



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Abbès Laghrou Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master académique en
Biologie
Option : Biochimie appliquée

Thème

**Mise en évidence des activités enzymatiques et
antimicrobiennes d'actinomycètes isolées à partir
de sol de Khanchela**

Présenté par :

MERDACI AIDA et AOUN ASMA

Devant le Jury

Présidente : M^{eme} DAROUICHE F.

(MAA) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

Promotrice: M^{eme} MERABTI R.

(MAA) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

Examineur: M^{elle} LEULMI N.

(MAB) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

Année Universitaire : 2014-2015

Dédicaces

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire "Ya Kayoum".

Je dédie ce modeste travail

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère.

Que dieu les gardes et les protège.

A mes adorables soeurs Sarah, Hadil et Fatima, mes sincères affections.

Que dieu vous accorde sa grâce et vous guide dans le droit chemin.

A mes cher frère Zakà Amir et ALI pour son aide et sa compréhension.

Que dieu le protège.

A mes cousins et cousines, surtout Khiera, NADJET, HALIMA, AMINA, HADJER, DHIA ET AMIRA et à mes oncles et tante ainsi que toute ma famille, parce que même si on ne la choisit pas, la mienne est exceptionnelle.

A mon binôme Aida, et à toute sa famille que notre complicité dure encore longtemps.

A mes amies, ZINEB, KAHINA, Aya (youyou), Zahra et Khalida surtout FATIMA et SARAH

pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble et qui ont, sans aucun doute, contribué au bon déroulement de ma vie pendant ces 5 dernières années et par conséquent à la réussite de cette thèse, et à toute la promotion master BIOCHIMIE 2013-2015.

A mon respectée encadreur Melle Merabti Ryma pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi.

ASMA

Dédicace

Merci Allah de m'avoir donné la capacité, la force et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire "Ya Kayoum".

Je dédie le fruit de mes 17 bougies d'études aux plus précieux des trésors

:

Mes parents : ma tendre maman et mon cher papa,

Qui m'ont donné la vie

Qui m'ont appris tout ce que je sais

Qui m'ont nourri d'amour, enveloppé de confort.

Mon cher frère : YACINE que dieu le garde.

Mes à chaque cousin et cousine.

À ma soeur, mon binôme, ASMA qui m'a supporté durant ces dernières années. Et chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin ; aussi à sa famille.

À mes très chères et adorables amies : ZAHARA, MERIRM, R.M, DARJEN et IMAN pour leurs fidélité, leurs aide et tous les bons moments que l'on a passé ensemble. À tous mes amis (es) de la promotion 2013-2015 avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.

Mon plus profond respect va tout droit à mon professeur Melle Merabti Ryma pour l'effort fourni.

À tous mes professeurs qui mon éclairé la voie du savoir.

À tous ceux que j'aime très chères soeurs : KHOLOUD, CHAHAD

À toute ma famille surtout mes chers oncles et mes tantes ainsi que leur famille .

AIDA

Remerciement

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier :

Notre respectée encadreur M^{elle} Merabti Ryma, pour son encadrement, ses nombreux conseils et ses compétences scientifiques qui nous ont aidés tout au long de ce travail. Merci pour son soutien, ses nombreux encouragements et sa confiance.

Les membres de jury, Que chacun d'entre eux soit vivement remercié de nous avoir fait l'honneur d'accepter, de participer à ce jury, et le plaisir d'assister à notre soutenance. Recevez, l'expression de notre respectueuse gratitude pour l'attention et l'intérêt qui a été porté à ce travail.

Nous adressons un grand remerciement à l'ensemble des étudiants de master 2 Biochimie, ainsi que tous les étudiants du département de biologie.

Nous tenons à remercier aussi,

Le personnel de l'institut universitaire de biologie de la wilaya de Khenchela.

Nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Enfin, nous n'oublions pas de dire merci à nos familles car sans eux ce travail n'aurait pas vu le jour, et à tout ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de notre profonde gratitude.

ASMA ET AIDA

List des abréviations

ADNr: acide désoxyribonucléique ribosomal

AK : l'abbatoir de Khenchela

ARNr: acide ribonucléique ribosomal

CaCl₂ chlorure de calcium

CHU de Batna : centre hospitalier universitaire

CMC : carboxyméthylcellulose

FeSO₄ 7H₂O : sulfate de fer sept fois hydraté

IPA : l'Institut Pasteur d'Algérie

K₂HPO₄ : phosphate dipotassique

Kcl : chlorure de potassium

KI : iodure de potassium

MA : mycélium aérien

MgSO₄ 7H₂O : sulfate de magnésium sept fois hydraté

MS : mycélium du substrat

NA : N-Acetylglucosamine

NaCl : chlorure de sodium

NaNO₃ : Nitrat de sodium

YMEA : yeast malt extract agar

Unités de mesures

°C : Degré Celsius

g : Gramme

h: heure

ml : Litre, millilitre

mm: millimètre

List des tableaux

Tableau 1	La classification hiérarchique de la classe <i>Actinobacteria</i> basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr / ARNr 16S.....	3
Tableau 2	Répartition des actinomycètes dans la nature.....	6
Tableau 3	Les enzymes produites par les actinomycètes.....	11
Tableau 4	L'application des enzymes produits par les actinomycètes.....	12
Tableau 5	Les actinomycètes producteurs des antifongiques.....	13
Tableau 6	L'application des enzymes produits par les actinomycètes.....	14
Tableau 7	Liste des moisissures cité dans le Test de l'antagonisme fongique.....	17
Tableau 8	Liste des bactéries cité dans le test de l'antagonisme bactérienne et leur Gram.....	22
Tableau 9	Caractère macroscopique des isolats d'actinomycète.....	23
Tableau 10	Résultats des tests d'activité antifongique.....	27
Tableau 11	Résultats des tests d'activité enzymatique.....	30
Tableau 12	Résultats des tests d'activité antibactérien.....	34

Liste des figures

Figure 1 :	Cycle de développement de <i>Streptomyces griseus</i>	8
Figure 2 :	Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec des hyphes vivants et morts.....	8
Figure 3 :	Aspect de L isolat I3, I5, I7, I8, I16, I17 sur le milieu YMEA.....	24
Figure 4 :	Aspect macroscopique des l'isolat (I3, I5, I7, I8, I16 et I17) sur le milieu YMEA (le revert de la boîte)	25
Figure 5 :	Aspect microscopique (Gx40) des l'isolat (I3, I5, I7, I8, I16 et I17) sur le milieu YMEA.....	26
Figure 6 :	Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre <i>Aspergillus niger</i>	28
Figure 7 :	Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre <i>Fusarium oxysporum</i> (s1).....	28
Figure 8 :	Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre <i>Fusarium oxysporum</i> (s2).....	29
Figure 9 :	Activité enzymatique des isolats d'actinomycètes.....	31
Figure 10 :	Activité enzymatique des isolats d'actinomycètes.....	32
Figure 11 :	Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre <i>Salmonella</i>	34
Figure 12 :	Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre <i>E. coli</i>	34
Figure 13 :	Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre <i>Pseudomonas aerogenosae</i>	35

Table des matières

Résumé

Liste des figures et tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....01

I-Les actinomycètes

I-1-Définition des actinomycètes.....02

I-2-Classification des actinomycète.....02

I-3-Ecologie des actinomycètes.....04

I-3-1-Le sol.....04

I-3-2-Le milieu marin.....05

I-3-3- L'air.....05

I-3-4- les végétaux, les animaux.....05

I-4-les Caractères des actinomycètes.....06

I-4-1- Caractères macroscopiques et microscopiques.....06

I-4-2-Les caractères physiologiques.....07

I-5- Cycle de développement des actinomycètes.....07

II- L'activité enzymatique et l'activité antimicrobienne

II-1-L'activité enzymatique des actinomycètes et leur application.....09

II-1-1- Les protéases.....09

II-1-2- Les cellulases.....09

II-1-3-Les chitinases.....09

II-1-4- Les amylases.....10

II-1-5- Les xylanases.....10

II-1-6- Les ligninases.....	10
II-1-7-Les pectinases.....	10
II-1-8-Les lipases.....	10
II-2-L'activité antimicrobienne et leur application.....	13
II-2-1-L'activité antifongique des actinomycètes et leur application.....	13
II-2-2-L'activité antibactériens des actinomycètes et leur application.....	14

Matériel et Méthodes

1-Origin des souches.....	16
2-Etude macroscopique.....	16
3- Etude microscopique.....	16
4- Test d'antagonisme fongique.....	16
5- Criblage de l'activité enzymatique.....	17
5-1-L'activité cellolytique.....	17
5-2-L'activité lipolytique.....	18
5-3-L'activité amylolytique.....	19
5-4-L'activité protéolytique.....	20
5-5-l'activité de gélatinase.....	20
5-6-L'activité de Estérase.....	21
6- Test de l'antagonisme bactérien.....	22

Résultats et discussion

1-Etude macroscopique.....	23
2- Etude microscopique.....	26
3- Test de l'antagonisme fongique.....	27

4- Criblage de l'activité enzymatique.....	30
5- Test de l'antagonisme bactérien.....	33
Conclusion.....	36
Références bibliographiques	37
Annexes	

Introduction

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses à Gram-positif. Elles constituent l'un des groupes bactériens les plus versatiles et les plus importants de point de vue écologique et biotechnologique. En effet, ces microorganismes ont une grande capacité à produire de nombreux métabolites secondaires ayant des structures chimiques et des activités biologiques très diverses tels que des antibiotiques, des antifongiques, des enzymes, des stimulateurs et/ou des inhibiteurs de la croissance. De ce fait, les actinomycètes peuvent représenter un moyen de lutte efficace, persistant et sans effets négatifs vis à vis de l'environnement en comparaison avec les traitements chimiques et remplacer ainsi l'utilisation des antibiotiques systémiques (**Loqman, 2009**).

Les actinomycètes représentent une source biologique utile d'antimicrobiens contre des mycètes et des bactéries pathogènes. Ils sont surtout réputés pour leur grande capacité à produire naturellement des antibiotiques: environ 70% des molécules actives d'origine microbienne (**Okami et Hotta, 1988**), avec des possibilités intéressantes génétiquement pour la production de 10 à 20 métabolites pour chaque souche (**Islam et al., 2009**). Les actinomycètes représentent un pourcentage élevé de la biomasse microbienne du sol. Ils ont la capacité de produire une large variété d'hydrolases extracellulaires, qui leur confèrent un rôle dans la décomposition de la matière organique dans le sol (**Valois, 1996**). Leur pouvoir antagoniste prononcé leur confère un rôle dans la distribution écologique des microorganismes et dans la lutte biologique contre certains agents phytopathogènes du sol (**Goodfellow et Williams, 1983**). Ils sont aussi capables de dégrader ou de recycler certaines toxines produites par des champignons toxigènes et réduire aussi leur teneur dans les produits finaux en agro-alimentaire (**Holzappel et al., 2002**).

Dans le but de rechercher des souches d'actinomycètes potentiellement productrices de substances bioactives et ayant des activités de biodégradation, nous sommes intéressés au criblage de différentes activités à partir de six isolats d'actinomycètes isolés à partir de sol de la région de Khanchela. Pour ce faire, nous avons procédé de la manière suivante :

- La caractérisation microscopique et macroscopique des isolats ;
- La recherche de différentes activités enzymatiques ;
- La mise en évidence de l'antagonisme antibactérien et antifongique.

I- Les actinomycètes

I-1- Définition

Les actinomycètes sont des bactéries à Gram positif avec un coefficient de chargaff (G+C%) élevé, saprophytes, largement distribuées dans le sol, l'eau et les plantes montrant une diversité chimique et morphologique marquée, mais forment une ligne distincte de l'évolution des organismes (**Goodfellow et O'Donnell,1989**). Leur croissance est plus lente que celle des autres bactéries ; le temps de génération moyen est d'environ 2 à 3 heures (**Ottow et Glathe, 1968 ; Larpent et Sanglier, 1989**).

I- 2- Classification des actinomycètes

Selon la classification du "Taxonomic Outline of The Procaryotes, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", seconde édition 2004 (**Garrity et al., 2004**). Le Phylum *Actinobacteria* (bactéries à Gram positif et GC % élevé) est constitué d'une seule classe dénommée également "*Actinobacteria*". Celle-ci a été décrite par (**Stackebrandt et al.,1997**).

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. Tous les membres de cet ordre sont caractérisés par leur grande teneur en G+C%, allant de 51% chez certaines *Corynebactéries*, à plus de 70% chez les genres *Streptomyces* et *Frankia* (**Ventura et al., 2007**).

Stackebrandt et al.,(1997) ont proposé une nouvelle classification hiérarchique des actinomycètes qui repose uniquement sur l'analyse des séquences des ARNr 16S et des gènes codant pour les ARNr 16S. Donc, ils ont décrit une nouvelle classe, qui se définit comme un ensemble de souches présentant plus de 80 % de similitude dans la séquence des ARNr 16S ou de l'ADNr 16S et possédant un résidu adénine à la position 906 et un résidu adénine ou cytosine à la position 955 (**tableau 1**).

Tableau 1: La classification hiérarchique de la classe *Actinobacteria* basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADNr / ARNr 16S (Garrity *et al.*, 2004).

