



جامعة عباس لغرور خنشلة
ABBES LAGHROUR UNIVERSITY KHENCHELA



جامعة عباس لغرور خنشلة
ABBES LAGHROUR UNIVERSITY KHENCHELA

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION: Microbiologie Appliquée

Thème

**Isolement des actinomycètes productrices
des substances bioactives à partir des
écosystèmes salins de la région de
Khenchela.**

Présenté par :

MEKERSI Sabrina et BELAIDI Hadjer

Soutenu : Juin 2024

Mémoire de Master académique soutenu devant le jury composé de :

| | | | |
|------------------|----------------------------|--------------|--|
| Président | Dr. YAKHLEF Wahiba | (MCB) | Univ. Abbès Laghrou – Khenchela |
| Encadreur | Dr. KHEDDOUMA Asma | (MCA) | Univ. Abbès Laghrou – Khenchela |
| Examineur | Dr. BOUTARFA Soumia | (MCB) | Univ. Abbès Laghrou – Khenchela |

Année universitaire 2023/ 2024

Résumés

Résumé

Isolement des Actinomycètes Productrices des Substances Bioactives à Partir des Ecosystèmes Salins de la Région de Khenchela.

L'objectif de ce travail consiste à l'isolement des souches d'actinomycètes productrice de protéase et de kératinase à partir de trois milieux salins de Sebket El-Mahmel (Chott Lekhlefa ; Chott Ouled Amara et Chott Ouled M'barek), Wilaya de Khenchela. Ces échantillons prélevés sont ensemencés sur milieu ISP4 avec trois concentrations différentes de NaCl. Un total de 25 souches a été isolé. Les résultats montrent une bonne croissance de ces microorganismes sur milieu ISP4 additionné de 1g/l de NaCl dans Chott Lekhlefa.

L'observation microscopique après coloration de Gram a révélé que 99% des souches sont à coloration de Gram positive.

La mise en évidence de l'activité protéolytique sur milieu solide gélose nutritive au lait des 25 souches d'actinomycètes a démontré que dix-neuf souches capables d'hydrolyser la caséine du lait et par conséquent elles peuvent être considérées comme productrices d'enzymes de type protéase.

L'étude de l'activité kératinolytique sur milieu solide à base de farine de plumes des 25 souches montre que neuf souches peuvent dégrader facilement la farine de plumes ce qui prouve que ces souches sont actives sur ce substrat par sécrétion de kératinases.

La capacité des actinomycètes isolés à produire des kératinase en utilisant la plume comme substrats pourrait ouvrir de nouvelles opportunités prometteuses pour la valorisation des déchets contenant de la kératine et la réduction de ses impacts sur l'environnement.

Mots clé : Actinomycètes, protéase, kératinase, écosystèmes salin, farine de plume.

Abstract

Isolation of Actinomycetes Producing Bioactive Substances from Saline ecosystems in the Khenchela Region

The main objective of this work is to isolate actinomycetes strains producing protease and keratinase from three saline environments in Sebkhet El-Mahmel (Chott Lekhlefnâ; Chott Ouled Amara; and Chott Ouled M'barek), Wilaya of Khenchela. These collected samples were inoculated on ISP4 medium with three different NaCl concentrations. A total of 25 strains were isolated. The results show good growth of these microorganisms on ISP4 medium supplemented with 1 g/l of NaCl from Chott Lekhlefnâ.

Microscopic observation after Gram staining revealed that 99% of the strains were Gram-positive.

Assessment of proteolytic activity on solid milk nutrient agar medium indicated that nineteen of the 25 actinomycete strains could hydrolyze milk casein, identifying them as protease producers.

The study of keratinolytic activity on feather meal of the 25 strains shows that nine strains can easily degrade feather meal, which proves that these strains are active on this substrate by secreting keratinases.

The ability of the isolated actinomycetes to produce keratinase using feather as a substrate could open new promising opportunities for the valorization of keratin-containing wastes and reduction of its impacts on the environment.

Key words: Actinomycetes, protease, keratinase, saline ecosystems, feather meal.

الملخص

عزل الاكتينومييسات المنتجة للمواد الحيوية النشطة من النظم البيئية المالحة في منطقة خنشلة

الهدف من هذا العمل هو عزل سلالات من الاكتينومييسات المنتجة للبروتيناز والكيراتيناز من ثلاثة اوساط مالحة من سبخة المحمل (شط لخلافنة، شط اولاد عمارة وشط اولاد مبارك) بولاية خنشلة. تم زرع هذه العينات على وسط ISP4 يحتوي على ثلاثة تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم. تم عزل 25 سلالة اجمالاً وقد أظهرت النتائج نموًا جيدًا لهذه السلالات على الوسط ISP4 مضاف إليه 1 غ/لتر من كلوريد الصوديوم في شط لخلافنة.

كشفت الملاحظة المجهرية بعد التلوين بصبغة جرام أن 99% من السلالات تظهر تلوينًا إيجابيًا بصبغة جرام.

أظهر نشاط التحليل البروتيني لـ 25 سلالة من الاكتينومييسات في وسط مغذي بالحليب أن 19 سلالة قادرة على تحليل كازين الحليب وبالتالي يمكن اعتبارها منتجة لإنزيمات من نوع البروتيناز

أظهرت دراسة نشاط التحليل الكيراتيني للسلالات الخمسة وعشرون في وسط صلب أساسه دقيق الريش أن تسع سلالات يمكنها بسهولة تحليل دقيق الريش، مما يثبت أنها نشطة على هذا الركيزة من خلال إفراز الكيراتيناز.

إن قدرة البكتيريا الخيطية المعزولة على إنتاج الكيراتيناز باستخدام الريش كركيزة يمكن أن تفتح فرصًا جديدة لإعادة تدوير النفايات المحتوية على الكيراتين والحد من تأثيرها على البيئة.

الكلمات المفتاحية: الاكتينومييسات، البروتيناز، الكيراتيناز، نظام بيئي مالح، دقيق الريش.

Remerciement

Avant tout nous remercions « Allah » qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce travail.

Nos remerciements s'adressent à l'ensemble des membres de jury :

Dr. YAKHLEF Wahiba et **Dr. BOUTARFA Soumia** ; MCB de l'université de Khenchela qui ont accepté d'examiner notre modeste travail.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à notre encadrante **Dr. KHEDDOUMA Asma**. MCA (à Université Abbés Laghrour-Khenchela) pour son encadrement, ses encouragements, ses orientations, pour ses aides, patience, et ses conseils scientifiques judicieux.

Nous tenons également à remercier vivement la doctorante **BOUTERAA Houria** pour son aide, sa gentillesse et son soutien moral.

Nous n'oublions pas de remercier sincèrement les ingénieurs de laboratoires pédagogiques (Faculté SNV université Abbés Laghrour-khenchela) spécialement **SARA, LILIA** et **RIM**.

Nous adressons aussi des remerciements à tous les enseignants et les enseignantes qui ont contribué à notre formation et à notre éducation durant ces cinq années, et nous ont préparé à cette dernière année de master. Merci pour votre soutien et votre patience.

Un grand merci à nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles.

Dédicace

Je remercie dieu le tout puissant, qui nous a tracé le chemin de notre vie et de m'avoir donné la force, la patience et la volonté pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail :

A mes chers parents que j'aime plus que tout au monde, pour

Leur amour, leurs encouragements incessants et

Leur soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite.

A mon cher frère BILAL et ma chère sœur NASSIMA, et ses enfants ZINEB ; ASIA et NIDAL je vous souhaite une vie pleine De bonheur et de succès et que Dieu, le tout

Puissant, vous protège et vous garde.

A mon grand-père AMOR,

Aussi mon oncle MESSAOUD.

A tous les membres chers de ma famille.

A tous mes amis surtout : SELMA.

A ma chère binôme HADJER et lui souhaite succès.

A tous mes collègues de ma promotion.

A tous ceux qui m'ont enseigné un jour.

A toute personne qui m'a aidé de loin ou de près pendant ma vie scolaire.

MEKERSI Sabrina

Dédicace

Surtout, je remercie Dieu Tout-Puissant qui m'a donné la santé, la force, le courage et la patience pendant mes années d'école pour que j'arrive à ce point. Je dédie cette dernière œuvre humble, accompagnée d'un amour profond.

