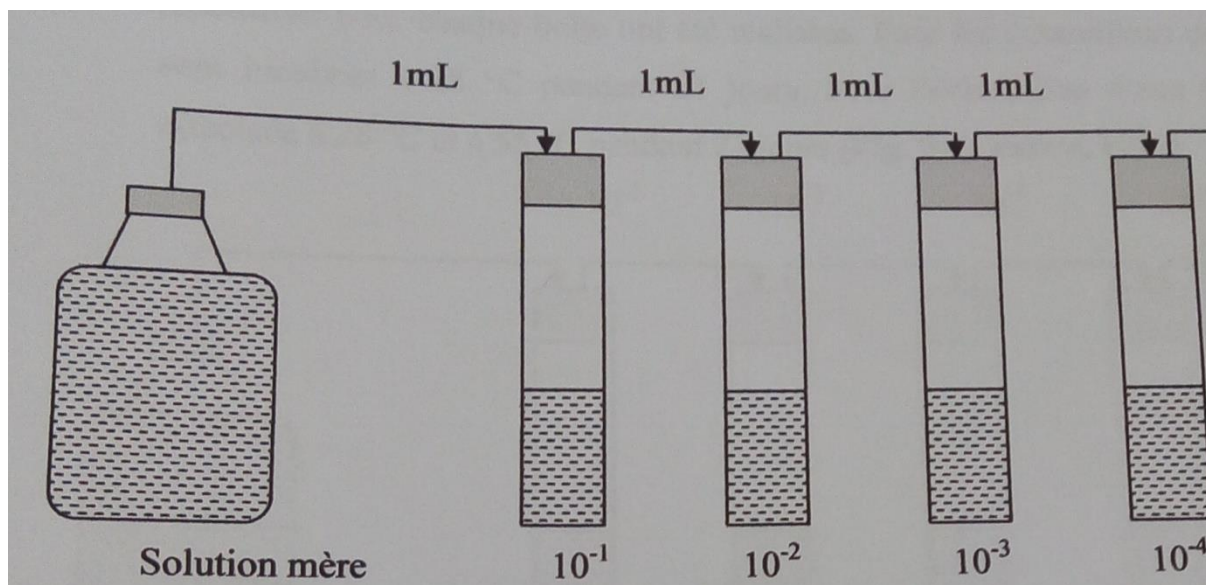


Figure 3: Préparation des dilutions décimales

Annexe 3

- Fabrication d'un râteau d'étalement

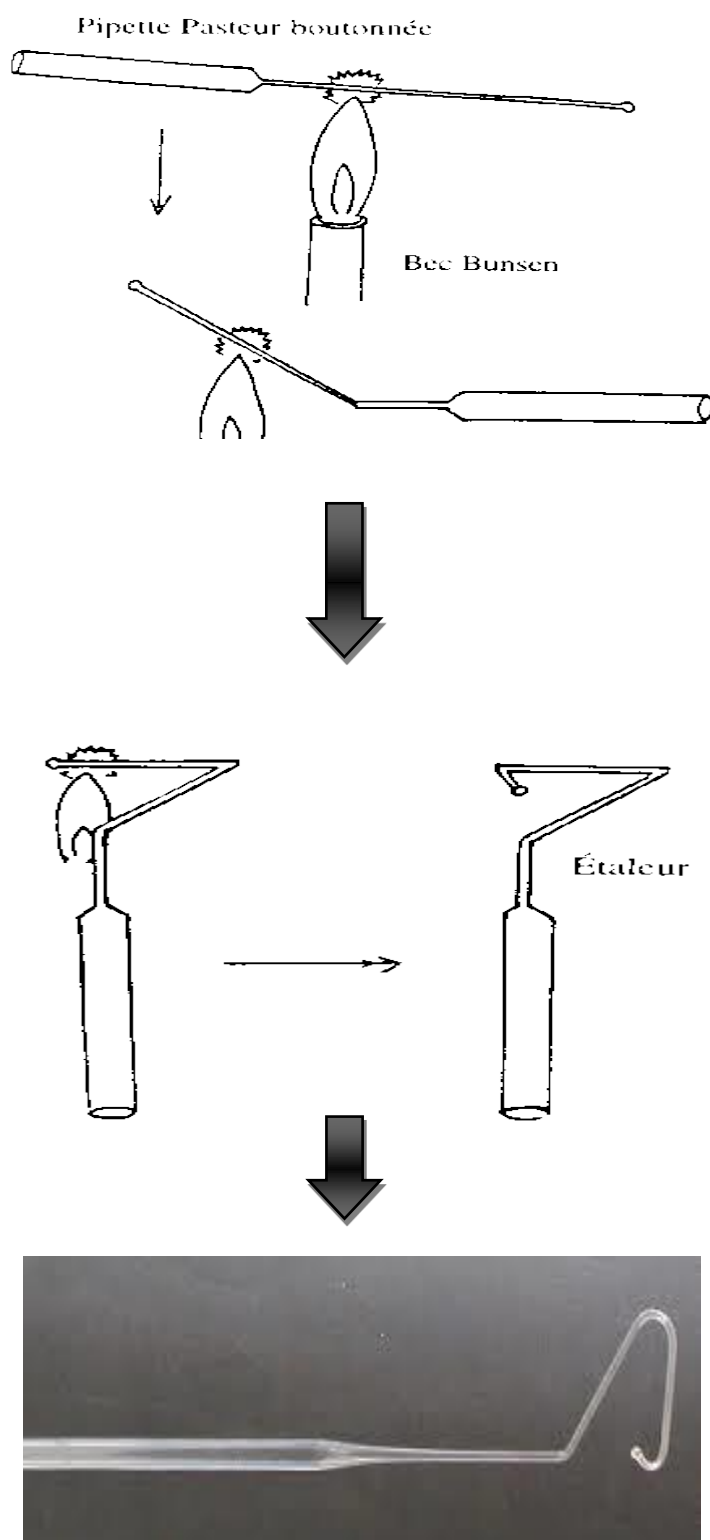


Figure 4 : Etapes de fabrication d'un râteau d'étalement

Annexe 4

• Technique d'ensemencement en surface

- Marquer les boîtes de milieu gélose (GLM) (exemple : 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}).
- Homogénéiser les tubes de suspension mère et de dilution.
- À l'aide d'une pipette pasteur stérile, on prélève 0,1 ml de la dilution 10^{-2} et posé à la surface de boîtes de milieu gélose (GLM) séchées.