Classe <i>Actinobacteria</i>				
S/C1 <i>Acidimicrobidae</i>	S/C1 <i>Rubrobacteridae</i>	S/C1 <i>Coriobacteridae</i>	S/C1 <i>Sphaerobacteridae</i>	S/C1 <i>Actinobacterid e</i>
S/C1 <i>Actinobacteride</i>				
<i>Bifidobacteriales</i>		Ordre	<i>Actinomycetales</i>	
<i>Actinomycetales</i>				
S/O <i>Actinomycineae</i>	S/O <i>Micrococcineae</i>	S/O <i>Corynebacterineae</i>	S/O <i>Micromonosporina eae</i>	S/O <i>Propionibacter ineae</i>
Famille	Famille	Famille	Famille	Famille
<i>Actinomycetacea e</i>	<i>Micrococcaceae Bogoriellaceae Rarobacteraceae Sanguibacteraceae Brevibacteriaceae Cellulomonadaceae Dermabacteraceae Dermatophilaceae Dermacoccaceae Intrasporangiaceae Jonesiaceae Microbacteriaceae Beutenbergiaceae Promicromonospor aceae</i>	<i>Corynebacteriaceae Dietziaceae</i>	<i>Micomonospoiaceae</i>	<i>Propionibacteri aceae Nocurdioidace ae</i>

S/O	S/O	S/O	S/O	S/O
<i>Pseudonocardin eae</i>	<i>Streptomycineae</i>	<i>Streptosporagineae</i>	<i>Frankinea</i>	<i>Glycomycineae</i>
Familles	Famille	Familles	Familles	Famille
<i>Pseudonocardia ceae</i> <i>Actinozynnematce ae</i>	<i>Streptomycineae</i>	<i>Streptosporagineae</i> <i>Nocardiopsaceae</i> <i>Themonospoaceae</i>	<i>Frankinea</i> <i>Geodermatophilace ae</i> <i>Microsphaeraceae</i> <i>Sporichthyaceae</i> <i>Acidotherma ceae</i> <i>Kineosporiaceae</i>	<i>Glycomycineae</i>

S/CI :sous classe, S/O :sous ordre

I-3-Ecologie des actinomycètes

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**). La grande majorité est d'origine tellurique et c'est à partir du sol que ces bactéries peuvent coloniser de nombreux biotopes (air, composts, eau, fourrages, fumiers, grains, canne à sucre, etc.) (**tableau 2**) et dans des zones géographiques variées : l'extrême nord, l'arctique, les tropiques, les plus hauts sommets des montagnes et les déserts (**Lacey et al., 1997**).

I-3-1-Le sol

Certaines souches d'actinomycètes retrouvées dans les sols polaires gelés en permanence tout comme dans des sols désertiques chauds et secs, les sols hautement contaminés par

des métaux lourds, les sols pollués par les hydrocarbures et les grottes naturelles (**Moncheva et al., 2002**). Dans les sols sahariens d'Algérie, les *Streptomyces* constituent entre 15 et 60 % de la totalité des microorganismes et peuvent même dépasser les 85 % dans les horizons profonds des sols des palmeraies (**Sabaou et al., 1992**).

I-3-2-Le milieu marin

Certaines souches d'actinomycètes ont été retrouvées dans des environnements marins (**Singh et al., 2006 & Imada et al., 2007**), dans des sédiments situés à plus de 4000 m de profondeur (**Khattabi et al., 2002**).

Les actinomycètes sont également présents dans les lacs extrêmement alcalins, les lacs salés, en revanche il semblerait qu'ils sont absents dans les eaux minières très acides (pH <1) et les sources thermales très chaudes d'origine volcaniques (**Lechevalier, 1981**).

I-3-3- L'air

L'air constitue pour les actinomycètes, non pas un habitat, mais un moyen de transport. Les spores des actinomycètes sont des contaminants importants de notre environnement. L'exposition à ces derniers peut causer des effets néfastes sur la santé (**Gazenko et al., 1998 ; Reponen et al., 1998 ; Suutari et al., 2002**).

I-3-4- les végétaux et les animaux

Les premières souches d'actinomycètes aient été isolées de sources humaines et animales respectivement par COHN en 1875 et NOCARD en 1888 (**Zaitlin et al., 2003**). La plupart des actinomycètes sont saprophytes mais quelques uns peuvent être pathogènes ou symbiotes des plantes et des animaux (**Suzuki et al., 1994**). En générale, les actinomycètes sont des hétérotrophes, mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimioautotrophe (**Ensign et al., 1993**).

Tableau 2 : Répartition des actinomycètes dans la nature (**Goodfellow, 1983**)

Genre	Habitat
<i>Actinomadura</i>	Sol
<i>Actinoplanes</i>	Sol, eau, litière.
<i>Frankia</i>	Nodule des racines
<i>Microbispora</i>	Sol
<i>Micromonospora</i>	Sol, eau
<i>Nocardi</i>	Sol, eau
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier, litière.
<i>Sacharomonospora</i>	Matière en décomposition
<i>Streptomyces</i>	Sol, eau, litière.
<i>Streptosporangium</i>	Sol
<i>Thermoospora</i>	Matière en décomposition et fermentation

I-4-Les caractères des actinomycètes

I-4-1- Caractères macroscopiques et microscopiques

D'après **Nouredine, (2006)** et **Boudjella *et al.*, (2007)**, les caractères cultureux contribuent parfois dans la différenciation des genres d'actinomycètes entre eux. Parmi les caractères macroscopiques importants :

- La production d'un mycélium aérien (MA)
- La présence ou non de mycélium du substrat (MS).
- La couleur du MA et du MS.
- La production et la couleur des pigments diffusibles dans le milieu de culture.

Les caractères microscopiques importants :

- La fragmentation ou non du MS.
- La formation de spores exogènes sur le MA et/ou sur la MS, leur forme, leur taille et leur agencement (isolées, en chaînes) la présence ou non de sporophores, la surface des spores (lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue).
- La présence ou non de sporanges sur le MA ou sur le MS, la forme et la taille des sporanges, le nombre de spores par sporange ainsi que la longueur des

sporangiophores.

- La présence de spores mobiles (ex : *Planomonospora*, *Planobispora*, *Spirillospora*, Synthèse Bibliographique Actinoplanes) ou non mobiles (ex : *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, ainsi que de nombreux autres genres...).
- La formation d'endospores (Thermoactinomyces) ou la présence de structures Particulières comme les sporanges, les sclérotés ou synnemata (*Actinosynnema*).

I-4-2-Les caractères physiologiques

Physiologiquement, il est possible de distinguer les formes aérobies qui sont de très loin les plus nombreuses, et des types anaérobies trouvés primitivement chez les animaux et l'homme. Les actinomycètes préfèrent un pH neutre ou peu alcalin, ils sont généralement mésophiles, d'autres sont thermophiles tolérants des températures avoisinant les 50°C et peuvent aller jusqu'à 60°C (Omura, 1992).

I-5- Cycle de développement des actinomycètes

Le cycle biologique des *Streptomyces* (**figure 1**) est comparable à celui de nombreux micromycètes eucaryotes. Sur milieu solide, débute par la germination d'une spore qui donne naissance à un mycélium végétatif formé d'hyphes multi-nucléoïde, ramifiés et ancrés dans le milieu solide (**figure 2**). Un mycélium aérien se développe sur ce mycélium végétatif, en utilisant ce dernier comme substrat. En effet, le mycélium végétatif s'autolyse et les produits de la lyse sont cannibalisés par le mycélium aérien (Miguélez *et al.*, 1999). La croissance des hyphes est apicale, et s'accompagne de la formation de septa, conduisant à des unités uni-génomiques. Les cellules se différencient ensuite pour former à des spores. Cela se traduit par l'épaississement des parois cellulaires (qui rend les spores plus résistantes à la dessiccation), une spiralisation des chaînes, accompagnée d'un dépôt de pigment gris. En milieu liquide, les cellules se développent uniquement sous forme de mycélium végétatif, même si

certaines *Streptomycètes* peuvent sporuler dans cet environnement (Hodgson, 1992).

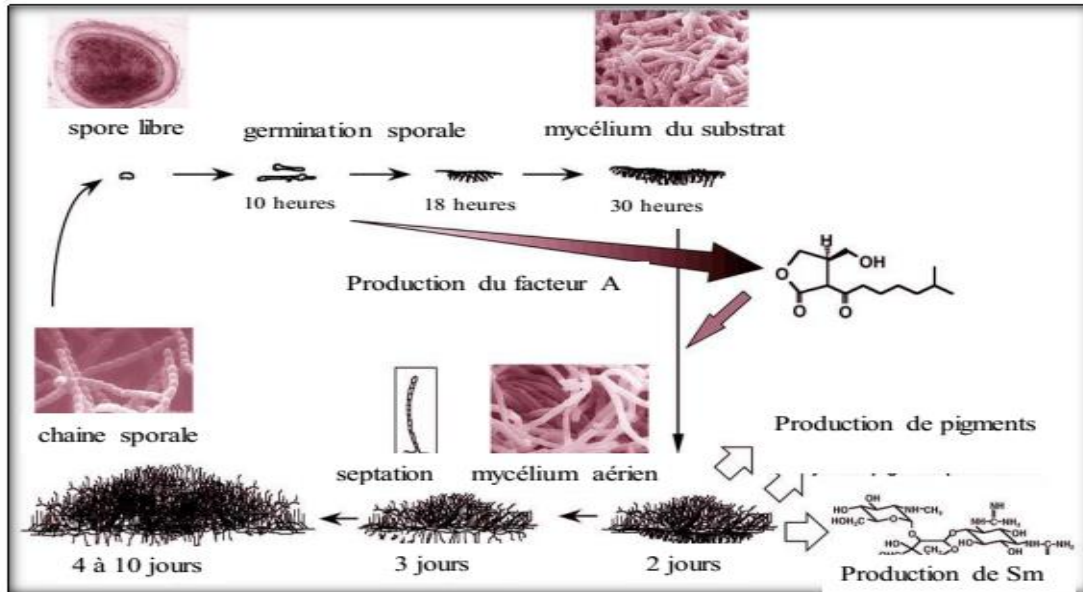


Figure 1: Cycle de développement de *Streptomyces griseus* (Horinouchi, 2002).

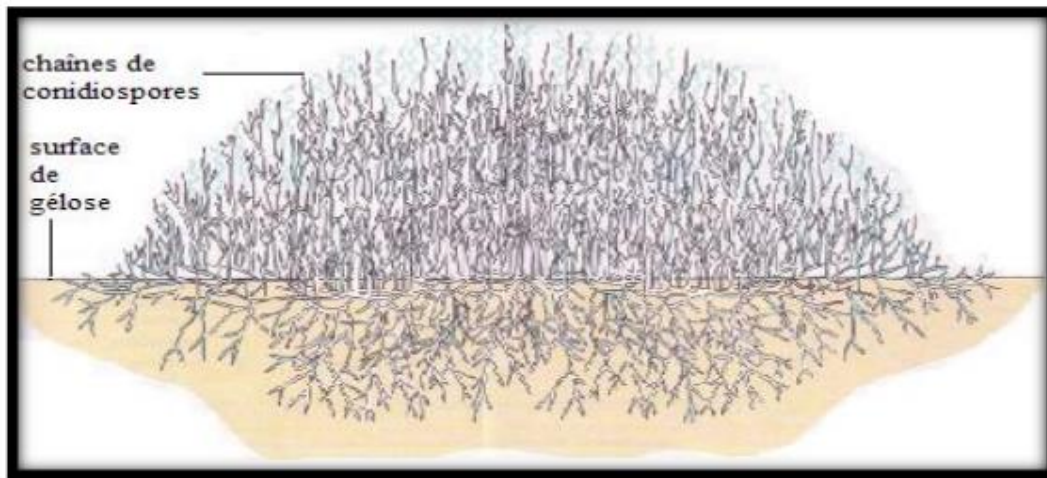


Figure 2: Coupe transversale d'une colonie d'actinomycète avec des hyphes vivants et morts. Le mycélium végétatif et le mycélium aérien avec des chaînes de conidiospores (Prescott *et al.*, 2003).

II- L'activité enzymatique et l'activité antimicrobienne

Les composés bioactifs sont de haute valeur commerciale, et donc les actinomycètes sont régulièrement criblés pour la production de nouveaux composés bioactifs. Un large éventail d'enzymes et de leurs produits appliquée dans industries biotechnologiques et biomédicales champs a été rapporté à partir de différents genres d'actinomycètes (**Divya et al., 2013**).

II-1-L'activité enzymatique des actinomycètes et leur application

Les propriétés les plus significatives des actinomycètes sont leur capacité à se développer sur les substrats les plus divers et leur aptitude à synthétiser de très nombreux métabolites bioactifs, parmi lesquels les enzyme (**tableau 3**), qui après les antibiotiques sont les produits les plus importants des actinomycètes (**Lopes et al., 1999**).

II-1-1-Les protéases

Des protéases alcalines thermostables sont produites par les espèces thermophiles du genre *Micropolyspora*, d'autres protéases résistantes à la majorité des inhibiteurs de protéases, sont isolées à partir du genre *Oerskovia*, d'autres genres d'actinomycètes tel que les genres *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Nocardiopsis*, *Planomonospora*, *Planobispora* sont capables de produire des kératinases. Les élastinases sont élaborées par plusieurs souches appartenant à 14 genres d'actinomycètes (**Demain et Solomon, 1985 ; Chitte et al., 1999**).

II-1-2-Les cellulases

Les actinomycètes, en particulier les espèces thermophiles et les *Streptomyces*, excrètent des enzymes qui dégradent la cellulose . D'autres espèces d'actinomycètes produisent des enzymes qui dégradent l'hémicellulose (**Rivas et al., 2003**).

II-1-3-Les chitinases

Chitinases sont une autre classe des hydrolases qui ont pris une importance considérable dans le passé deux décennies. Ils sont glycosyle hydrolases qui catalysent la dégradation de la chitine, qui est un polymère insoluble linear β -1,4-lié de la N-acétylglucosamine (GlcNAc)(**Divya et al., 2013**). Elles sont produites par de nombreux genres d'actinomycètes tel que les genres *Microbispora*, *Micromonospora*, *Nocardiopsis*, *Planobispora*, *Planomonospora*, *Thermoactinomyces*, *Thermomonospora* et par les espèces *Nocardia mediterranei*,

Actinomadura pelletierii (Hsu et Lockwood, 1975 ; Demain et Solomon, 1985).

II-1-4-Les amylases

Elles sont produites par la majorité des actinomycètes, les plus intéressantes sont celles produites par les espèces thermophiles comme *Thermoactinomyces vulgaris*, *Thermomonospora curvata*, *Saccharomonospora viridis* et les espèces du genre *Streptomyces* (Demain et Solomon, 1985 ; Sanglier *et al.*, 1993).

II-1-5-Les xylanases

Elles sont élaborées par des espèces thermophiles du genre *Streptomyces* et des souches du genre *Promicromonospora*, ainsi que par différentes espèces de *Microbispora*, *Micromonospora* et *thermomonospora* (Demain et Solomon, 1985 ; Rivas *et al.*, 2003 ; Petrosyan *et al.*, 2003).