À ma chère mère. Toute l'encre du monde ne suffit pas à exprimer mes sentiments pour ma mère. Une source de tendresse, de patience et de sacrifice. Vous avez surveillé mes pas, m'avez couvert de tendresse, et vos prières et vos bénédictions m'ont été d'une grande aide dans la poursuite de mes études. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec une attention attentive et chaque fois renouvelée. Que Dieu vous accorde la santé et le bonheur et prolonge votre vie.

À mon cher père. De tous les parents, tu es le meilleur. Aucune dédicace ne peut exprimer mon respect, ma gratitude et mon amour profond. Merci pour tous les sacrifices que vous avez faits pour moi et ma réussite. Ceci est juste un petit cadeau pour vous. Que Dieu vous protège et vous apporte santé et bonheur.

À mon cher frère Abderrahmane. La chose la plus précieuse que j'ai, que Dieu vous protège, prenne soin de vous et vous accorde la réussite dans votre vie.

A mon mari Khaled. Tous les mots du monde ne peuvent exprimer le grand amour que j'ai pour toi. Merci pour la motivation constante que vous m'avez donnée, que Dieu vous protège et que notre amour dure toute une vie.

*À ma tante Karima Hedjazi. Qui m'a soutenu et encouragé, que Dieu vous protège
Sans oublier mon binôme et mon âme sœur et mon ami de toujours Mekersi Sabrina*

Pour son soutien moral, sa compréhension et sa patience tout au long de ce projet

*À mes âmes sœurs et amies de toujours, Chebah Amani, Belkroum Nour el Houda,
Zeggada Nadjla, Belkroum Hadjer et Safa Khabthane.*

À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de cette mémoire.

Belaidi Hadjer

Table des matières

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION | 1 |
| Chapitre I. Étude bibliographique | |
| I. Les actinomycètes | 4 |
| I.1. Généralité sur les actinomycètes..... | 4 |
| I.1.1. Historique | 4 |
| I.1.2. Définition et caractères généraux des actinomycètes..... | 4 |
| I.2. Taxonomie des actinomycètes | 5 |
| I.2.1. Systématique | 5 |
| I.2.2. Critères actuels d'identifications | 5 |
| I.2.2.1. Critères morphologiques..... | 5 |
| I.2.2.2. Physiologiques..... | 7 |
| I.2.2.3. Moléculaires..... | 7 |
| I.2.2.4. Chimio-taxonomiques..... | 8 |
| I.3. Croissance et cycle de développement des actinomycètes | 10 |
| I.4. Aperçu sur l'écologie des actinomycètes..... | 11 |
| I.5. Importance des actinomycètes dans les différents domaines..... | 12 |
| I.5.1. Importance en agronomie..... | 12 |
| I.5.2. Importance dans le domaine médical, vétérinaire et industriel | 13 |
| II. Métabolites d'intérêt des actinomycètes | 14 |
| II.1. Métabolisme des actinobactéries | 14 |
| II.1.1. Métabolisme primaire | 14 |
| II.1.2. Métabolisme secondaire..... | 14 |
| II.2. Substances bioactives produite par les actinomycètes | 16 |
| II.2.1. Enzymes | 16 |
| II.2.2. Vitamines | 16 |
| II.2.3. Pigments..... | 17 |

| | |
|---|----|
| II.2.4. Bio herbicides | 17 |
| II.2.5. Antitumoraux | 18 |
| II .2.6. Antifongiques et antiparasitaires..... | 19 |
| II.2.7. Antiviraux | 19 |
| II.2.8. Antibiotiques..... | 21 |

Chapitre II. Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| I. Echantillonnage..... | 24 |
| II. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons..... | 26 |
| II. 1. Mesure de pH des échantillons | 26 |
| II.2. Mesure de la conductivité électrique des échantillons..... | 27 |
| III. Isolement des Actinomycètes..... | 27 |
| III.1. Préparation du milieu d'isolement..... | 27 |
| III.2. Préparations des dilutions décimales | 27 |
| III.3. Ensemencement et incubation | 28 |
| IV. Etude des caractères morphologiques | 29 |
| IV.1. Caractérisations macroscopiques | 29 |
| IV.2. Coloration de Gram | 29 |
| V. Recherche de l'activité protéolytique..... | 29 |
| VI. Recherche de l'activité Kératinolytique..... | 30 |

Chapitre III. Résultats et discussion

| | |
|--|----|
| I. Caractères physicochimiques..... | 32 |
| I.1. Mesure de pH des échantillons..... | 32 |
| I.2. Mesure de la conductivité électrique des échantillons | 33 |
| II. Isolement des Actinomycètes | 33 |
| III. Etudes des caractères morphologiques..... | 36 |
| III.1. Caractérisations macroscopiques..... | 36 |
| III.2. Coloration de Gram..... | 36 |

| | |
|---|----|
| IV. Résultats d'activité protéolytique..... | 38 |
| V. Résultats d'activité Kératinolytique | 40 |
| CONCLUSION | 41 |
| REFERENCES BIBLIOGRPHIQUES | 43 |

Liste des sigles

DL-DAP: Acide diaminopimélique mésomérique.

EV71: Entérovirus 71.

FBM: Milieu à base de farine de plumes.

GNL: Gélose Nutritive au Lait.

H7N7: Virus de la grippe A.

IC50: Concentration inhibitrice médiane.

ISP: International Streptomyces Project

LL-DAP: Acide diaminopimélique isomérique .

MA: Mycélium aérien.

MC: Mitomycine C

MS: Mycélium du substrat.

SIDA: Syndrome d'immunodéficience acquise.

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine.

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1. Chimiotypes rencontrés chez les <i>Actinobacteria</i> | 9 |
| Tableau 2. Profils des sucres cellulaires totaux des actinomycètes | 9 |
| Tableau 3. Habitats de certains actinomycètes | 12 |
| Tableau 4. Les enzymes produites par les actinomycètes avec leur application | 16 |
| Tableau 5 . Listes des composés bioactifs dérivés d'actinobactéries ont montré des activités antibactériennes et antitumorales | 18 |
| Tableau 6 . Les antibiotiques produits par les <i>streptomyces sp</i> | 22 |
| Tableau 7 . Valeurs de pH des trois échantillons prélevés à partir de Sebkhah El-Mahmel..... | 32 |
| Tableau 8. La conductivité électrique des trois échantillons prélevés à partir de Sebkhah El-Mahmel..... | 33 |
| Tableau 9. Test de croissance des souches d'actinomycètes sur le milieu ISP4 à différentes concentrations d' NaCl..... | 34 |
| Tableau 10. Résultats de l'étude macromorphologique des souches d'actinomycètes..... | 36 |
| Tableau 11. Résultats d'activité protéolytique des souches d'actinomycètes..... | 38 |
| Tableau 12. Résultats d'activité kératinolytique des souches d'actinomycètes..... | 40 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Vue au microscope électronique à balayage des types mycélium des actinomycètes... | 6 |
| Figure 2. Différentes chaînes de spores chez les actinobactéries..... | 7 |
| Figure 3. Cycle de développement des actinomycètes sur milieu solide. | 10 |
| Figure 4. Morphologie des hyphes en croissance dans milieu liquide..... | 11 |
| Figure 5. Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes | 15 |
| Figure 6. La structure chimique de antimycin A1a | 20 |
| Figure 7. La structure chimique d'Ahmpatinin Bu | 21 |

Liste des cartes et photographies

| | |
|--|----|
| Carte 1. Situation géographique de la Sebkha d'El-Mahmel (Khenchela) Trois prélèvements différents ont été effectués à partir de l'eau de Chott Lekhlefn, et Chott Ouled Amara et du sol de Chott Ouled M'barek. | 24 |
| Photographie 1. Vue générale de la Sebkhet de Ouled Lekhlefn, El-Mahmel..... | 25 |
| Photographie 2. Vue générale la Sebkhet de Ouled Amara, El-Mahmel..... | 25 |
| Photographie 3. Vue générale la Sebkhet de Ouled M'barek, El-Mahmel..... | 26 |
| Photographie 4. Mesure de pH des trois échantillons..... | 26 |
| Photographie 5. Mesure de la conductivité..... | 27 |
| Photographie 6. Dilution en série des échantillons d'eau de Sebkha..... | 28 |
| Photographie 7. Dilution en série de l'échantillon du sol..... | 28 |
| Photographie 8. Ensemencement des boîtes de pétries par la méthode de stries serrées..... | 29 |
| Photographie 9. Préparation de la farine de plume..... | 30 |

Introduction

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, Gram positif aérobie et anaérobies avec une teneur élevée en guanine et cytosine ($G+C\% > 55\%$) dans leur génome (**Rahdar, 2021**). Le mot « Actinomycètes » est dérivé du mot grec « aktis » (rayon) et « mykes » (champignon) ou champignons a rayons, ayant des caractéristiques à la fois de bactéries et de champignons (**Bhatti et al., 2017**).