- Avec autre pipette pasteur, procéder de manière identique pour les dilutions 10^{-3} puis 10^{-4} .
- Étaler l'inoculum rapidement à la surface du milieu gélose, à l'aide d'un étaloir stérile pipette de pasteur sous forme râteau) en évitant de toucher les parois de la boîte.
- Laisser sécher 15 minutes à température du laboratoire.
- Incuber les boîtes retournées à l'étuve, à la température convenable 30°C , pendant le temps indiqué 21 jours.

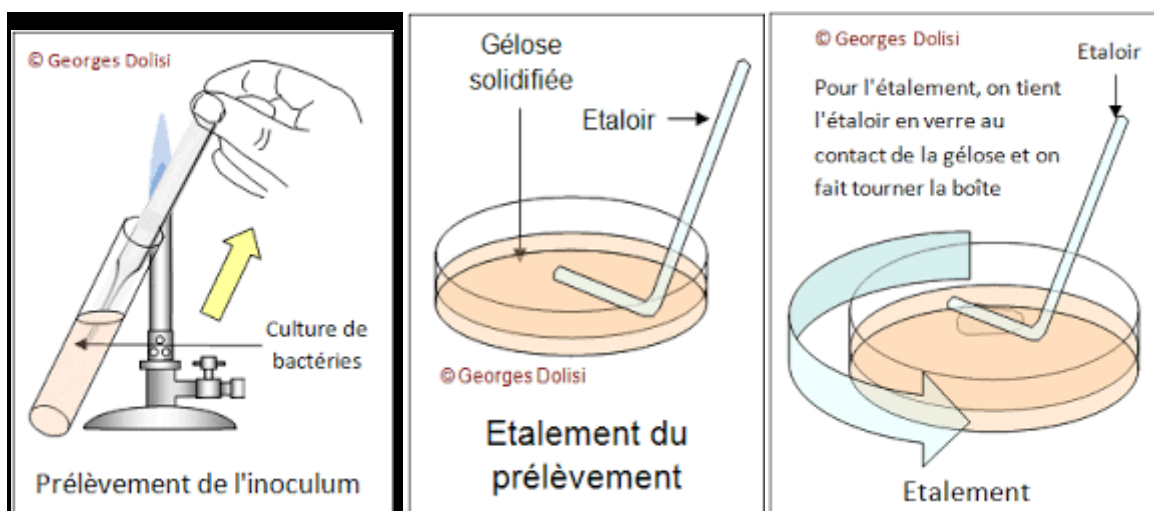


Figure 5 : Technique d'ensemencement en surface