II-1-6-Les ligninases

Beaucoup d'espèces d'actinomycètes tel que *Streptomyces thermoviolaceus*, *Streptomyces viridosporus*, *Streptomyces fusca* ont une activité lignocellulolytique et sont capable de produire l'hémoperoxydase, enzyme qui dégrade la lignine (Mason *et al.*, 2001).

II-1-7-Les pectinases

La production d'enzymes pectolytiques est élaborée par différents genres d'actinomycètes tel que : *Micromonospora*, *Microbispora*, *Actinoplanes*, *Streptosporangium* et les *Streptomyces* (Demain et Solomon, 1985 ; Sanglier *et al.*, 1993).

II-1-8 -Les lipases

Les lipases endo et exocellulaires sont isolées à partir de l'espèce *Thermoactinomyces vulgaris*. Des phospholipases sont également isolées avec un taux élevé à partir des espèces du genre *Streptoverticillium* et de l'espèce *Micromonospora chalcea* (Demain et Solomon, 1985).

Tableau 3 : Les enzymes produites par les actinomycètes (Diva *et al.*, 2013).

Enzyme	Souche productrice	Stabilité du pH	La stabilité thermique	Spécificité du Substrat
Cellulase	<i>Recombinant Streptomyces sp.</i>	5.0–12.0	40–50°C	CMC
	<i>Thermobifida halotolerans</i> <i>Cellulase</i>	6.0–8.0	40-50°C	CMC
	<i>Recombinant Streptomyces sp.</i>	10.0	40°C	CMC
	<i>Thermomonospora sp</i>	7.0–10.0	50°C	CMC
	<i>Streptomyces ruber</i>	5.5–7.0	35–40°C	CMC
Xylanase	<i>Actinomadura sp.</i>	4.0	70°C	Xylan
	<i>Recombinant strain</i>	5.0–7.0	70–80°C	Xylan
	<i>Recombinant strain</i>	5.0–7.0	60-70°C	Xylan
	<i>Streptomyces spp.</i>	8.0–11.0	45–60°C	Xylan
Amylase	<i>Streptomyces sp.</i>	5.0–7.0	45–50°C	Amidon
	<i>Streptomyces erumpens</i>	9.0-10.0	40–50°C	Amidon
	<i>Amylase Nocardiosis sp.</i>	8.6	70–80°C	Amidon
	<i>Thermobifida fusca</i>	5.0–7.0	60°C	Amidon
	<i>Nocardiosis sp</i>	5.0–10.0	35–45°C	Amidon
Pectinase	<i>Streptomyces lydicus</i>	4.0–7.0	45°C	Acide polygalacturonique
Protease	<i>Thermoactinomyces sp.</i>	4.0	50°C	NA
	<i>Nocardiosis sp.</i>	10.0	40–50°C	Caséine
	<i>Protease Streptomyces pactum</i>	7.5	40°C	Caséine
	<i>Streptomyces thermoviolaceus</i>	6.5	65°C	Kératin
	<i>Streptomyces sp.</i>	4.0–11.0	30–60°C	Kératin

Les enzymes sont de haute valeur commerciale et les actinomycètes ont été employées de façon continue de la production de protéases, des cellulases, chitinases, les amylases, les xylanases et d'autres représentant exemples d'enzymes industriellement importants de actinomycètes sont discutés ci-dessous, et leurs propriétés enzymatiques sont résumé dans le **Tableau 4. (Diva *et al.*, 2013).**

Tableau 4: L'application des enzymes produits par les actinomycètes (Diva *et al.* , 2013).

Enzyme	Utilisation	Secteur d'application
Protéase	Détergents La fabrication du fromage Clarification Bière à faible teneur en calories Traitement de caillot de sang	Détergent Alimentaire Brassage Cuir Médecine
Cellulase	L'élimination des taches Finition Ramollissement Coton Potable, les modifications de fibres	Détergent Textile Pâtes et papiers
Lipase	L'élimination des taches La stabilité de la pâte et conditionnement Arôme de fromage Boire, nettoyage	Détergent Cuisson Produits laitiers Textile
Xylanase	Conditionnement de la pâte Digestibilité Bleach stimuler	Cuisson Les aliments pour animaux Pâtes et papiers

Pectinase	Clarification, purée	Boisson
	Décapage	Textile
Amylase	L'élimination des taches	Détergent
	Douceur de pain douceur et volume	Cuisson
	Boire, drainage	Pâtes et papiers
	amélioration	
	La production de glucose et sirops de fructose	Industrie de l'amidon
	Enlèvement d'amidon de tissé	Textile

II-2-L'activité antimicrobienne et leur application

II-2-1-L'activité antifongique des actinomycètes et leur application

L'activité antagoniste de *Streptomyces* vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires des enzymes hydrolytiques (Prapagdee *et al.*, 2008). Plus de 200 molécules appartenant à la classe chimique des polyènes, pour la plupart isolées chez des bactéries du genre *Streptomyces*, ont une activité antifongique Bien que les polyènes puissent être synthétisés chimiquement, ils sont encore produits aujourd'hui, pour des raisons économiques, à partir de cultures de *Streptomyces spp* (Vandeputte, 2008). (tableau 5)

Tableau 5: Les actinomycètes producteurs des antifongiques (Loucif, 2011).

Actinomycètes producteurs	Les agents antifongiques
<i>Streptomyces</i>	Blasticidine
<i>Streptomyces humidus</i>	phenylacétate
<i>Nocaridia transvalensis</i>	transvalencine
<i>Streptomyces nodosus</i>	Amphotéricine B

Les substances antifongiques sont actuellement utilisées dans trois domaines principaux: en thérapeutique humaine et vétérinaire (antifongiques systémiques ou topiques), dans l'industrie alimentaire (conservateurs) et en alimentation animale, pour la prévention et le traitement des atteintes fongiques des plantes, du bois de construction ou d'autres matériaux (**Bastide et al., 1986**).

II-2-2-L'activité antibactériens des actinomycètes et leur application

Les actinomycètes tiennent une très grande importance dans le domaine de la biotechnologie des antibiotiques, malgré les progrès de synthèses chimiques. En effet, 45% des antibiotiques connus, sont naturellement issus des actinomycètes et plus particulièrement du genre *Streptomyces* (**Sibanda et al., 2010**). (**Tableau 6**)

Tableau 6 : Les actinomycètes productrice des antibactériens (**Loucif, 2011**).

Actinomycètes producteurs	Antibactériens
<i>Micromonospora sp.</i>	Clostrymicine
<i>Streptomyces griseus</i>	Candicidine
<i>Streptomyces lydicus</i>	Streptolydigne
<i>Streptomyces lindensis</i>	Rétamycine
<i>Marinispora sp.</i>	Marinomycine
<i>Verrucosipora sp.</i>	Abyssomycine

Parmi les nombreux antibactériens issus d'actinomycètes, on peut citer comme exemple :

- Les gentamicines produites par *Micromonospora spp.* Administrées par voie parentérales pour traiter des infections sévères des germes à Gram-négatif.
- La rifampicine, un dérivé de la rifamicine produite par *Nocardia mediterranei*, utilisée dans le traitement de la tuberculose (**Ouhdouch , 2001**).
- Les antibiotiques issus des Actinomycètes sont utilisés en élevage comme adjuvants pour l'alimentation animale en stimulant la croissance et en améliorant le rendement alimentaire ou en protégeant les jeunes en début d'élevage. C'est le cas des bambermycines utilisées chez le porc et les volailles.

- Les antibiotiques sont aussi largement utilisés en médecine vétérinaire, comme l'ivermectine produite par *Streptomyces avermitilis*, qui est un anthelminthique (contre les nématodes chez les animaux) (**Stapley et Woodruff, 1982**).
- Les activités des antibiotiques destinés à l'agriculture s'étendent à différents domaines comme le contrôle des maladies des végétaux (insecticides, herbicides et régulateurs du métabolisme végétal). La blasticidine S est un puissant fongicide de type nucléotidique, connue pour son activité sur *Piricularia oryzae*, pathogène chez le riz (**Demain, 1995**).

1-Origine des souches

Cette étude est consacré le criblage de l'activité enzymatique et l'activité antimicrobienne de six isolats d'actinomycètes (I3, I5, I7, I8, I16 et I17) fournit par Mme LEULMI N (Laboratoire de génie microbiologique et applications. Département de sciences de la nature et de la vie. Université Constantine 1) isolés à partir de sol forestier rhizosphérique et montagneux de la wilaya de Khenchela.

2-Etude macroscopique

Les caractères morphologiques et culturaux sont déterminés sur un milieu de culture (YMEA) **Annexe 1**, le milieu est couler dans des boites de pétris, ils sont ensuite ensemencer en stries et incubé pendant 14 jour à 25 °C. L'étude de l'aspect macroscopique est basé essentiellement sur la croissance du MA et MS et de leur couleurs (**Williams et al., 1989**).

3- Etude microscopique

Les isolats obtenus sur le milieu de culture cité précédemment sont observés à l'aide d'un microscope optique (**OPTIKAx40**) 14 jours d'incubation à 25 °C. Ces observations sont réalisées directement sur les boites de Pétri. Elles consistent à voir également la sporulation caractéristique des souches sélectionnées (**Williams et al., 1989**).

4- Test de l'antagonisme fongique

L'étude de l'antagonisme fongique est réalisée par la méthode de cylindre d'agar. Les six isolats d' actinomycètes (I3, I5, I7, I8I, 16 et 17) sont ensemencer en strie serré à la surface du milieu YMEA et incubé à la température de 25 °C pendant 14 jours. Des cylindres de 5 mm de diamètre sont alors prélevés à l'emporte-pièce et déposer à la surface du milieu malt agar (**Annexe 2**) , puis ensemencé par touche au centre les souches fongique tests (**tableau 7**) .

Matériel et méthode

Tableau 7 : Liste des moisissures cité dans le Test de l'antagonisme fongique

souche test	origine
<i>Aspergillus niger</i>	Laboratoire de génie microbiologique et applications. Département des sciences de la nature et de la vie. université Constantine 1
<i>Fusarium oxysporum</i> (s1)	
<i>Fusarium oxysporum</i> (s2)	

(s1) : souche 1, (s2) : souche 2.

Les boîtes de Pétris sont ensuite placées à 4 °C de 2 à 4 heures pour permettre une diffusion des substances et après elles sont incubées à la température de 25 °C pendant 48 heures. Une activité positive est caractérisée par présence des zones d'inhibition formée autour des cylindres (**Pazhanimurugan et al., 2012**).

5-Criblage de l'activité enzymatique

En test les activités enzymatiques des six isolats d'actinomycètes (I3, I5, I7, I8, I16 et I17), les enzymes recherchées sont les suivantes : cellulase, lipase, amylase, protéase, gélatinase et estérase.

5-1-L'activité cellolytique

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de la cellulose selon la méthode de **Sreenivasa et Vidyasagar (2012)**, en cultivant les isolats sur un milieu de culture contenant la cellulose comme source de carbone, la composition du milieu de culture utilisé en g/L (**Annexe 3**).

- **Principe**

- Couler le milieu dans les boîtes de pétri ;
- Laisser solidifier et sécher ;

Matériel et méthode

- Ensemencer les boites de pétri de ce milieu par un strie unique avec l'isolat concerné ;

- Incuber à 25 °C Pendant 48 à 72 h, ajouté une solution 5 ml de KI (1 %).

- **La lecture**

Le test d'activité est basé sur hydrolyse de cellulose par l'observation d'un halo translucide autour de la colonie à près d'ajouté une solution de KI (1 %).

5-2-L'activité lipolytique

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de lipide selon la méthode de **(Vishnupriya et al., 2010)**, en cultivant les isolats sur un milieu de culture contenant tween comme source de carbone, la composition du milieu de culture utilisé en g/L (**Annexe 4**).

- **Principe**

- Couler le milieu dans les boites de pétri ;

- Laisser solidifier et sécher ;

- Ensemencer les boites de pétri de ce milieu par un strie unique avec l'isolat concerné ;

- Incuber à 25 °C Pendant 48 à 72h.

- **La lecture**

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse des lipides par l'observation directe d'un halo translucide autour de la colonie.

5-3-L'activité amylolytique

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de l'amidon selon la méthode de **Sreenivasa et Vidyasagar (2012)**, en cultivant les isolats sur un milieu de culture contenant l'amidon comme source de carbone, la composition du milieu de culture utilisé en g/L (**Annexe 5**).

- **Principe**

- Couler le milieu dans les boites de pétri ;

- Laisser solidifier et sécher ;

Matériel et méthode

-Ensemencer les boites de pétri de ce milieu par un strie unique avec l'isolat concerner;

-Incuber à 25 °C Pendant 48 à 72h, a prés d'ajouté une solution de lugol.

- **La lecture**

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de l'amidon par l'observation d'un halo translucide autour de la colonie après l'ajoute de lugol.

5-4-L'activité protéolytique

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de protéine selon la méthode de **Sreenivasa et Vidyasagar (2012)**, la composition du milieu de culture utilisé en g/L (**Annexe 6**).

- **Principe**

-Coulé le milieu dans les boites de Pétri ;

-Laisser solidifier et sécher ;

-Ensemencer les boites de Pétri de ce milieu un strie unique avec l'isolat concerner ;

-Incuber à 25 °C Pendant 48 à 72h.

- **La lecture**

Le test d'activité est basé sur hydrolyse de protéine par l'observation directe d'un halo translucide autour de la colonie.

5-5-l'activité de gélatinase

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de gélatine selon la méthode de **Gulve et Deshmukh (2011)**, en cultivant les isolats sur un milieu de culture contenant la gélatine comme source de carbone, la composition du milieu de culture utilisé en g/L (**Annexe 7**).

- **Principe**

-Coulé le milieu dans les boites de Pétri ;

-Laisser solidifier et sécher ;

-Ensemencer les boites de Pétri de ce milieu par un strie unique avec l'isolat concerner ;

Matériel et méthode

-Incuber à 25 °C Pendant 48 à 72h, a prés l'incubation ajouté une solution de Hg cl₂ (1.5%).