En outre, ils forment phylogénétiquement une branche à part et sont caractérisées par une très grande diversité morphologique, pouvant aller de la forme cocci à la forme mycélienne parfaite et leur capacité à former des spores (**Saker, 2015**).

Les actinomycètes présentent une grande diversité de caractéristiques, notamment la tolérance à l'humidité, l'habitat, le pH optimal et la température, les actinomycètes se trouvent souvent à des niveaux de pH modérés, bien que certaines espèces acidophiles et alcalophiles soient connues (**Jagannathan et al., 2021**). Ils sont des microorganismes ubiquitaires présents dans la plupart des écosystèmes naturels tels que le sol, l'eau douce ou salin, etc (**Barka et al., 2016**).

L'importance des actinobactéries a de tout temps été soulignée dans divers domaines: dans le domaine industriel, dans le domaine médical et vétérinaire, dans l'agriculture et l'agro-alimentaire, etc (**Saker, 2015**). La caractéristique la plus bénéfique et la plus importante des actinomycètes est leur capacité à produire des antibiotiques et d'autres métabolites secondaires qui présentent diverses activités biologiques telles que antibactériennes, antifongiques, antivirales, antitumorales, antipaludiques, cytotoxiques, cytostatiques, immunosuppressives, anti-inflammatoires, antiparasitaires, antioxydantes, anti-angiogénèse, pigments et enzymes (**Galal et Saleh, 2023**).

Les actinomycètes constituent une source prometteuse d'un large éventail des enzymes, dont les kératinases constituent un exemple significatif. Ces enzymes protéolytiques capables de dégrader la kératine des cheveux, des ongles, de la laine et des plumes avec une grande spécificité pour produire d'acides aminés essentiels. Les kératinases sont également utilisées dans le tannage du cuir et dans diverses autres applications comme la valorisation de certains déchets kératinolytiques tels que les plumes, les poils et les ongles. En effet, en Algérie, les déchets de plumes sont produits en grande quantité par les industries de la volaille. L'accumulation de ces derniers a une conséquence sur la pollution de l'environnement (**Habbeche, 2014**).

L'objectif principal de notre étude consiste à l'isolement des souches d'actinomycètes à partir de Sebkhet El-Mahmel; Wilaya de Khenchela, et la recherche des activités protéolytiques et kératinolytiques de ces souches.

Ce travail est composé de trois chapitres principaux et d'une conclusion générale.

- Le premier chapitre est l'étude bibliographique sur les Actinomycètes et leurs métabolites d'intérêt.
- Le deuxième chapitre est une présentation de matériel et des méthodes spécifiques utilisées lors de l'expérimentation, avec plus de détails au niveau des annexes.
- Le dernier chapitre rapporte l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude, ainsi qu'une discussion sur ces derniers.

Chapitre I.
Etude
Bibliographique

I. Les actinomycètes

I.1. Généralité sur les actinomycètes

I.1.1. Historique

L'histoire des actinomycètes est divisée en quatre grandes périodes :

La première période (1874-1900) ou période médicale, s'est intéressée exclusivement aux organismes pathogènes et à leur rôle dans les pathologies. Cette période a commencé par la découverte du premier actinobactérie *Streptothrix foeresteri* par Cohn en 1875 (**Ibrahimi, 2021**). En 1877, Harz, qui a donné le nom *Actinomyces bovis* à des organismes identifiés au microscope dans des matériaux isolés à partir de mâchoire d'un bovin (**Holmberg et Nord, 1984**).

La seconde période (1990-1940) est caractérisée par la découverte des conditions saprophytiques d'habitat des actinobactéries et les premières tentatives pour la distinction entre les groupes pathogènes et saprophytiques (**Ibrahimi, 2021**).

La troisième période commence en 1940, et correspond à l'époque des antibiotiques produits par les actinomycètes, avec la création du genre *Streptomyces* (en combinant les noms des genres *Streptothrix* et *Actinomyces*) et le mycélium aérien produit des chaînes de spores portées par des sporophores dont Waksman et Henrici en 1943 ; qui regroupe les actinomycètes. En 1958 Pridham, proposa un système de classification des *Streptomyces* basé sur la morphologie des chaînes de spores et la couleur du mycélium aérien, en 1958 Ettl et al., introduit un critère important dans la différenciation des espèces la production des pigments mélanoides (**Bousnina et Ghedeir, 2020**).

La quatrième période qui débute dans les années 1960 voit le début de l'utilisation des méthodes génétiques par Hopwood. La génomique a bouleversé la classification des espèces (**Ventura et al., 2007**) et d'étude de l'utilisation biotechnologique de ces microorganismes.

I.1.2. Définition et caractères généraux des actinomycètes

Les Actinobactéries sont omniprésentes et constituent l'un des groupes de bactéries les plus diversifiés dans la nature (**Lewin et al., 2016**). Le mot « Actinomycètes » est dérivé du mot grec « aktis » (rayon) et « mykes » (champignon) ou champignon à rayon, ayant des caractéristiques à la fois de bactéries et de champignons (**Bhatti et al., 2017**).

Ils sont des bactéries aérobies mais certaines formes sont aérobies facultatives ou même anaérobies à Gram positif avec une teneur élevée en guanine et cytosine G+C (**Barka et al., 2016**) (> 55 % en moles dans ADN génomique) (**Gao et Gupta., 2012**).

Ils se distinguent souvent par leur morphologie mycélienne avec des hyphes ramifiés et leur capacité à former des spores. Ils présentent une grande diversité de caractéristiques, notamment la tolérance à l'humidité, l'habitat, le pH optimal et la température, les actinomycètes se trouvent souvent à des niveaux de pH modérés, bien que certaines espèces acidophiles et alcalophiles soient connues (**Jagannathan et al., 2021**).

La plupart des espèces sont immobile, cependant, certains types produisent des spores flagellées permettant leur dispersion dans les habitats aquatiques, ce sont des hétérotrophes utilisant des molécules organiques préfabriquées, mais certaines sont des chimio-autotrophes (**Ensign et al., 1993**).

I.2. Taxonomie des actinomycètes

La taxonomie des actinobactéries est extrêmement complexe et la classification utilisant uniquement les méthodes traditionnelles, basées sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques, a conduit à des groupes supra-génériques très hétérogènes. Trois approches principales ont été suggérées pour identifier les espèces d'actinobactéries : la chimio taxonomie (différenciation des espèces par composition chimique), la taxonomie numérique (différenciation des espèces par le nombre de similarités phénotypiques) et la systématique moléculaire (utilisation de l'ADN pour différencier les espèces). Une combinaison de trois techniques devient plus complète (**Ouazene et Ouasene, 2019**).

I.2.1. Systématique

Les actinomycètes sont classés dans le Règne des Procaryotes (**Gao et Gupta., 2012**), le domaine des *Bacteria* (**Barka et al., 2016**), le Phylum *Actinobacteria* (**Jagannathan et al., 2021**), la Classe des *Actinomycetes* (**Barka et al., 2016**), l'Ordre des *Actinomycetales* (**Parra et al., 2023**), Les actinobactéries sont classées dans 55 Familles (**Ouazene et Ouasene, 2019**).

I.2.2. Critères actuels d'identifications

I.2.2.1. Critères morphologiques

D'après **Lazouni et Ferhaoui (2022)** les actinomycètes ont un aspect morphologie équivalent aux mycètes. Il se caractérise par des qualités culturales et micromorphologiques.

A) Macromorphologiques

- La présence ou l'absence de mycélium aérien (MA).
- La production ou non de pigments de mélanoides
- La production et la couleur des pigments diffusibles.
- La couleur de (MA) et de mycélium du substrat (MS), dans le cas des *Streptomyces*, les espèces peuvent produire :
 - Un MS de couleurs caractéristique couleur vive ou foncée, rouge, orange...Ces couleurs autorisent la classification des espèces
 - Un MS de couleur non caractéristiques : soit non coloré, soit coloré de manière.
 - Claire, beige, jaune orangé clair... ces couleurs peuvent se modifier selon les souches d'une même espèce.

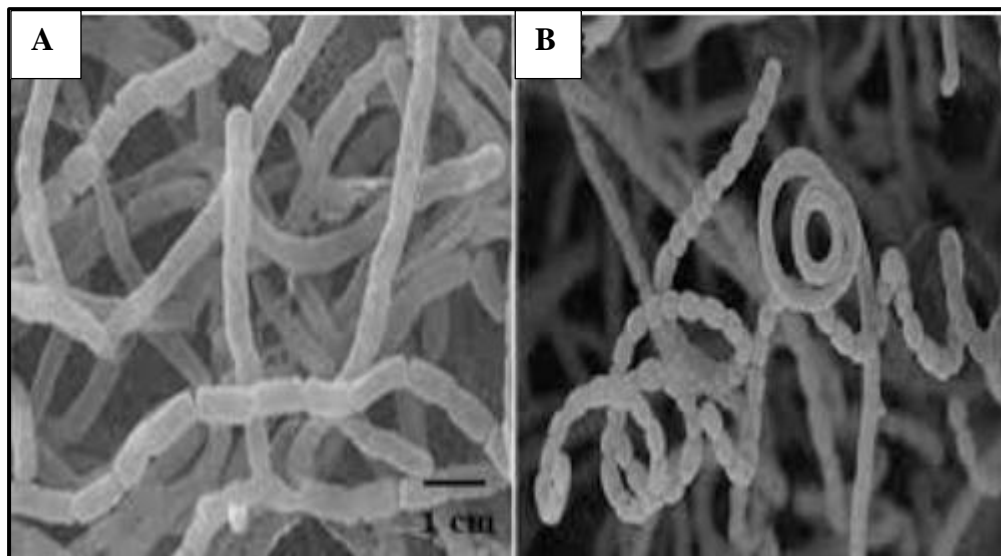


Figure 1. Vue au microscope électronique à balayage des types mycélium des actinomycètes
(Lazouni et Ferhaoui, 2022).

(A) Mycélium du genre *Nocardia* fragmenté,

(B) Mycélium du genre *Streptomyces* en sporulation.

B) Micromorphologiques

Les critères micro morphologique prépondérants selon (Ouazene et Ouasene, 2019) sont :

- La fragmentation ou non du MS.

- La présence de sporanges sur le MA (*Streptosporangium*, *Spirillospora*, etc.) ou sur le MS (*Actinoplanes*, *Dactylosporangium*, etc.), la forme et la taille des sporanges, le nombre de spores par sporange ainsi que la longueur des sporangiophores.
- La formation de spores sur le MA et/ou sur le MS, leur forme, leur taille et leur agencement : isolées (*Micromonospora*, *Saccharomonospora*), par deux (*Microbispora*), par quatre (*Microtetraspore*) ou en chaînes (*Actinomadura*, *Streptomyces*, etc.).
- Le mode de sporulation : spores portées par des sporophores (*Streptomyces*, *Actinomadura*, etc.) Ou mycélium aérien se fragmentant de manière anarchique en spores (*Nocardiosis*, *Amycolatopsis*, *Saccharothrix*, etc.).
- La présence de spores mobiles (*Spirillospora*, *Actinoplanes*, etc.) ou non mobiles (*Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, etc.).

La micromorphologie des principaux genres et quelques types de chaînes de spores sont donnés respectivement dans la **Figure 2**.

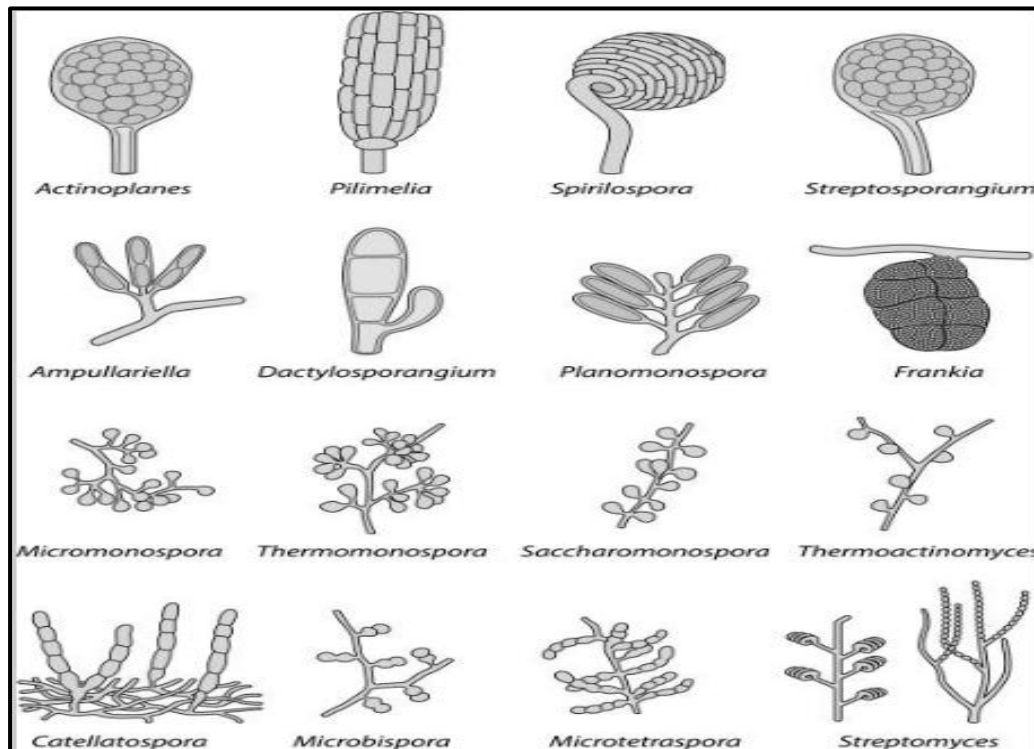


Figure 2. Différentes chaînes de spores chez les actinobactéries (Barka et al., 2016).

I.2.2.2. Physiologiques

La plupart des actinobactéries sont aérobies (Barka et al., 2016). De plus, ils peuvent être des hétérotrophes ou chimio autotrophes (Ensign et al., 1993). La quasi-totalité des

bactéries de ce phylum sont des saprophytes à l'exception des pathogènes et des symbiotiques des plantes et des animaux (**Suzuki et al., 1994**). Ce sont des mésophiles ; elles se développent à un niveau optimal dans des températures comprises entre 25 et 30°C. Ceux qui sont thermophiles préfèrent des températures de 50 à 60°C (**Lalam et Kenzai, 2022**). La croissance des actinomycètes est très limitée dans les régions aux taux d'humidité élevés. Elles ont une croissance maximale autour de la neutralité (**Barka et al., 2016**).

I.2.2.3. Moléculaires

Plus récemment, la classification morphologique et chimique des actinomycètes a été remise en question par des données taxonomiques moléculaires, dont une grande partie a été obtenue grâce aux progrès rapides du séquençage du génome. Notamment, certains organismes placés de manière inappropriée dans certains groupes taxonomiques ont récemment été reclassés sur la base d'analyses moléculaires (**Barka et al., 2016**).

Les principales analyses moléculaires utilisées dans la taxonomie des actinomycètes pour la détermination des espèces sont le séquençage de l'ADN ribosomique 16S, l'hybridation ADN-ADN et la détermination du pourcentage de G+C. Ces critères ont permis de tracer toute la phylogénie des actinomycètes (**Bousnina et Ghedeir, 2020**).

I.2.2.4. Chimio-taxonomiques

La chimiotaxonomie est un système de classification et d'identification basé sur des caractéristiques chimiques de la paroi cellulaire qui permettant de regrouper et de distinguer les micro-organismes. Cette détermination chimique est particulièrement efficace pour définir des groupes et des genres (**Sharma, 2014**).

On peut distinguer neufs types principaux de paroi (**Barka et al., 2016**). Sur la base de trois caractéristiques de la composition et de la structure du peptidoglycane : l'acide aminé en position 3 du térapeptide, la présence de glycine dans les ponts interpeptidiques et le contenu en sucre du peptidoglycane (**Tableau 01**) (**Sharma, 2014**).