- **La lecture**

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de gélatine par l'observation d'un halo translucide autour de la colonie prés d'ajouté une solution de Hg cl₂ (1.5%).

5-6-L'activité de Estérase

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse des ester selon la méthode de **Camille, (2006)**, la composition du milieu de culture utilisé en g/L (**Annexe 8**).

- **Principe**

-Couler le milieu dans les boites de Pétri ;

-Laisser solidifier et sécher ;

-Ensemencer les boites de Pétri de ce milieu par un trie avec les souches à étudier ;

-Incuber à 25 °C Pendant 48 à 72h.

- **La lecture**

Le test d'activité est basé sur l'hydrolyse de l'ester par l'observation directe d'un halo claire autour de la colonie.

6-Test de l'antagonisme bactérien

L'étude de l'antagonisme bactérien est réalisée par la méthode de cylindre d'agar. Les isolats d'actinomycètes sont ensemencer en strie serré à la surface du milieu YMEA et incuber à la température de 25 °C pendant 14 jours. Des cylindres de 5 mm de diamètre sont alors prélevés à l'emporte-pièce et déposés à la surface du milieu Mueller Hinton (**Annexe 8**),préalablement ensemencé par une suspension de

Matériel et méthode

chaque bactéries tests le **tableau 8**.

Tableau 8: Liste des bactéries cité dans le test de l'antagonisme bactérienne et leur Gram

Les souches	Origine	Gram
<i>Escherichia coli</i>	IPA	négatif
<i>Proteus mirabilis</i>	Oued Baghai	négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IPA	négatif
<i>Salmonella sp</i>	CHUB	négatif
<i>Bacillus cereus</i>	CHUB	Positif
Staphylococcus aureus	AK	Positif

IPA : l'Institut Pasteur d'Algérie CHUB: centre hospitalier universitaire AK : abbatoir de Khenchela

Les boites pétris sont ensuite placées à 4 °C pendant 2 à 4 heures pour permettre une diffusion des substances et après elles sont incubées à la température de 28 °C pendant 24 heures. Une activité positif est caractérisé par présence des zones d'inhibition formée autour des cylindres (**Pazhanimurugan et al, 2012**).

1-Etude macroscopique

Après 14 jours d'incubation des isolats d'actinomycètes sur milieu YMEA à 25°C, chaque isolat possède un caractère particulier. Les caractérisations macroscopiques des six souches étudiées à donner les résultats mentionnés dans le **tableau 9** et les **figure 3** et **figure 4**.

Tableau 9: Caractère macroscopique des isolats d'actinomycète

isolat	croissance	mycélium aérien	mycélium de substrat
I3	++	Blanc	Gris
I5	++	Jaune	Blanc
I7	++	Marron	Blanc
I8	++	Rose	Beige
I16	++	Blanc	Beige
I17	++	Marron	Beige

Bonne croissance : ++.

Après 14 jours de développement le mycélium aérien présente une gamme de couleur variée : blanc, orange, beige, jaune, violet, marron, brun-noir, gris ou vert (**Shirling et Gottlieb, 1966; Williams et Wallington, 1983; Sabaou, 1988**).

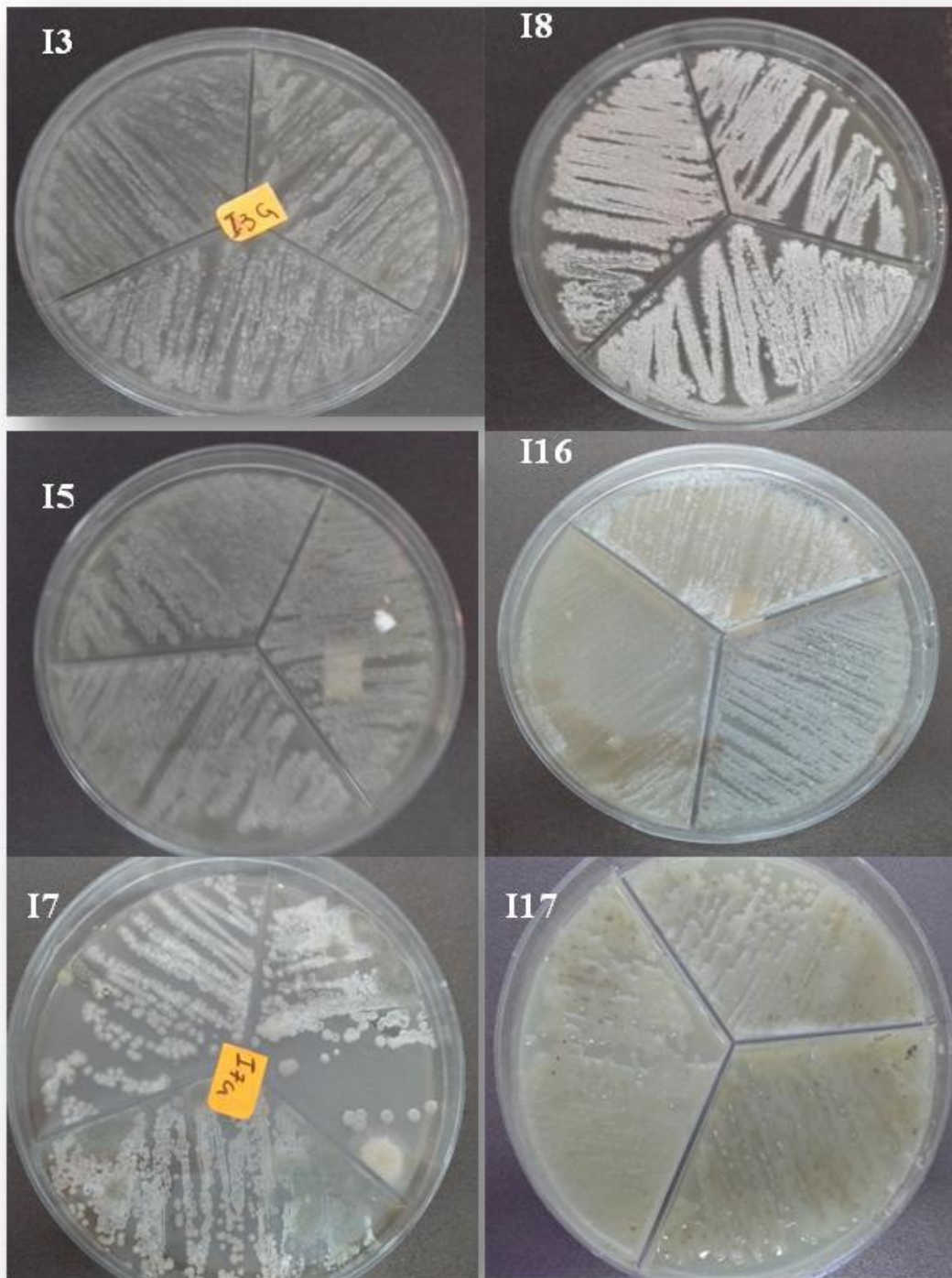


Figure 03: Aspect macroscopique des l'isolat (I3, I5, I7, I8, I16 et I17) sur le milieu YMEA
(La surface de la boîte)

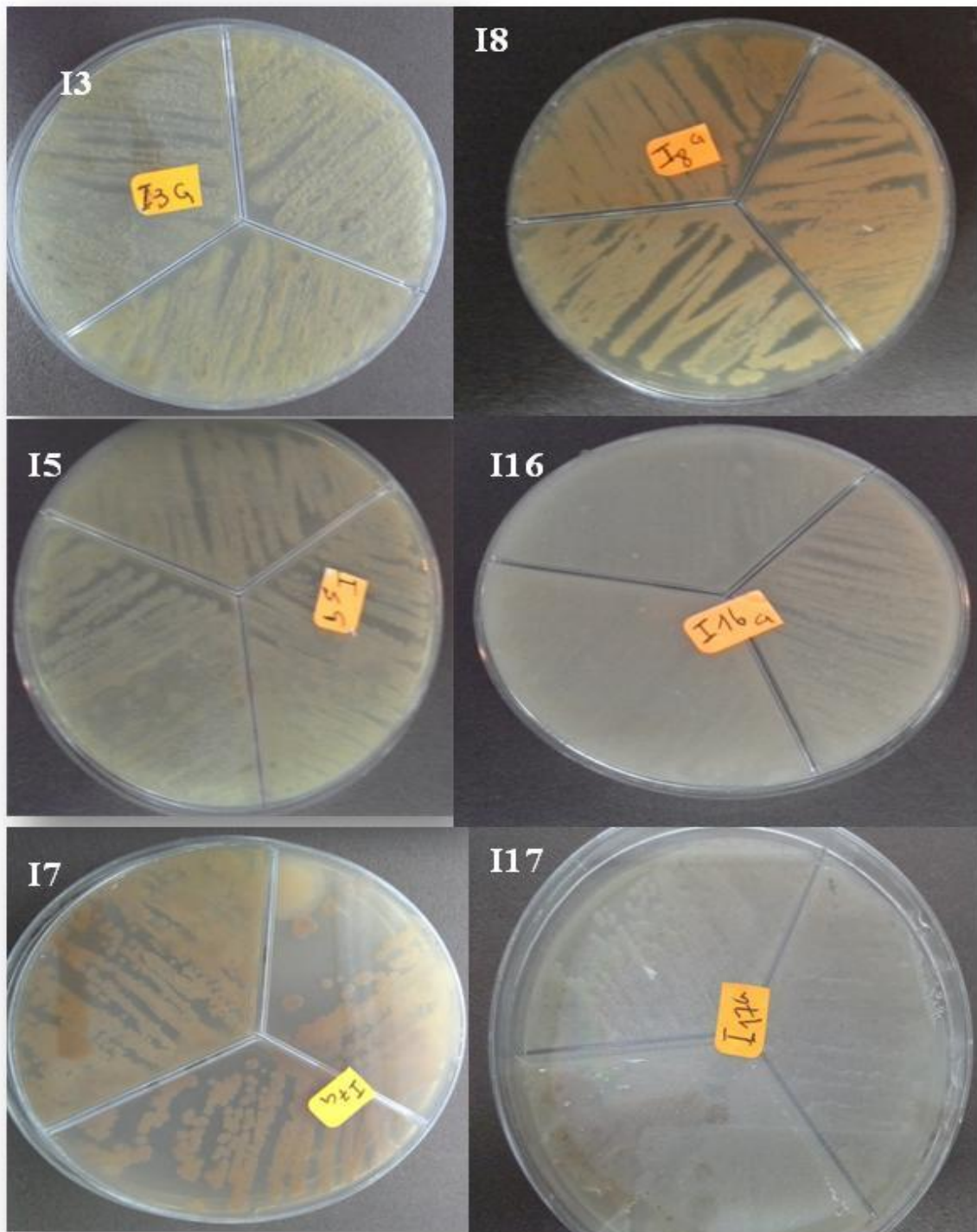


Figure 4: Aspect macroscopique des l'isolat (I3, I5, I7, I8, I16 et I17) sur le milieu YMEA (le revers de la boîte)

2- Etude microscopique

Les observations sont effectuées directement sur boîte de pétri cultivé sur le milieu YMEA pendant 14 jours à 25°C. Ces observations microscopiques (G×40) des six isolats sont représentées dans la figure 5.

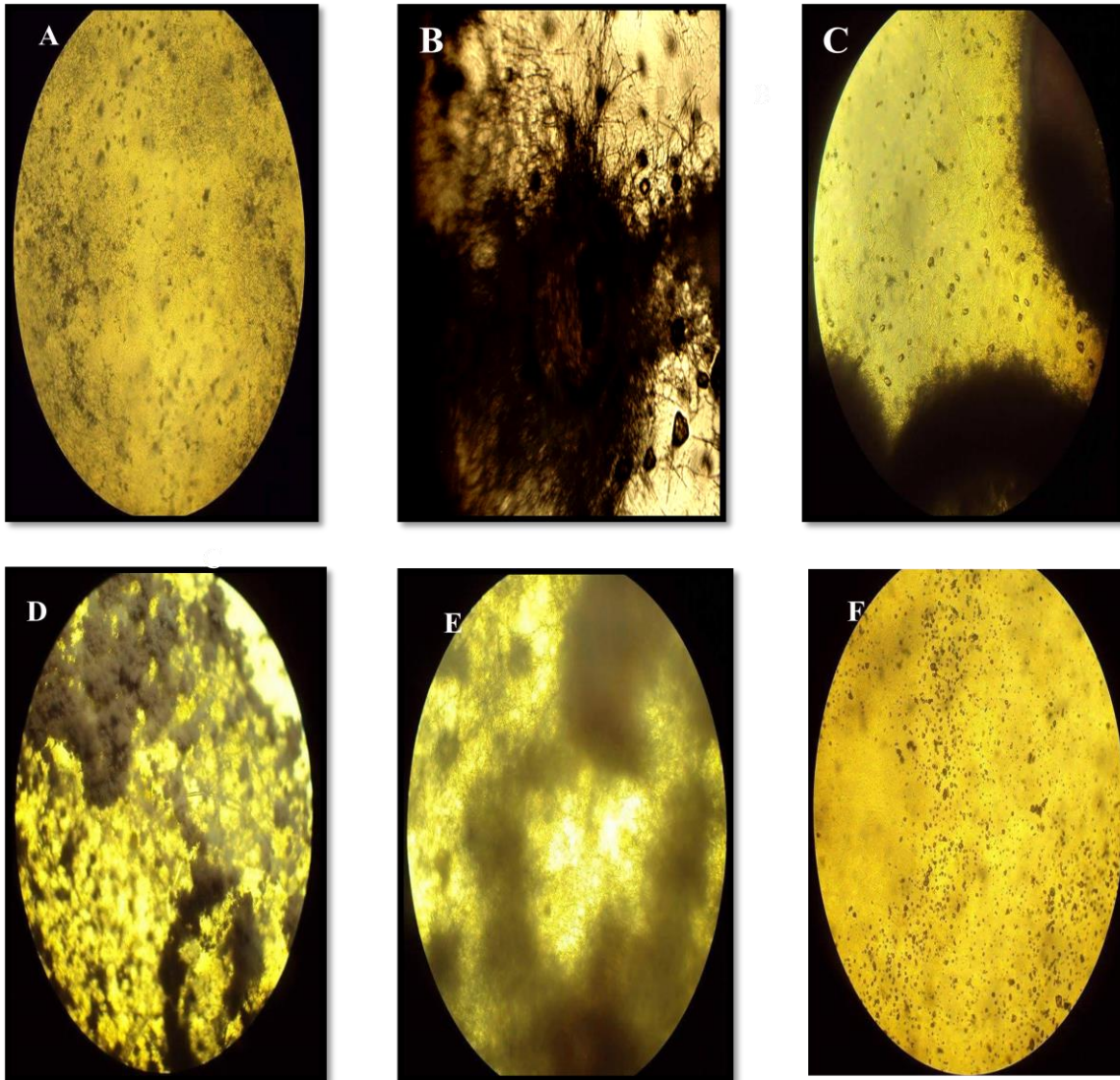


Figure 5: Aspect microscopique (Gx40) des l'isolat (I3, I5, I7, I8, I16 et I17) sur le milieu YMEA.