Tableau 1. Chimiotypes rencontrés chez les *Actinobacteria* (Barka et al., 2016 ; Bouaziz, 2018).

| Chimiotype | Constituant(s) pariétal(s) majeur(s) | Exemple de genres |
|------------|--|---|
| I | LL -DAP, glycine, (pas de sucres taxonomiquement importants) | <i>Streptomyces</i> |
| II | DL -DAP, glycine, arabinose, xylose | <i>Micromonospora</i> , <i>Actinoplanes</i> . |
| III | DL-DAP, madurose (3- O -méthyl- D -galactose) | <i>Actinomadura</i> , <i>Streptosporangium</i> , |
| IV | DL-DAP, arabinose, galactose | <i>Micropolyspora</i> , <i>Nocardioformes</i> |
| V | Ornithine + lysine | <i>Actinomyces</i> . |
| VI | Lysine | <i>Oerskovia</i> |
| VII | Acide diaminobutyrique et glycine (lysine variablement présente) | <i>Agromyces</i> |
| VIII | Ornithine | <i>Cellulomonas</i> . |

- **Lipides**

L'un des caractères les plus importants de la composition membranaire sont les lipides. Grace aux lipides il y a la possibilité de distinguer entre eux la plupart des genres ayant le même chimiotype. Il sont divisées en phospholipides (Lechevalier et al., 1977), les ménaquinones (Barka et al., 2016) et les acides mycoliques (Mordarska et al., 1972).

- **Glucides**

Les glucides sont importants sur le plan taxonomique et sont divisés en 4 groupes, comme indiqué dans le **Tableau 2**.

Tableau 2. Profils des sucres cellulaires totaux des actinomycètes (Lechevalier et Lechevalier, 1970).

| Type | Sucres caractéristiques |
|------|--|
| A | Arabinose, Galactose, absence de Xylose |
| B | Madurose, absence de Xylose ou d'Arabinose |
| C | Aucun |
| D | Arabinose, xylose |

- **Acides aminés**

L'une des propriétés importantes dans la taxonomie des actinobactéries est la présence de deux acides aminés dans la paroi cellulaire, il s'agit de l'acide diaminopimélique (DAP), qui peut être sous formes isomériques LL ou DL (méso) et la glycine qui est variablement présente. Chez quelques actinobactéries, le DAP peut être remplacé par la lysine, l'ornithine ou l'acide diaminobutyrique (**Bouaziz, 2018**).

I.3. Croissance et cycle de développement des actinomycètes

Les actinobactéries sont caractérisées par un cycle de vie complexe, et qui présente de différentes morphologies (**Trujillo, 2016**).

Sur un milieu solide, le cycle commence par la germination d'une spore, qui donne naissance à un mycélium végétatif formé d'hyphes multi-nucléés, ramifiés et enracinés dans le milieu solide. Un mycélium aérien se développe ensuite sur ce mycélium végétatif, utilisant ce dernier comme substrat. En effet, le mycélium végétatif subit un processus d'autolyse, au cours duquel il se dégrade et les produits de cette dégradation sont cannibalisés par le mycélium aérien (**Miguélez et al., 1999**). La croissance des hyphes est apicale (se fait par le sommet) (**Flårdh, 2010**), les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores, qui sont des agents de dissémination (**Bousnina et Ghedeir, 2020**).

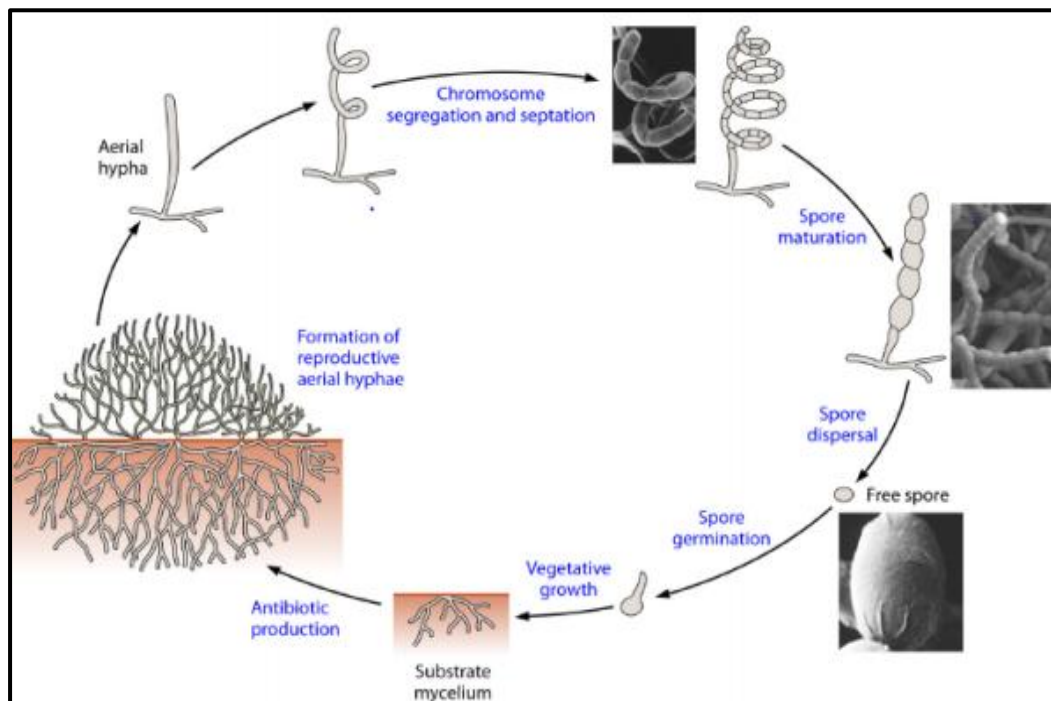


Figure 3. Cycle de développement des actinomycètes sur milieu solide (**Barka et al., 2016**).

En culture liquide et sans agitation, les hyphes formés après la germination des spores montent en surface pour croître en contact avec l'air. Cependant, en milieu liquide avec agitation, il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. Les Streptomyces forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'agrègent pour former finalement les pellets. La première forme, le pellet (figure 4), est un agrégat de plusieurs hyphes enchevêtrés, dont les diamètres peuvent varier de plusieurs micromètres à plusieurs millimètres ; la seconde forme c'est des hyphes indépendants dispersés (Ouazene et Ouasene, 2019).

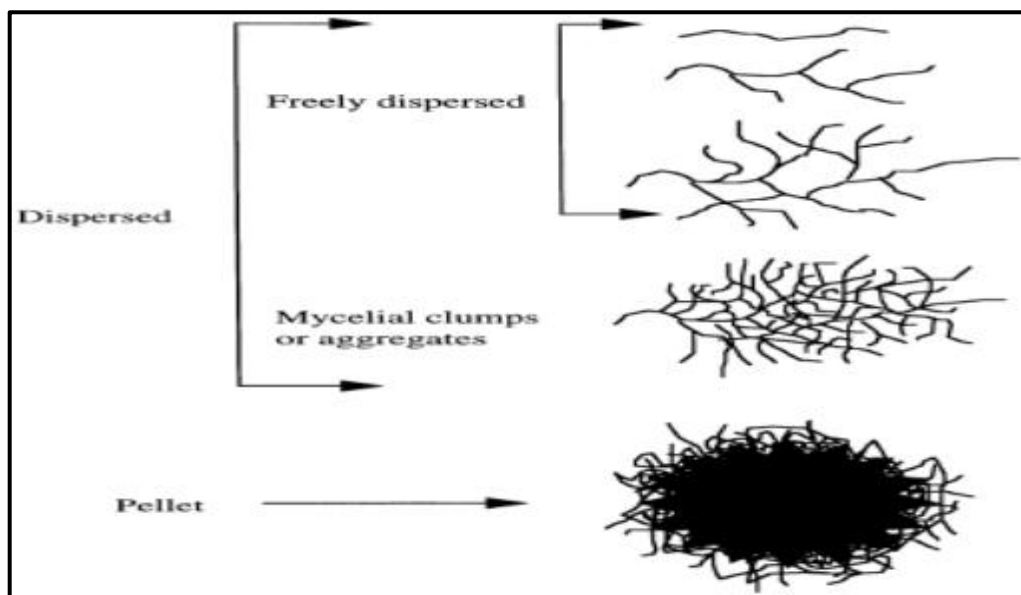


Figure 4. Morphologie des hyphes en croissance dans milieu liquide (Site 1).

Plusieurs de ces bactéries produisent des spores non mobiles ou parfois mobiles. Les spores des actinomycètes sont de deux sortes. Les endospores, produites par des actinomycètes thermophiles, proviennent de la cassure de la paroi de l'hyphe. Les exospores ou les spores de « segmentation » naissent par suite de cloisonnements à l'intérieur des hyphes (Ouazene et Ouasene, 2019).

I.4. Aperçu sur l'écologie des actinomycètes

Les actinomycètes sont des microorganismes ubiquitaires présents dans la plupart des environnements aquatiques et terrestres (Barka *et al.*, 2016) (Tableau 3).

En tant que microbes libres, ils sont abondants dans les environnements du sol, en particulier ceux dont le pH est plus élevé ou riche en matière organique, ainsi que dans les écosystèmes marins et d'eau douce. Les actinobactéries sont également associées à des hôtes eucaryotes dans diverses niches, telles que l'exosquelette de certaines fourmis tropicales, les poumons et la peau des mammifères, ainsi que les racines et les tissus internes des plantes.

Certains genres, notamment *Streptomyces*, *Kineococcus* et *Mycobacterium*, couvrent divers écosystèmes, du sol aux environnements marins en passant par l'eau douce. D'autres, comme *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Kocuria* et *Rothia*, se trouvent principalement dans les associations d'hôtes (Lewin et al., 2016).

Néanmoins, la plupart des actinobactéries proviennent du sol. Ces microorganismes montrent également la capacité de s'installer dans d'autres habitats, tels que les déserts chauds, les glaciers, les zones contaminées par des hydrocarbures ou des métaux lourds, les lacs extrêmement alcalins, ainsi que des environnements très salins (Bousnina et Ghedeir, 2020).

La plupart des actinobactéries (les streptomycètes en particulier) sont des organismes saprophytes vivant dans le sol qui passent la majorité de leur cycle de vie sous forme de spores semi-dormantes, en particulier dans des conditions limitées en nutriments (Barka et al., 2016), mais quelques-uns peuvent être pathogènes (l'exemple le plus étudié est *Streptomyces scabies*, responsable de la gale de la pomme de terre) (Lindholm, 1997), ou symbiotes des plantes (par exemple, *Frankia spp.*), ou commensaux gastro-intestinaux (par exemple, *Bifidobacterium spp.*) (Barka et al., 2016).

Tableau 3. Habitats de certains actinomycètes (Goodfellow et Williams, 1983).

| Genre | Habitats |
|----------------------------|--|
| • <i>Actinomadura</i> | • Sol |
| • <i>Actinoplanes</i> | • Sol, eau, litière |
| • <i>Frankia</i> | • Nodules des racines |
| • <i>Microbispora</i> | • Sol |
| • <i>Micromonospora</i> | • Sol, eau |
| • <i>Nocardia</i> | • Sol, eau |
| • <i>Rhodococcus</i> | • Sol, eau, fumier, litière |
| • <i>Saccharomonospora</i> | • Matière en décomposition |
| • <i>Streptomyces</i> | • Sol, eau, litière |
| • <i>Streptosporangium</i> | • Sol |
| • <i>Thermomonospora</i> | • Matière en décomposition et fermentation |

I.5. Importance des actinomycètes dans les différents domaines

Les actinobactéries sont largement appréciées pour leur capacité à produire des métabolites primaires et secondaires qui ont des applications importantes dans divers domaines :

I.5.1. Importance en agronomie

Dans le domaine agronomique, grâce à leur capacité de transformation des substances organiques complexes difficilement ou non dégradables par les autres microorganismes, tels que les polymères complexes, les polysaccharides, les lignocelluloses, la chitine, etc., les actinobactéries jouent un rôle important dans la fertilisation des sols (**Goodfellow et Williams, 1983**). Aussi, les espèces du genre *Streptomyces* produisent en outre un composé gazeux caractéristique, appelé la géosmine, qui donne à la terre fraîche son odeur distinctive de moisi.

Grâce à leurs propriétés antagonistes, les actinobactéries sont utilisées dans la lutte biologique pour la protection de certaines plantes contre les maladies fongiques et bactériennes (**Bouali et al., 2017**).

Dans la nature, les actinomycètes jouent un rôle important dans le cycle des composés organiques et ont été associés avec la production de la matière organique du sol, y compris la production des pigments noirs appelés mélanine, qui sont liés au sol acide humique (**Silva et al., 2013**).

Plusieurs actinomycètes sont réputés pour dégrader les substances toxiques et sont utilisés en bioremédiation. Ils sont significativement bien adaptés à la survie dans des environnements difficiles. Certaines peuvent pousser à des températures élevées (> 50 ° C) et sont essentielles à la méthode de compostage (**Sharma et al., 2014**).

I.5.2. Importance dans le domaine médical, vétérinaire et industriel

Les actinomycètes produisent de nombreux antibiotiques, qui sont les mieux reconnus et les plus précieux. Ces antibiotiques comprennent l'amphotéricine, la nystatine, le chloramphénicol, la gentamycine, l'érythromycine, la vancomycine, la tétracycline, la novobiocine, la néomycine (**Sharma et al., 2014**). Ils constituent une source prometteuse d'un large éventail des enzymes, des inhibiteurs d'enzymes, des immunomodifiants et des vitamines (vitamines C, E, et A) (**Silva et al., 2013**), des herbicides, des pesticides ou des antiparasitaires (**Oskay et al., 2004**).

En effet, les actinobactéries démontrent la capacité de synthétiser divers produits naturels, notamment des alcaloïdes, des peptides, des stérols, et d'autres composés. Ces produits naturels présentent des potentialités importantes dans la lutte contre des maladies majeures telles que le cancer, le VIH, les infections protozoaires, les inflammations sévères, et d'autres affections (**Hassan *et al.*, 2017**).

Les cellulases sont utilisées en industrie pharmaceutique dans des formules médicamenteuses à vocation d'aide digestive. Une production significative de ces enzymes est orientée vers trois marchés principaux : l'industrie alimentaire où les cellulases sont utilisées pour faciliter la filtration des diverses suspensions riches en fibre cellulosique, l'industrie textile où elles sont utilisées pour le traitement des toiles de coton et dans la fabrication de pâte à papier ou l'addition de cellulase aux suspensions de pâtes en cours de lavage et surtout aux suspensions de pâtes de recyclage améliore significativement leur filtrabilité et conduit à des économies importantes de consommation d'eau (**Ouazene et Ouasene, 2019**).

II. Métabolites d'intérêt des actinomycètes

II.1. Métabolisme des actinobactéries

La différenciation morphologique s'accompagne d'une différenciation métabolique. Un métabolisme secondaire se met en place donnant lieu à la biosynthèse de composés d'une extraordinaire diversité de structures et d'activités biologiques. (Choulet *et al.*, 2006)

Les métabolismes des actinomycètes peuvent être divisés en deux parties : le métabolisme **primaire** et le métabolisme **secondaire**.

II.1.1. Métabolisme primaire

Le métabolisme primaire des actinobactéries est semblable à celui des autres organismes. Les métabolites primaires ou généraux essentiels forment la structure cellulaire et permettent le fonctionnement du métabolisme général (Ibrahimi, 2020).

II.1.2. Métabolisme secondaire

Le métabolisme secondaire se différencie du métabolisme primaire par le fait qu'il concerne des métabolites non directement impliqués dans la croissance et la vie de l'organisme. De manière générale, le métabolisme secondaire est considéré comme l'ensemble des voies de synthèse de composés qui n'ont ensuite pas des fonctions apparentes dans le métabolisme cellulaire (Ibrahimi, 2020).

Les actinomycètes ont fourni de nombreux composés bioactifs importants de haute valeur commerciale et continuent d'être régulièrement étudiés pour détecter de nouveaux composés bioactifs (Duraipandiyar *et al.*, 2010).

Les métabolites secondaires créés par les Actinomycètes présentent un nombre incroyable d'effets biologiques divers, outre les activités antimicrobiennes. L'ordre des Actinomycètes est responsable de la production de composés bioactifs avec un record de plus de 10 000 agents antimicrobiens à usage pharmaceutique (Selim *et al.*, 2021).

De plus, *Streptomyces* est la source la plus importante de métabolites secondaires présentant une activité biologique d'intérêt pour la santé humaine et animale : antibactérienne (streptomycine, tétracycline, chloramphénicol), antifongique (nystatine), antivirale (tunicamycine), antiparasitaire (ivermectine), immunosuppressive (rapamycine), antitumorale (actinomycine, mitomycine C, anthracycline). La figure 5 résume les différentes molécules bioactives produites par les actinomycètes (Ouazene *et al.*, 2019).