A= I3 ; B= I5 ; C=I7; D=I8; E=I16 ; F=I17.

3-Test de l'antagonisme fongique

L'activité antifongique des isolats cultivée sur le milieu YMEA a été mise en évidence par la technique des cylindres d'agar. Cette technique permis de détecter l'effet inhibiteur des souches testées (souche fongique tests). Les résultats obtenus par cette technique sont résumés dans le **tableau 10** et les **figures 6,7et 8**.

Tableau 10 : Résultats des tests d'activité antifongique

souche	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> (s1)	<i>Fusarium oxysporum</i> (s2)
I3	++	++	++
I5	-	++	++
I7	-	++	++
I8	-	++	++
I16	-	++	++
I17	++	++	++

Bonne activité : ++, Absence de l'activité :-.

Les résultats d'activité antifongique des isolats contre *Aspergillus niger* ont montré que:

I5, I7, I8 et I16 : sont caractérisée par l'absence d'activité antifongique. Pareilles, I3 et I17 sont caractérisée par la présence d'une activité importante (**Figure 6**).

Tous les isolats caractérisés par une activité antifongique important contre *Fusarium oxysporum* (s1) et *Fusarium oxysporum* (s2) (**Figure 7et 8**).

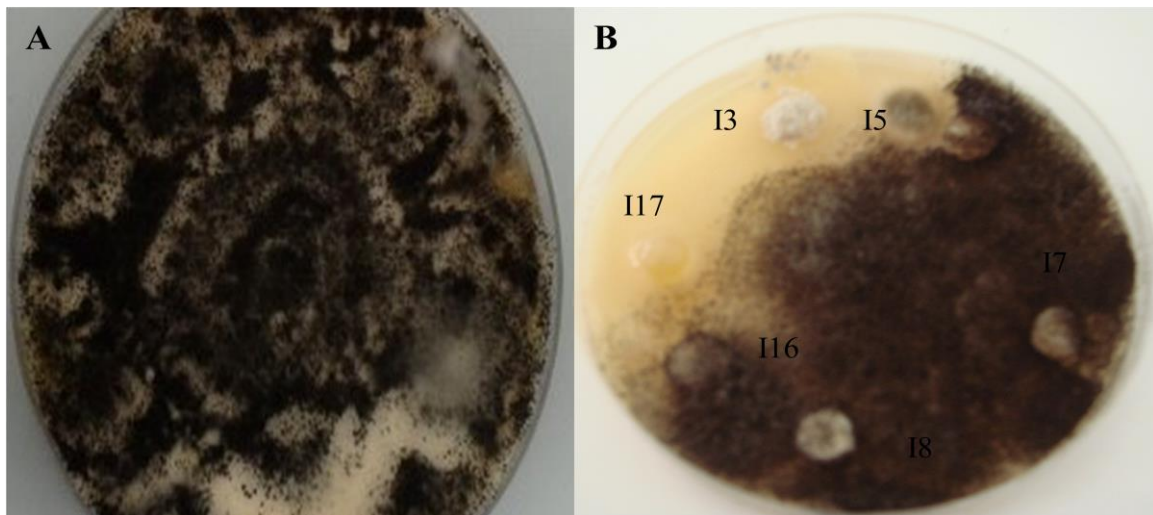


Figure 6 : Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre *Aspergillus niger*
A= Témoin B= *Aspergillus niger*

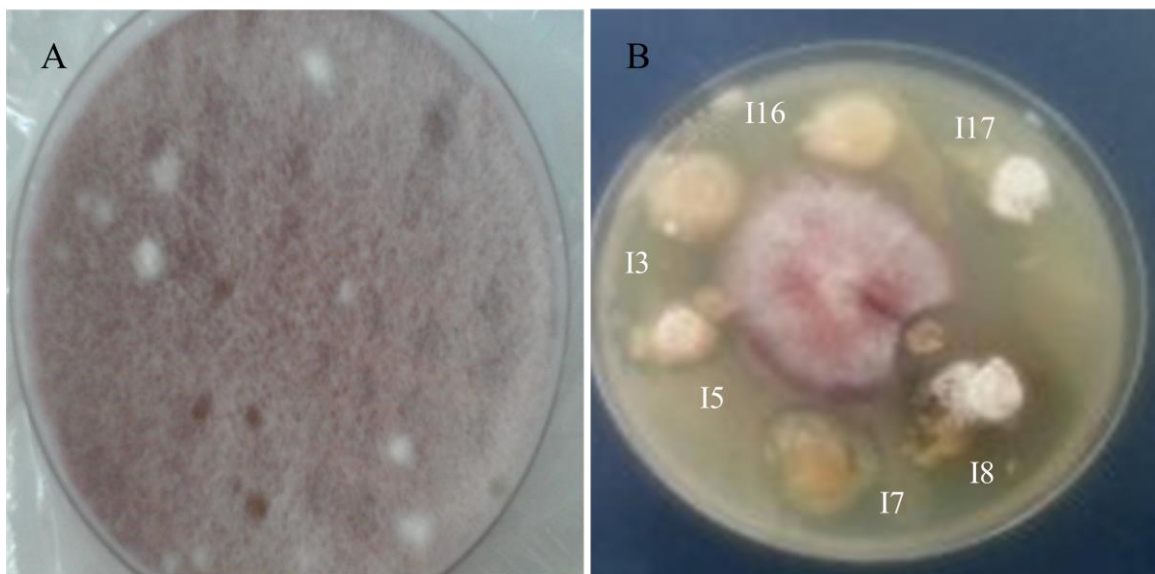


Figure 7: Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre
Fusarium oxysporum (s1)
A= Témoin B= *Fusarium oxysporum* (s1)

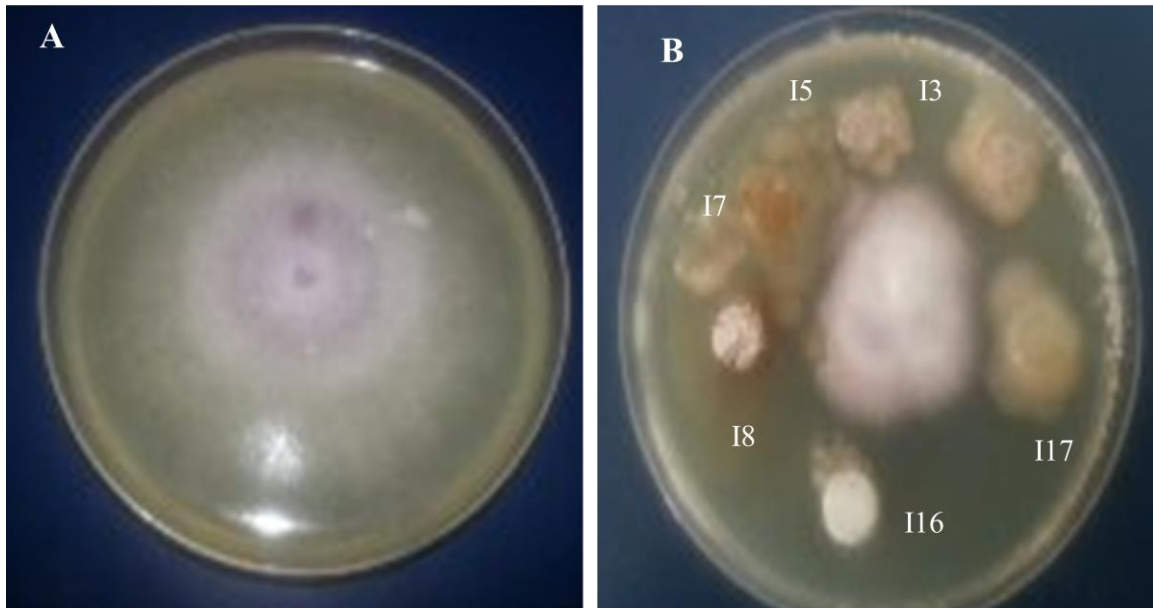


Figure 8 : Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre *Fusarium oxysporum* (s2)

A= Témoin **B**= *Fusarium oxysporum* (s2)

Les résultats obtenus lors de notre étude concernant les isolats d'actinomycètes (I3, I5, I7, I8, I16, I17) contre *Fusarium oxysporum* (s1) et *Fusarium oxysporum* (s2) testées par la méthode des cylindres d'agar présente d'une activité antifongique forte, avec une zone d'inhibition importante et les résultats d'activité antifongique des isolats contre *Aspergillus niger*, seulement les isolas I3 et I17 présentent une bonne activité antifongique.

Les travaux similaires ont rapporté que le test d'antagonisme a été réalisé sur milieu solide en utilisant la technique des cylindres d'Agar. En effet, il a été démontré que le milieu solide est le plus adéquat pour le développement des actinomycètes et la production d'antibiotiques (Shomura *et al.*, 1979, Badji *et al.*, 2005).

Gayathri *et al.*,(2011), ont rapporté une activité antifongique chez tous les actinomycètes isolés à partir de différents échantillons de sol de la sebkha de Kenadsa confirme que les actinomycètes isolés extrêmes en un pouvoir antifongique remarquable.

Certain mécanisme de la lutte biologique consiste en une interaction directe entre deux microorganismes où l'agent antagoniste utilisera des enzymes lytiques tels que des glucanases, des chitinases et des lysozymes pour dégrader les parois de l'agent pathogène (Valueva et Mosolor 2004). Certains actinomycètes produisent aussi des chitinases et glucanases pour dégrader les parois de *Fusarium oxysporum* (El-Tarabily *et al.*, 1997; Sabaou *et al.*, 1998).

Les actinomycètes sont connus par leur capacité de produire des antibiotiques qui leur permettent d'inhiber les agents phytopathogènes. Le premier produit de lutte biologique commercialisé à base d'actinomycètes a été fabriqué à partir de *Streptomyces griseoviridis* pour contrôler les agents phytopathogènes comme le *Botrytis* et le *Fusarium* (Copping et Mens, 2000; Errakhi, 2008).

4-Criblage de l'activité enzymatique

L'ensemble des résultats d'activité enzymatique des isolats sont rassemblés dans le **tableau 11** et les **figure 9** et **10**

Tableau 11 : Résultats des tests d'activité enzymatique

Isolat	amylase	protéase	Estérase	gélatinase	Cellulase	lipase
I3	-	-	+	+	-	-
I5	-	±	+	+	-	-
I7	+	-	-	-	-	+
I8	-	-	-	-	-	-
I16	+	±	-	±	-	-
I17	-	-	-	+	-	-

présence d'activité : +, Absence d'activité : -, Faible activité : ±.

L'ensemble des isolats testés ne présente pas globalement une activité enzymatique assez importante :

I3 : est caractérisée par l'absence d'activité amylolytique, protéolytique, lipolytique et cellulytique et la présence d'une activité importante de l'estérase et de la gélatinase.

I5 : est caractérisée par l'absence d'activité amylolytique, lipolytique et cellulolytique et la présence d'une activité importante de l'estérase et de la gélatinase et d'une activité plus moins importante protéolytique.

I7 : est caractérisée par l'absence d'activité protéolytique, cellulolytique, l'estérase, et de la gélatinase et la présence d'une activité importante de amylolytique et lipolytique.

I8 : est caractérisée par l'absence totale de l'activité enzymatique.

I16 : est caractérisée par l'absence d'activité estérase, lipolytique et cellulolytique et la présence d'une activité importante amylolytique et activité plus moins importante protéolytique et de la

gélatinase.

I17 : est caractérisée par l'absence d'activité amylolytique, lipolytique, protéolytique, cellulolytique et de l'estérase. La présence d'une activité importante de la gélatinase.