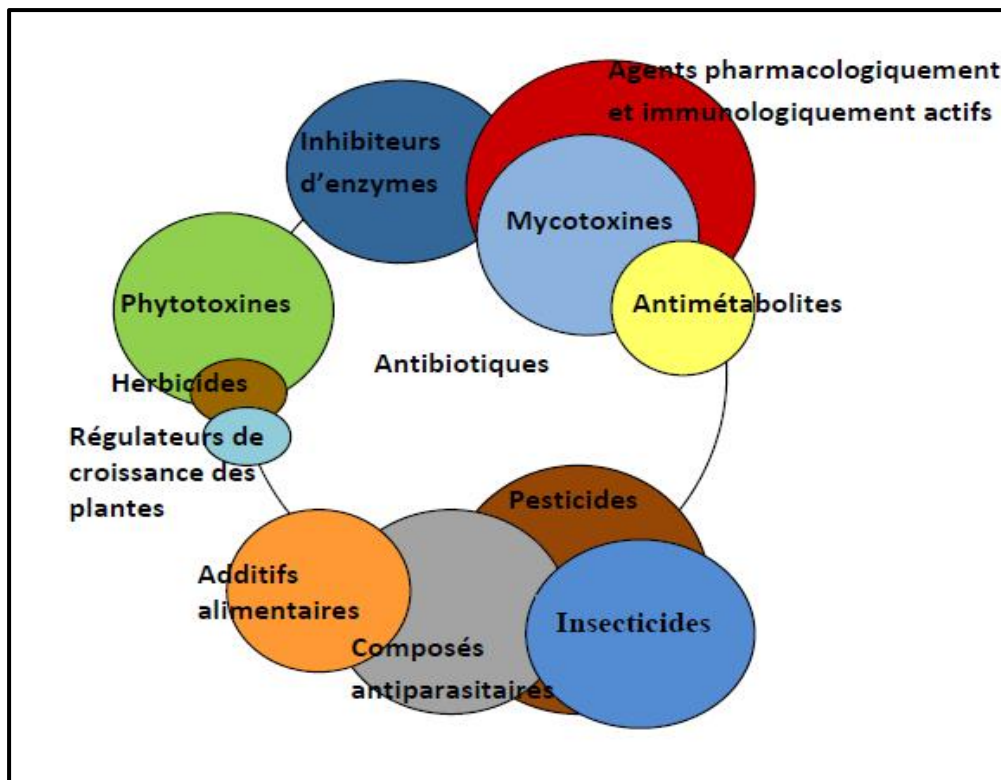


Figure 5. Métabolites secondaires bioactifs produits par les actinomycètes

(Ouazene et Ouazene, 2019).

II.2. Substances bioactives produite par les actinomycètes

Les actinomycètes sont connus par leur production de substances biologiquement actives telles que les antibiotiques, les vitamines, les enzymes et les pigments (**Bouras et Mahdi, 2020**).

II.2.1. Enzymes

Après les antibiotiques, les enzymes représentent le second grand groupe de produits industriels synthétisés par les actinomycètes. En effet, ce sont d'excellents producteurs d'enzymes à utilisation industrielle telles que des **protéases**, **des chitinases**, **des amylases**, **des cellulases**, des **xylanases**. Les **lipases** sont aussi produites par certaines souches actinomycètes, ces enzymes catalysent l'hydrolyse des triglycérides en diglycérides, monoglycérides, glycérol et en acides gras (**Bousnina et Ghedeir, 2019**).

Tableau 4. Les enzymes produites par les actinomycètes avec leur application (**Selim et al., 2021**).

| Enzyme | Souches d'actinomycètes | Utilisation |
|--------------|---|---|
| Protéase | <i>S. galbus</i> | -Détergents -Fabrication du fromage -Clarification : bière -faible en calories -Démasquage -Traitement du caillot de sang |
| Cellulase | <i>S. actuosus</i> | Enlèvement de taches, finition du denim, nettoyage de la lessive |
| Lipase | <i>S. griseochromogènes</i> | -Enlèvement des taches -Stabilité de la pâte et conditionnement -Saveur de fromage -Désencrage, nettoyage |
| Xylanase | <i>S. rameus</i> | -Conditionnement de la pâte -Digestibilité -Stimulant l'eau de Javel |
| Pectinase | <i>S. fradzae, S. nztrosporeur</i> | -Clarification, purée |
| Amylase | <i>S. aureofasciculus, S. galilaeus</i> | -Élimination de l'amidon des tissus -Désencrage, amélioration du drainage |
| Lipoxygénase | <i>Streptomyces sp.</i> | Blanchiment du pain |

II.2.2. Vitamines

La vitamine B12 telle qu'elle existe dans la nature peut être produite par des bactéries ou des actinobactéries. L'isolement de la vitamine B12 à partir des fermentations d'actinobactéries a suscité un intérêt considérable pour la production possible de vitamines par des fermentation microbiennes. Les actinobactéries produisaient d'autres vitamines hydrosolubles, telles que, la thiamine et le dérivé d'acide ptéroyl glutamique qui favorise la croissance de certaines souches de *Leuconostoc citrovorum* et de la coenzyme A (**Anandan, 2016**).

II.2.3. Pigments

Les actinobactéries sont caractérisées par la production de divers pigments sur des milieux naturels ou synthétiques, ces pigments sont considérés comme une des Caractéristiques culturelles importantes dans la description des organismes. Ces pigments apparaissent habituellement dans différentes nuances de bleu, violet, rouge, rose, jaune, vert, brun, et noire (**Kosseir et al., 2020**).

Les pigments microbiens ont des activités antibiotiques ou anticancéreuses et sont également sans danger pour l'utilisation humaine. Peu d'entre eux sont également présentés comme pigments de qualité alimentaire. Ils sont faciles à produire et sont également économiques (Selim et al., 2021).

Les streptomycètes constituent une classe majeure d'importance industrielle, capables de produire de nombreux antibiotiques et pigments. La capacité de ces organismes à produire des pigments dépend des diverses conditions de nutrition et de culture où elle peut être considérablement augmentée ou complètement perdue. Il est donc très important d'améliorer la bonne combinaison de différentes conditions culturelles pour encourager la croissance et la production de pigments (Selim et al., 2021).

Un pigment biologique, l'actinorhodine, est produit par *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces violaceusrube*. Ce pigment a différentes applications telles qu'un antibiotique contre les bactéries Gram +, un indicateur dans les agents de laboratoire en raison de sa capacité à montrer des couleurs spéciales en milieu acide et alcalin et enfin, l'actinorhodine peut être utilisée dans l'industrie alimentaire lors de la fabrication de boissons, de desserts, etc. et pourrait même être dans l'industrie cosmétique (Selim et al., 2021).

II.2.4. Bio herbicides

Une autre application intéressante des actinobactéries est l'utilisation de leurs métabolites secondaires comme herbicides. *Streptomyces saganonensis* produit des herbicidines et des herbimycines qui contrôlent les mauvaises herbes monocotylédones et dicotylédones. Anisomycine est produit par *Streptomyces sp.*, peut inhiber la capacité des plantes à synthétiser la chlorophylle. De même, le bialaphos, un métabolite de *Streptomyces viridochromogenes*, est largement utilisé pour lutter contre les herbes indésirables en inhibant la synthèse de la glutamine (Anandan, 2016).

II.2.5. Antitumoraux

Le cancer constitue l'une des pathologies humaines responsables d'un grand nombre de décès chaque année. Parmi les métabolites secondaires des actinomycètes, certaines molécules se révèlent capables d'inhiber la multiplication des cellules cancéreuses. On peut citer l'actinomycine D, les anthracyclines (Daunorubicine, Doxorubicine), la Bléomycine (Kosseir et al., 2020) ou encore la Mitomycine C (qui est un produit naturel qui contient différents groupes fonctionnels, comme l'aminobenzoquinone et le système cyclique aziridine.

La mitomycine C (MC) a été produite par *Streptomyces lavendulae* et a été généralement utilisée en clinique pour le traitement antitumoral) (Selim et al., 2021).

Ces composés agissent en se fixant sur l'ADN. L'Actinomycine D, par exemple, se fixe au niveau du complexe d'initiation de la transcription et empêche l'élongation par l'ARN polymérase (Kosseir et al., 2020).