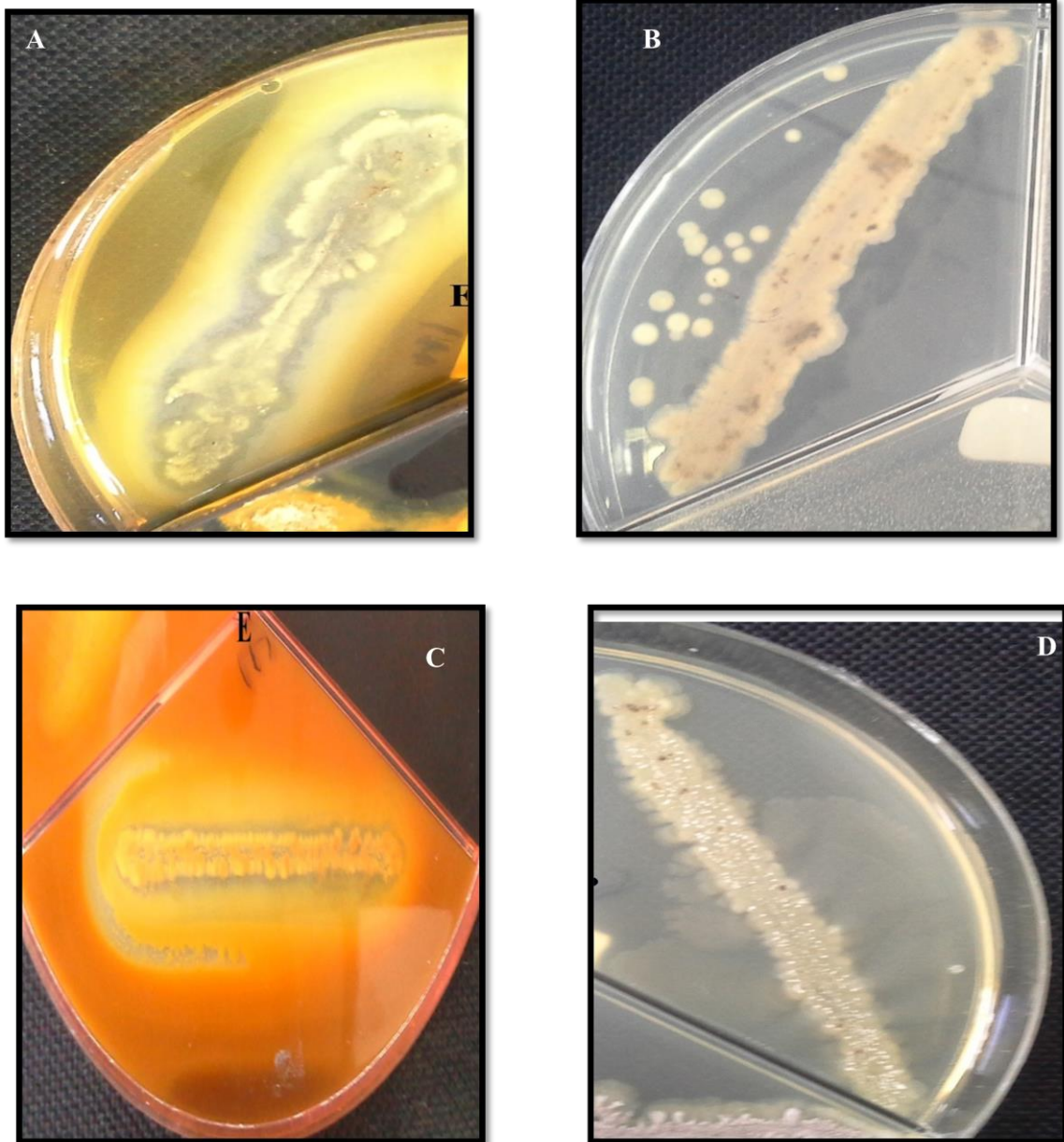


Figure 9: Activité enzymatique des isolats d'actinomycètes

**A :I3 (activité esterase), B :I3(activité gélatinase), C :I5 (activité esterase) ,
D :I5 (activité protéase).**

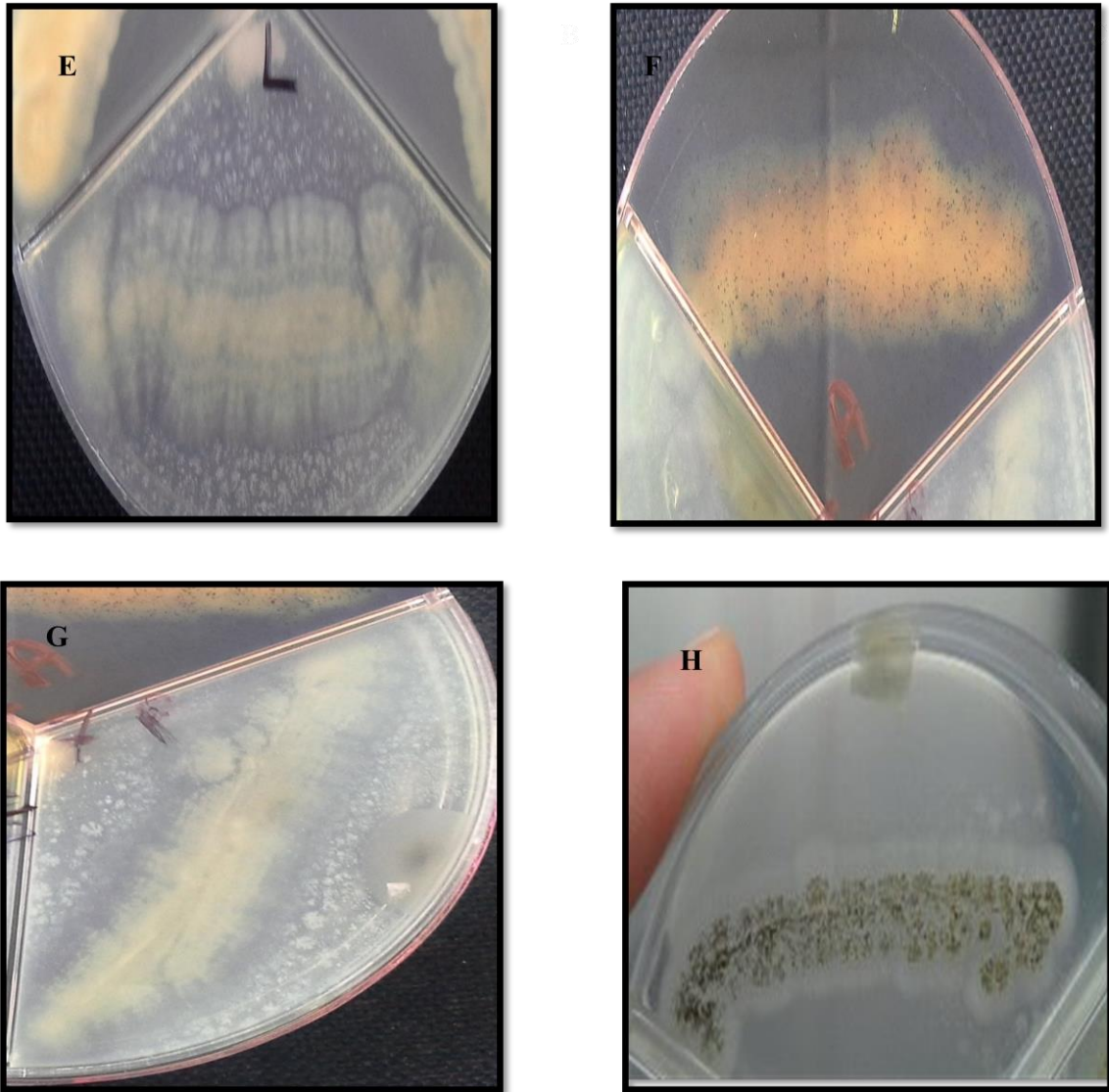


Figure 10: Activité enzymatique des isolats d'actinomycètes

E :I7(activité lipase), F:I7 (activité amylase), G : I5 (activité protéase) ,

H :I17 (activité gélatinase).

Les actinomycètes jouent un rôle important dans la décomposition des plantes et autres matériaux . Il est prouvé que les actinomycètes sont impliquée dans la dégradation de nombreux polymères naturels tels que l'hémicellulose, la pectine, la kératine, la chitine, la lignine, la cellulose, la lignocellulose et matériaux de la paroi cellulaire des champignons (Ali et Royman, 1984).

Les résultats montrent que les six isolats (I3, I5, I7, I8, I16, et I17) présentent une faible activité enzymatique et absence de l'activité cellolytique. Il y a d'autres études qui montrent que les actinomycètes ont une activité enzymatique très important. Gulve et Deshmukh (2011) et Sreenivasa et Vidyasagar (2012), ont rapporté une activité enzymatique assez importante, cette

différence des résultats est peut expliquée par la différence des origines des isolats ou par le nombre réduit des isolats criblé. Les études citées ci dessus sont souvent réalisées sur un nombre important des isolats pour la recherche des activités enzymatiques.

Parmi les micro-organismes, actinomycètes gagné une importance particulière en raison de leur capacité à produire des métabolites secondaires bioactifs telle que les enzymes. Ils sont connus de nombreux habitats: sols, compost, eau douce, milieu marin et de l'atmosphère (Lacey, 1973; Jenson, 1995; Dhevendaran et Annie, 1999; Seng et al., 1999). Ces composés bioactifs ayant une application dans le domaine médicale, les industries et les champs agricoles. (Goodfellow et O'Donnell, 1994).

5-Test de l'antagonisme bactérien

L'activité antibactérienne des isolats cultivée sur le milieu YMEA a été mise en évidence par la technique des cylindres d'agar. Cette technique permis de détecter l'effet inhibiteur des souches testées (bactéries tests). Les résultats obtenus par cette technique sont résumés dans le **tableau 10** et les **figures 11,12 et 13**.

Tableau 10: Résultats des tests d'activité antibactérien

isolat	<i>Staphylococcus</i>			<i>Pseudomonas</i>	<i>Proteus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
	<i>aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E.coli</i>	<i>aerogenosae</i>	<i>mirabilis</i>	
I3	-	-	-	-	-	-
I5	-	-	-	-	-	-
I7	-	-	-	-	-	-
I8	-	-	-	-	-	-
I16	-	-	-	-	-	-
I17	-	-	-	-	-	-

Les résultats en montre que tous l isolats (I3, I5, I7, I8, I16, I17) ne présent aucune activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) et les bactéries à Gram négatif (*Salmonellasp*, *E. coli*, *Pseudomonas aerogenosae* , *Proteus mirabilis*).

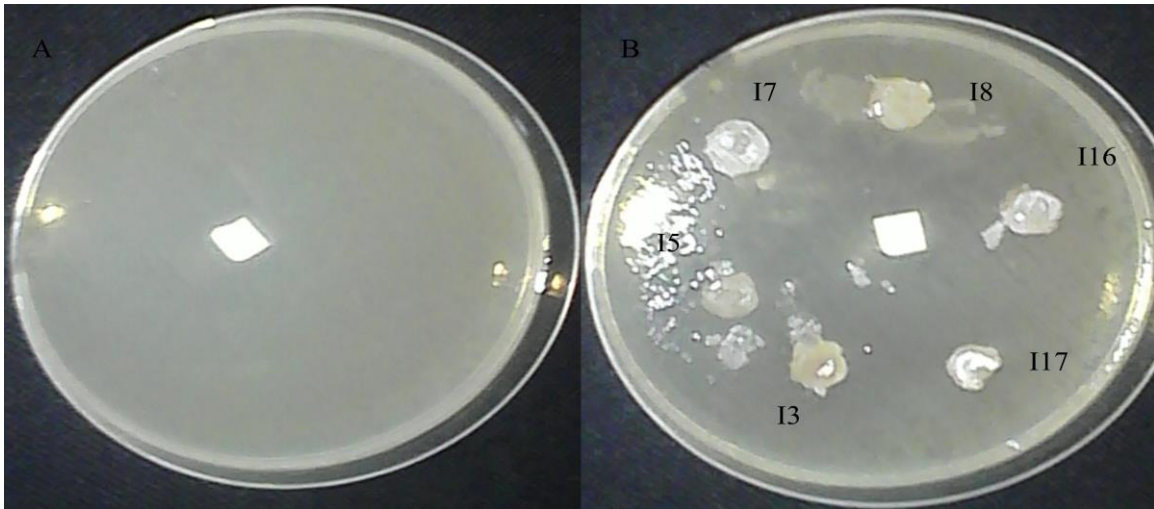


Figure 11: Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre *Salmonella*.

A= Témoin **B=** *Salmonella*

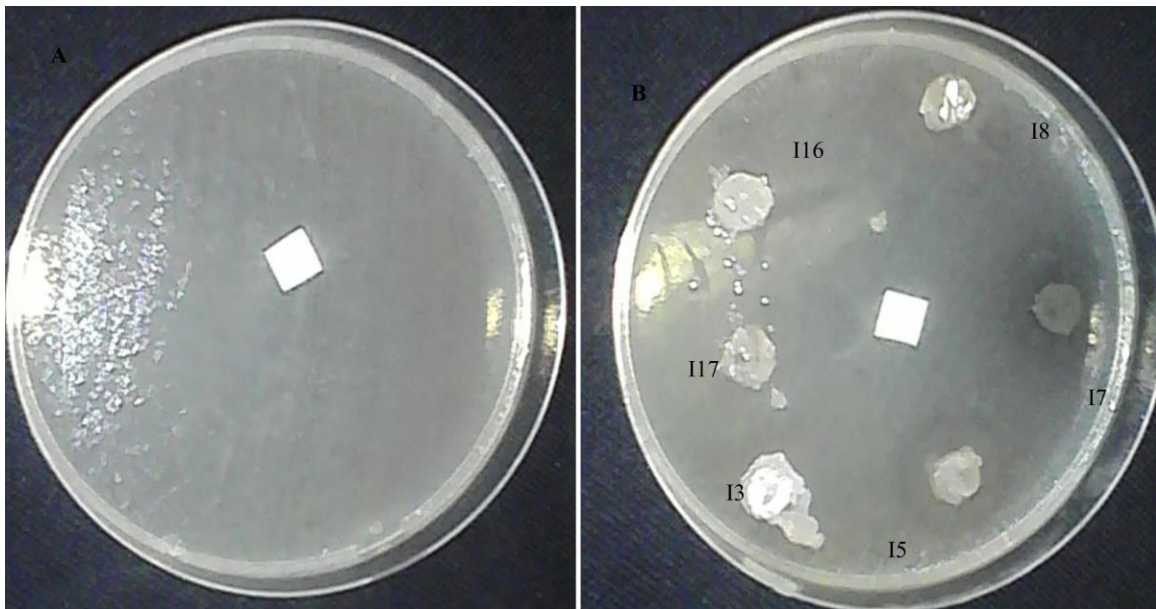


Figure 12: Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre *E. coli*

A= Témoin **B=** *E. coli*

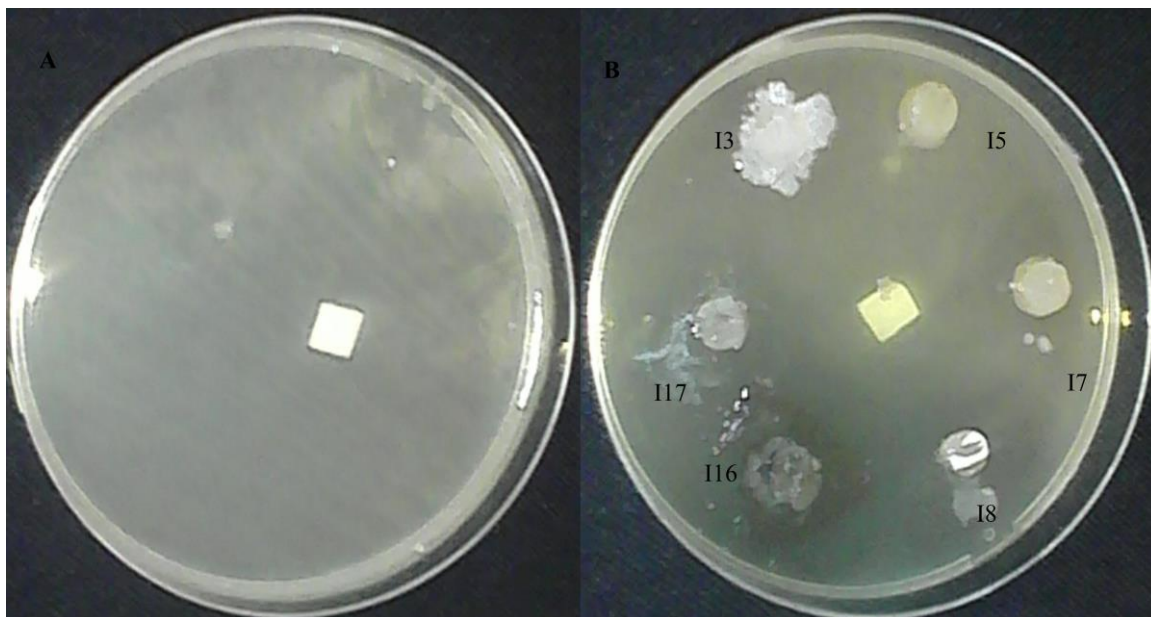


Figure 13 : Test des cylindres d'agar des souches d'actinomycètes contre *Pseudomonas aerogenosa* .

A= Témoin **B=** *Pseudomonas aerogenosa*

Les actinomycètes constituent une source intéressante de substances bioactives, notamment les molécules antimicrobiennes. Le criblage des souches d'actinomycète d'origine terrestre présente une nouvelle voie de recherche d'antimicrobiens naturels. La plupart des criblages concernant la recherche des substances antimicrobiennes à partir des souches d'actinomycètes ont été effectués sur des échantillons du sol.

L'activité antibactérienne se varie d'un milieu de culture à un autre : les milieux AF et Bennet favorisent l'activité d'actinomycètes contre les bactéries à Gram positif (**Omura et Tanaka,1986**).

D'après **Cheng et al. ;(1995)**, la nature et la concentration des composants du milieu de culture ont un effet remarquable sur la capacité et la quantité de métabolite secondaire produit par les bactérie et essentiellement les actinomycètes.

Conclusion

Cette étude comporte deux parties principales, la première partie est l'étude macroscopique et microscopique des isolats (I3, I5, I7, I8, I16, I17) d'actinomycètes et la deuxième partie est la mise en évidence des activités antimicrobiennes (antifongique, antibactérienne) et enzymatiques des six isolats.

Les études macroscopique et microscopique ont été réalisées sur un milieu YMEA, cette étude montre que chaque isolat possède des caractéristiques spécifiques (la couleur, la forme des mycéliums et des spores).

L'activité antibactérienne des six isolats contre *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, *E. coli*, *Pseudomonas aerogenosae*, *Proteus mirabilis* et *Bacillus cereus* a été recherchée par les méthodes des cylindres d'agar sur milieu Muller-Hinton, les résultats montrent que les isolats ne présentent pas d'activité antibactérienne.

L'activité enzymatique des isolats d'actinomycètes a été mise en évidence sur des milieux spécifiques de chaque activité enzymatique, ces isolats ne possèdent pas une activité importante. Certains isolats présentent une activité amylasique, protéolytique, lipolytique, estérase et gélatinase.

L'étude de l'activité antifongique des isolats d'actinomycète sur un milieu malt agar par la méthode des cylindres d'agar contre *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* (s1) et *Fusarium oxysporum*(s2), montre que tous les isolats présentent une activité antifongique forte, avec une zone d'inhibition importante contre *Fusarium oxysporum* (s1) et *Fusarium oxysporum* (s2). Seulement les isolats I3 et I17 qui présentent une bonne activité antifongique contre *Aspergillus niger*.

Pour continuer ce travail, il serait intéressant :

- d'identifier les isolats d'actinomycètes qui possèdent une bonne activité antifongique par les méthodes phénotypiques et moléculaires.
- d'étudier et purifier les molécules antifongiques élaborées par cette souche.
- de tester in vitro la toxicité et les propriétés biologiques de ces molécules et appliquer dans la lutte biologique.

-A-

Ali, S.S. and Royman, M.C. 1984. Antimosis and biodegradability of some *Streptomyces* species from Raichur. *Ind. Microbiol*,24: 124-126.

-B-

Badji B., Riba A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2005). Antifungal activity of a saharan *Actinomadura* strain against various pathogenic and toxinogenic fungi. *J. Med. Myco.* 15, 211-219.

Bastide A., M. de Méo, M. Andriantsoa, M. Laget & G. Duménil. (1986). Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique *Microbiol. J.* 2 : 453-466.

Biotechnology. Weinheim VCH Verlagsgesellschaft :359-391.

Boudemagh A. (2007). Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse de Doctorat. Université Mentouri Constantine, Algérie.

Boudjella. H. (2007). Etude taxonomique et des propriétés antagonistes des *Streptosporangium* des sols sahariens et caractérisation des principaux antibiotiques sécrétés par trois souches. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique El-Harrach (Alger). pp177.

-C-

Camille Delarras (2008) *Microbiologie pratique pour le laboratoire* 1^{er} édition, EMD, France, 476.

Cheng J. R., Fang A., Demain A. L. 1995. Effect of amino acids on rapamycin biosynthesis in *Streptomyces hygroscopicus*. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 43: 1096-1098.

Chitte R.R., Nalawade V.K. and Dey S. (1999). Keratinolytic activity from the broth of a featherdegrading thermophilic *Streptomyces thermoviolaceus* strain SD8. *Lett. Appl. Microbiol.* 28, 131-136.

Chun J., Youn H. D., Yim Y. I., Lee H., Kim. M. Y., Hah Y.C. and Kang S.O. (1997). *Streptomyces seoulensis* sp. Nov. *Int., J. Syst. Bacteriol.* 47, 492-498.

-D-

Davies, F. L., Williams, S.T. (1970). Studies on the ecology of actinomycetes in soil: I. The occurrence and distribution of actinomycetes in a pine forest soil. *Soil Biol Biochem*, 2(4): 239–246.

Demain A.L. (1995). Emerging concepts of secondary metabolism in Actinomycetes. *Actinomycetologica*. 9:98-117.

Demain A.L. and Solomon N.A. (1985). *Biology of industrial microorganisms*. The Benjamin/Cummings publishing company, Inc. 291-357.

Dhevendaran, K. and Annie, K. 1999. Antibiotic and Lasperaginase activity of streptomycetes isolated from fish, shellfish and sediment of Veli estuarine lake along kerala coast. *Indian. J.Mar.Sci*, 28: 335-337.

Divya Prakash, Neelu Nawani, Mansi Prakash, Manish Bodas, Abul Mandal, Madhukar Khetmalas, and Balasaheb Kapadnis. (2013), *Actinomycetes: A Repertory of Green Catalysts with a Potential Revenue Resource*, 56.

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

-E-

El-Tarabily K.A., Hardy G.E.St.J., Sivasithamparam K., Hussain A.M. and Kurtboke D.I. (1997). The potential for the biological cavity-spot disease of carrot, caused by *Pythium coloratum*, by *Streptomyces* and non-*Streptomyces* actinomycetes. *New Phytologist*, 137: 495-507.

Ensign J.C. (1978). Formation, properties and germination of actinomycetes spores. *Annus. Rev. Microbiol.* 32, 185-21.

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

-G-

Garrity G.M., Bell J.A. and Lilburn T.G. (2004). Taxonomic Outline of the Prokaryotes, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second Edition. Release 5.0, Springer-Verlag, New York.

Gayathri A; Madhanraj P; and Panneerselvam A. 2011. Diversity, Antibacterial Activity And Molecular Characterization of Actinomycetes Isolated From Salt Pan Region of Kodiakarai, Nagapattinam DT. *Asian J. Pharm. Tech.* Vol: 1. N° 3. Pp: 79- 81.

Gazenko S. V., Reponen T. A., Grinshpun S. A. et Willeke K. (1998) Analysis of airborne Actinomycetes spores with fluorogenic substrates. *Appl. Environm. Microbiol.* 64 (11): 4410-4415

Goodfellow M. and Williams S.T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37, 189-216.

Goodfellow, M. 1983. Ecology of Actinomycetes. *Annu. Rev. Microbiol.*, 37: 189- 216.

Goodfellow, M. and O'Donnell, A.G. 1994. *Chemical Methods in Prokaryotic Systematics.* John Wiley and Sons, New York.

-H-

Hacène, H., Sabaou, N., Bounaga, N., Lefevre, G. (1994). Screening for non-polyenic antifungal antibiotics produced by rare actinomycetales. *Microbios*, 79(319): 81-5.

Hilali, L., Khattabi, A., Nssarlah, N., Malki, A., Finance, C. (2002). Isolement des nouvelles souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques à partir du milieu naturel marocain. *Rev Biol Biotech*, 2(1) : 49-53.

Hodgson, D.A. (1992). Differentiation in actinomycetes. In: Prokaryotic Structure and Function, Cambridge University Press, Cambridge (Horinouchi, 2002).

Holzappel W., Brost I., Faerber P., Geisen R., Bresch H., Jany K-D., Mengu M., Jakobsen M., Steyn P. S., Teniola D., Addo P. (2002). Bacterial degradation of aflatoxin B1, ochratoxin A and/or zearalenone. PCT Int. Appl., p. 19.

Horinouchi S. 2002. Antimicrobial hormone, A-factor, as a master switch for morphological differentiation and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*. *Frontiers in Biosciences*.7: 2045-2057.

Hsu S. C. and Lockwood J.L. (1975). Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of Actinomycetes in water and soil. *Appl. Microbiol.* 29(3),422-426.

-I-

Imada. C; Koseki. N; Kamata. M; Kobayashi. T; and Hamada-Sato. N. (2007). Isolation and characterization of antibacterial substances produced by marine actinomycetes in the presence of seawater. *Actinomycetologica*, 21 (1), 2731

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

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

-J-

Jensen, D., 1995. Animal Welfare Information Center, USDA, Nayaka and Vidyasagar 44ARS Beltsville, MD. Personal communication.

-K-

Khattabi A., Hillali L., Dari K., Assobhei O., Gavini F. (2002). Isolement de microorganismes d'origine marine (Maroc) antagonistes de *Yersinia ruckeri* et *Yersinia pseudotuberculosis*. *Rev Biology Canada* 2: 28-32.

-L-

Lacey, J. (1997). Actinomycetes in composts. *Ann Agric Environ Med*, 4: 113–121.

Lacey, J. 1973. Actinomycetes in soils, composts and fodders. In, *Actinomycetes, Characteristics and practical importance* (Skyles, G. and Skinner, F.A. Eds.) Academic Press, London. p.231-251.

Larpent J.P. et Sanglier J.J. (1989). *Biotechnologie des antibiotiques*. Ed. Masson. Paris, 481.

Lechevalier M.P. (1981). Ecological associations involving actinomycetes. In: *Actinomycetes*. Shaal and Pulverer (Eds.). *Zbl. Bakt. suppl.*, 11, 159-166

Lemriss, S., F. Laurent, A. Couble, E. Casoli, J. M. Lancelin et D. Saintpierre-Bonacci. 2003. Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Can. J. Microbiol.* 49: 669-674.

Lopes A., Coelho R.R., Meirelles M. N. I., Branquinha M. H. and Vermalho A. B. (1999). Extracellular serine-proteinases isolated from *Streptomyces alboniger*. Partial characterization and effect of aprotinin on cellular structure. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro. 94, 763-770.

Loqman, S. (2009). La lutte biologique contre la pourriture grise de la vigne : Isolement, caractérisation de souches de bactéries Actinomycétales antagonistes à partir des sols rhizosphériques de vignes saines sauvages d'origine marocaine. Thèse de Doctorat en Biologie et Physiologie Végétale. Université de Reims Champagne-Ardenne. France. 216p.

Loucif Karima. (2008). RECHERCHE DE SUBSTANCES ANTIBACTÉRIENNES À PARTIR D'UNE COLLECTION DE SOUCHES D'ACTINOMYCÈTES. CARACTÉRISATION PRÉLIMINAIRE DE MOLÉCULES BIOACTIVES. MAGISTER , Université Mentouri-Constantine,139.

-M-

Mason M.G.,Ishizawa K., Silkstone G., Nicholls P. and Wilson M.T. (2001). Extracellular heme peroxidases in Actinomycetes: A case of Mistaken identity. Appl. Environm. Microbiol. 67(10), 4512-4519.

Miguélez, E.M., Hardisson, C., Manzanal, M.B. (1999). Hyphal death during colony development in *Streptomyces antibioticus*: morphological evidence for the existence of a process of cell deletion in a multicellular prokaryote. J Cell Biol, 145(3): 515–25.

Moncheva. P; Tishkov. S; Dimitrova. N; Chipeva. V; Antonova-Nikolova. S; andBogatzevska. N. (2002). Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica. J ofCulture Collections, 3 (1), 3-14.

-N-

Nouredine. L. (2006). Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'actinomycète, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université de Tizi Ouzou (Algerie). pp 186.

-O-

Okami Y. and Hotta K. (1988). Search and discovery of new antibiotics. In: Actinomycetes in biotechnology. Goodfellow M.G., Williams S.T. and Modarski M. (Eds). Academic Press London, New-York. 33-68.

Omura S et Tanaka Y. (1986) Macrolide antibiotics, dans : Rehm HJ et Reed J.

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

Ottow J. C.G. and Glathe H. (1968). Rose Bengal-malt extract-agar, a simple medium for the simultaneous isolation and enumeration of fungi and actinomycetes from soil. *Appl. Microbiol.* 16, 170-171.

Ouhdouch Y, Barakate M, Finanse C. (2001). Actinomycetes of Moroccan habitats: Isolation and screening for antifungal activities. *Eur. J. Soil Biol.* 37:69-74.

-P-

Pazhanimurugan. R., Gopikrishnan. V, Shanmuga. S. T, Radhakrishnan. M and R. Balagurunathan. R. 2012. Bioactive potential of actinobacteria against drug resistant pathogens. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* Vol: 2. N °: 5. Pp: 167- 173.

Petrosyan P., Gacia-varela M., Madrigal A., Huitron C. and Flores M.E. (2003). *Streptomyces mexicanus* sp. nov., a xylanolytic microorganism isolated from soil. *Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 269-273.

Prapagdee B., Kuekulvong C. and Mongkolsuk S. (2008). Antifungal potential of extracellular metabolite produced by *Streptomyces hygrosopicus* against phytopathogenic fungi. *Int. J. Biol. Sci.* 4, 330-337

Prescott L. M., Harley J.P., Klein .D.A. 2003. *Microbiologie.* De Boeck & Larcier. France.

-R-

R. M. Gulve1 and A. M. Deshmukh. (2011), ENZYMATIC ACTIVITY OF ACTINOMYCETES ISOLATED FROM MARINE SEDIMENTES, *Recent Research in Science and Technology* , 3(5): 80-83 ISSN: 2076-506.

Reponen T. A., Gazenko S. V., Grinshpun S. A., Willeke K. et Cole E. C. (1998). Characteristics of airborne actinomycetes spores. *Appl. Environm. Microbiol.* 64, 3807-3812.

Rivas R., Sanchez M., Trujillo M. E., Zurdo-pineiro J.L., Mateos P.F., Martinez-Molina E. and Velazquez E. (2003). *Xylanimonas cellulossilycagen*. Nov., sp. Nov., a xylanolytic bacterium isolated from a decayed tree (*Ulmus nigra*). *Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 99-103.

Rivas R., Sanchez M., Trujillo M. E., Zurdo-pineiro J.L., Mateos P.F., Martinez-Molina E. and Velazquez E. (2003). *Xylanimonas cellulossilycagen*. Nov., sp. Nov., a xylanolytic bacterium isolated from a decayed tree (*Ulmus nigra*). *Inter. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 99-103.

-S-

Sabaou N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A., Lamari L. et al. (1998). Les sols du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Sécheresse*. 9, 147-153. Copping et Mens, 2000; Errakhi, 2008).

Sabaou N., Hacene H., Bennadji A., Bennadji H., Bounaga N. (1992). Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne, *Can. J. Microbiol.* 38 :1066–1073.

Sabaou, N. (1988). Contribution à l'étude des Actinomycètes des sols des palmeraies Algériennes: systématique et écologie. Thèse de Doctorat en Microbiologie des sols. Université des Sciences et de la technologie Houari Boumediene. Alger. 192p

Şahin, N., Uçur, A. (2003). Investigation of the Antimicrobial Activity of Some *Streptomyces* Isolates. *Turk J Biol*, 27(2): 79–84.

Sanglier J.J., Wellington E.M.H., Kamoun A., Kelly C., Mercer D.K., Prinzis S. and Trigo C. (1993). Novel bioactive compounds from Actinomycetes. *Res. Microbiol.* 144, 661-663.

- Seng.C.N., Kim, Y.S., Baik, K.S., Lee, S.D., Hah, Y.C., Kim, S.B and Goodfellow, M.** 1999. Mycolic acid- containing actinomycetes associated with activated sludge foam. *J.Microbiology*,37: 66-72.
- Shirling, E. B., Gottlieb, D.** (1966). Methods for characterization of Streptomyces species. *Int J Syst Bacteriol*, 16(3): 313–340.
- Shomura T., Yoshida J., Amano S., Kojima M., Inouye S. and Niida T.** (1979). Studies on Actinomycetales producing antibiotics only on agar culture. I. Screening, taxonomy and morphology productivity relationship of *Streptomyces halstedii*, strain SF 1993. *J. Antibiot.* 32, 425-427.
- Sibanda. T , Leonard. V. Mabinya. L. V, Mazomba. N , Akinpelu. D. A , Bernard. K, Olaniran. A. O , and Okoh. A. I.** 2010. Antibiotic Producing Potentials of Three Freshwater Actinomycetes Isolated from the Eastern Cape Province of South Africa. *Int J Mol Sci.* Vol : 11. N° 7. Pp: 2612–2623.
- Singh. S.L; Baruah. I; and Bora. T.C.** (2006). Actinomycetes of lake LoktatHabitat: Isolation and screening for Antimicrobial Activities. *Biotechnol.*, 5 (2), 217-221.
- Sprusansky O., Zhou L., Jordan S., White J. and Westpheling J.** (2003). Identification of a new genes involved in Morphogenesis and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* 185 (20), 6147-6157
- Sreenivasa Nayaka and Vidyasagar G M.** (2012), Occurrence and extracellular enzyme potential of Actinomycetes of a thermotolerant, northern region of Karnataka, India, *International Multidisciplinary Research Journal*, 2(12):40-44 ISSN: 2231-6302.
- Stackebrandt E. Rainey F.A. and Ward-Rainey N.L.** (1997). Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47,479-491.

Stapley E.O., Woodruff H.B, (1982). Avermectins, antiparasitic lactones produced by *Streptomyces avermitilis* isolate from a soil Japan. In : Trends in antibiotic Research. Japan. : 154-17.

Suutari M., Lignell U., Hyvarinen A. and Nevalainen A. (2002). Media for cultivation of indoor streptomycetes. J. Microbiol. Meth. 1668-1674.

Suzuki K., Nagai K., Shimizu Y. and Suzuki Y. (1994). Search for actinomycetes in screening for new bioactive compounds. Actinomycetologica, 8, 122–127.T.

-V-

Valois D., Fayad K., Barasubiye T., Garon M., De'Ry C., Brezezinski R., et Beaulieu C. (1996). Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, the causal agent raspberry root rot. Applied and Environment Microbiol. 62. 5 : 1630-1635.

Valueva T.A. and Mosolov V.V. (2004). Role of inhibitors of proteolytic enzymes in plant defense against phytopathogenic microorganisms. Biochem. 69, 1305-1309.

Vandeputte. V. (2008). Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida glabrata*. Thèse de Doctorat. Université d'Angers, (France). pp 168

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

Vishnupriya B, Sundaramoorthi C, Kalaivani M, et al.: Production of lipase from *Streptomyces griseus* and evaluation of Bioparameters. Chem Tech. 2010; 2(3):1380–138.

-W-

Williams S.T. and Fleming I., (1989). Spectroscopic methods in organic chemistry. 4th Ed. : Mc Graw Hill book company, London, p 264.

Williams, S.T., Wellington, E.M.H. (1982). Principales and problems of selective isolation of microbes. In: Bioactive microbial products: Search and discovery. Academic Press, London. 9–2.

-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.

Annexes

Annexe 1

Milieu YMEA :

agar	20g
Extrait de levure	4g
Extrait de malt	10g
glucose	4g
Caco ₃	1g
eau distillée	1000ml
Ph=7.3		

Annexe 2

Milieu Malt-Agar :

agar	15g
malt	10g
eau distillée	1000ml
ph=7.3		

Annexe 3

NaNO ₃	2g
K ₂ Hpo ₄	1g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.05 g
Kcl	0.05g
FeSO ₄ 7H ₂ O	0.01g
CMC	10g
Agar	16g

pH finale à 25 °C est 7.3 ± 2

Annexe 4

Peptone	10 g
Nac	5 g
Cacl	0.1 g
Tween 20	10 ml
Agar	20 g

pH finale à 25 °C est 7.3 ± 2

Annexe 5

Extrait de viande	1 g
Extrait de levure.....	1 g
Caséine.....	2 g
Amidon.....	10 g
Agar.....	15 g

pH finale à 25 °C est 7.3 ± 2

Annexe 6

Extrait de viande	1 g
Extrait de levure.....	1 g
Caséine.....	2 g
Glucose	10 g
Agar.....	15 g

pH finale à 25 °C est 7.3 ± 2

Annexe 7

Extrait de viande	1 g
Extrait de levure.....	1 g
Caséine.....	2 g
Gélatine.....	10 g
Agar.....	15 g

pH finale à 25 °C est 7.3 ± 2

Annexe 8

Peptone.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g
CaCl ₂	0.1g
Gélose.....	15g

pH finale à 25 °C est 7.3 ± 2

Après autoclavage, ajouter 100mL d'une solution aqueuse à 10 % DE tween 80.

Annexe 9

Milieu Millier Hinton :

Agar	10g
Extrait de viande	2g
Caséine	17,5g
Amidon	1,5g
eau distillée	1000ml

Ph=7.0

AOUN ASMA	MERDACI AIDA
Date de soutenance	Le 15-06-2015.
Thème	Mise en évidence des activités enzymatiques et antimicrobiennes d'actinomycètes isolées à partir de sol de Khanchela
<p>Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positif, caractérisés par leur production des molécules bioactif ayant une grande importances dans le domaine biotechnologique. Ce travaille comporte l'étude macroscopique, microscopique, la mise en évidence de l'antagonisme antimicrobienne (antifongique, antibactériens) et l'activité enzymatique de six isolats d'actinomycète (I3, I5, I7, I8, I16, I17) isolés à partir de sol forestier rhizosphérique et montagneux de la wilaya de Khenchela.</p> <p>L'activé enzymatique a été recherche par les méthodes de diffusions en gélose, les résultats montre que les six isolats d'actinomycètes possède une faible activité enzymatique, certains isolats présente une activité amylolytique, protéolytique, lipolytique, estérase et gélatinase.</p> <p>L'étude de l'activité antifongique des isolats d'actinomycète montre que six isolats présente une activité antifongique importante contre <i>Fusarium oxysporum</i> (s1) et <i>Fusarium oxysporum</i> (s2) <i>Aspergillus niger</i> .</p> <p>Les six isolats d'actinomycètes ne présent pas une activité antibactérienne contre <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>salmonella sp</i>, <i>E. coli</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Bacillus cereus</i>.</p>	
Mots clefs	Actinomycètes, antagonismes, activité enzymatique.sol rhizosphérique.
Membres de jury	Président : Derouiche F. Examineur : Leulmi N. Rapporteur : Merabti R.

Résumé

Mise en évidence des activités enzymatiques et antimicrobiennes d'actinomycètes isolées à partir de sol de Khanchela.

Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positif, caractérisés par leur production des molécules bioactif ayant une grande importances dans le domaine biotechnologique. Ce travaille comporte l'étude macroscopique, microscopique, la mise en évidence de l'antagonisme antimicrobienne (antifongique, antibactériens) et l'activité enzymatique de six isolats d'actinomycète (I3, I5, I7, I8, I16, I17) isolés à partir de sol forestier rhizosphérique et montagnoux de la wilaya de Khenchela.

L'activé enzymatique a été recherche par les méthodes de diffusions en gélose, les résultats montre que les six isolats d'actinomycètes possède une faible activité enzymatique, certains isolats présente une activité amylolytique, protéolytique, lipolytique, estérase et gélatinase.

L'étude de l'activité antifongique des isolats d'actinomycète montre que six isolats présente une activité antifongique importante contre *Fusarium oxysporum* (s1) et *Fusarium oxysporum* (s2) *Aspergillus niger* .

Les six isolats d'actinomycètes ne présent pas une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *salmonella sp*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* et *Bacillus cereus*.

Mots clefs : Actinomycètes, antagonismes, sol rhizosphérique, activité enzymatique.

Abstract

Actinomycetes are Gram-positive bacteria, characterized by its production of bioactive molecules having high importance in the field of biotechnology. This work includes the macroscopic, microscopic study, the detection of antimicrobial antagonism (antifungal, antibacterial) and enzyme activity of six isolates of actinomycetes (I3, I5, I7, I8, I16, I17) isolated From mountainous forest soil and rhizosphere of the wilaya of Khenchela.

The enzyme was activated by the methods of research broadcasts agar, the results shows that the six isolates of actinomycetes has low enzyme activity, some isolates has an amylolytic, proteolytic, lipolytic, esterase and gelatinase.

The study of the antifungal activity of actinomycetes isolates shows that six isolates has significant antifungal activity *against Fusarium oxysporum (s1) and Fusarium oxysporum (s2) Aspergillus Niger.*

Six actinomycete isolates present not antibacterial activity against *Staphylococcus aureus, Salmonella sp, E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis and Bacillus cereus.*

Keywords: Actinomycetes, antagonism, rhizosphere soil, enzymatic activity.

ملخص

Les actinomycètes هي البكتيريا Gram-positif، والتي تتميز بإنتاجها لجزيئات النشطة بيولوجيا وتتميز بأهمية كبيرة في مجال التكنولوجيا الحيوية. ويشمل هذا العمل الدراسة العيانية، الدراسة المجهرية، والكشف عن مضادات الميكروبات (مضاد للفطريات، مضاد للجراثيم) ونشاط انزيم ستة عزلات Les actinomycètes (I3، I5، I7، I8، I16 و I17) معزولة من تربة الغابات الجبلية و من ولاية خنشلة.

النتائج تظهر أن ستة عزلات Les actinomycètes لديها نشاط انزيم منخفضة، بعض العزلات لها . gélatinase و amylyolytique,protéolytique, lipolytique, estérase

وتظهر دراسة نشاط مضاد للفطريات أن ستة العزلات لها نشاط مضاد كبير ضد *Fusarium* و *Fusarium oxysporum* (s1) و *Aspergillus niger* (s2) *oxysporum*.

ستة العزلات ليس لها نشاط ضد *Staphylococcus aureus*, *salmonella sp*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis et Bacillus cereus*.

الكلمات المفتاح

Les actinomycètes ، مضادات الميكروبات ، نشاط انزيم, تربة .

summary