Tableau 5. Listes des composés bioactifs dérivés d'actinobactéries ont montré des activités antibactériennes et antitumorales (Selim et al., 2021).

| Composé bioactif | Espèces | Activité |
|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Abyssomicine | <i>Verrucospora sp.</i> | Antibactérien et antitumoral |
| Actinofuranones AB | <i>Streptomyces sp.</i> | Antibactérien et antitumoral |
| Analogues-métacycloprodigosine | <i>Saccharopolyspora sp.</i> | Anticancer |
| Benzanthraquinone | <i>Chainia purpurogène</i> | Antibactérien et antitumoral |
| Buténolides | <i>Streptomyces sp.</i> | Antitumoral |
| Méchercharmycine | <i>Thermoactinomyces sp.</i> | Antitumoral |
| Diphosphatidylglycérol | <i>Micromonospora sp.</i> | Antitumoral |

II.2.6. Antifongiques et antiparasitaires

Le mot antifongique se réfère à un composé capable de tuer ou d'inhiber la croissance d'un champignon. De nombreux antifongiques sont utilisés en médecine. La nystatine produite par *Streptomyce snoursei* est par exemple utilisée pour le traitement de différentes infections par des levures, notamment des *Candida* (Kosseir et al., 2020).

La kasugamycine est un métabolite bactéricide et fongicide sécrété par *Streptomyces kasugaensis* qui agit comme un inhibiteur de la biosynthèse des protéines chez les micro-organismes mais pas chez les mammifères. La kasugamycine, systématiquement active, a été commercialisée pour lutter contre la pyriculaire du riz (*Pycularia oryzae cavara*) et les maladies bactériennes à *Pseudomonas* dans plusieurs cultures. En 1965, Isono et coll. ont

isolé les premiers membres d'une nouvelle classe de fongicides naturels, les polyoxines B et D, à partir de métabolites de *Streptomyces cacaoi* var. *asoensis*. Ces substances agissent en interférant avec la synthèse de la paroi cellulaire fongique en inhibant la chitine synthase **(Barka et al., 2016)**.

La polyoxine B est appliquée contre un certain nombre d'agents pathogènes fongiques présents dans les fruits, les légumes et les plantes ornementales, tandis que la polyoxine D est utilisée pour lutter contre l'agent causal de la brûlure de la gaine du riz, *Rhizoctonia solani* **(Barka et al., 2016)**.

En 1968, la famille des validamycines a été détectée par des chercheurs de Takeda Chemical Industries dans un essai en serre pour le traitement de la brûlure de la gaine des plants de riz causée par le champignon *Rhizoctonia solani*. La validamycine A, le composant majeur et le plus actif du complexe, a été isolée de *Streptomyces hygroscopicus*. Ce mode d'action confère à la validamycine A une sélectivité biologique favorable, puisque les vertébrés ne dépendent pas de l'hydrolyse du disaccharide tréhalose pour leur métabolisme **(Barka et al., 2016)**.

Le terme antiparasitaire désigne plus globalement un composé permettant de lutter contre différents types d'organismes eucaryotes (protistes, insectes, helminthes). Ces métabolites présentent des utilités en médecine humaine et vétérinaire, mais aussi en agriculture **(Kosseir et al., 2020)**.

II.2.7. Antiviraux

Streptomyces chromofuscus a produit un inhibiteur de protéase (PISC-2002) à partir de ses surnageants de culture. PISC-2002 joue un rôle important en tant qu'agent antiviral contre le virus de la grippe A/Rostock/34 (H7N7). *Streptomyces* sp. produit de la pimprinine, qui est un alcaloïde extracellulaire. La pimprinine présente des propriétés physicochimiques significatives, des activités antimicrobiennes, une activité anticonvulsive et présente également une activité antivirale contre l'entérovirus 71 (EV71) **(Selim et al., 2021)**.

L'étude d'une souche d'actinomycètes marins, *Streptomyces kaviengensis*, isolée de la côte de la Nouvelle-Irlande (Papouasie-Nouvelle-Guinée) a permis à Raveh et ses collègues d'identifier un nouveau métabolite doté d'une activité antivirale significative. Le composé, l'antimycine A1a, s'est révélé être un dérivé de l'antimycine A et présente une activité élevée contre le virus de l'encéphalite équine occidentale avec une valeur IC₅₀ inférieure à 4 nM et

un indice de sélectivité supérieur à 550. L'analyse de son mécanisme d'action a révélé une perturbation du transport des électrons mitochondriaux et biosynthèse de la pyrimidine.

De plus, l'antimycine A précédemment connue a démontré une activité à large spectre contre un large éventail de virus à ARN, y compris les membres des familles *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Bunyaviridae*, *Picornaviridae* et *Paramyxoviridae* (Krzesniak et al., 2018).

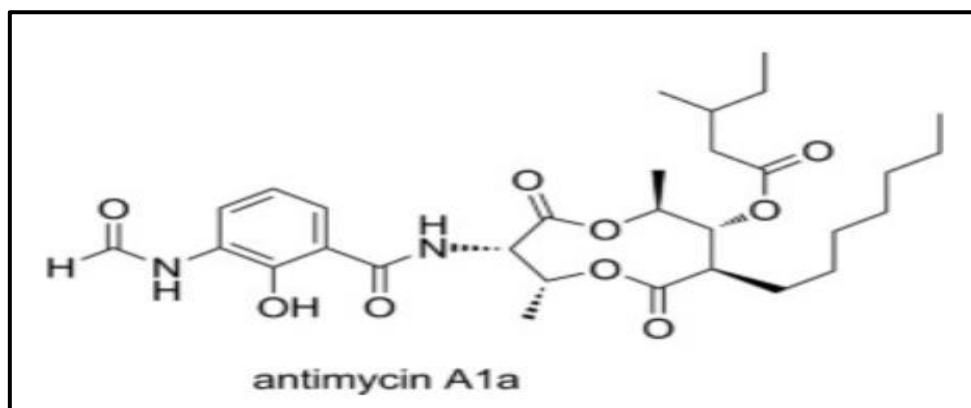


Figure 6. La structure chimique de antimycin A1a (Krzesniak et al., 2018).

La protéase du VIH-1 est essentielle dans le cycle de vie du VIH et a été utilisée comme cible prometteuse pour le traitement du SIDA. Plusieurs nouveaux inhibiteurs puissants de cette protéase ont été rapportés récemment. En 2013, un nouvel inhibiteur de la protéase du VIH-1, le 4862Fa été isolé du bouillon de culture de *Streptomyces albosporus* I03A-04862. Il a été élucidé comme *N, N, N* -(triméthylé)-Tyr-L-Leu-L-Val-L-Leu-(déshydraté)-His et il a été déterminé qu'il présentait une activité inhibitrice contre la protéase du VIH-1 avec une valeur IC_{50} de 15,26 nM (Krzesniak et al., 2018).

Ahmpatininⁱ Bu est un peptide linéaire et un nouveau dérivé de pyrrolidine avec un acide aminé inhabituel, l'acide 4-amino-3-hydroxy-5-(4-méthoxyphényl) pentanoïque. Il a été produit par *Streptomyces* sp. CCCC 202950 cultivé sur du riz trempé stérile. L'Ahmpatininⁱ Bu a montré une activité inhibitrice significative contre la protéase du VIH-1, ce qui a donné une $CI_{50} = 1,79$ nM (Krzesniak et al., 2018).

actagardine), macrolides (clarythromycine, érythromycine, tylosine, clarithromycine), les oxazolidinones (cyclosérine), les streptogramines (streptogramine) et les tétracyclines **(Barka et al., 2016)**.

La capacité de production des actinomycètes individuels peut également varier énormément. Certaines espèces de *Streptomyces* produisent un seul antibiotique, tandis que d'autres produisent une gamme de différents composés et classes de composés. **(Barka et al., 2016)**.

Tableau 6. Les antibiotiques produits par les *Streptomyces sp* **(Selim et al., 2021)**.

| <i>Streptomyces sp.</i> | Antibiotiques |
|-------------------------|-----------------|
| <i>S. orchidaccus</i> | Cycloserine |
| <i>S. orientalis</i> | Vancomycine |
| <i>S. griseus</i> | Streptomycine |
| <i>S. viridifaciens</i> | Tétracycline |
| <i>S. mediterranei</i> | Rifampicine |
| <i>S. tenebrarius</i> | Tobramycine |
| <i>S. rimosus</i> | Oxytétracycline |

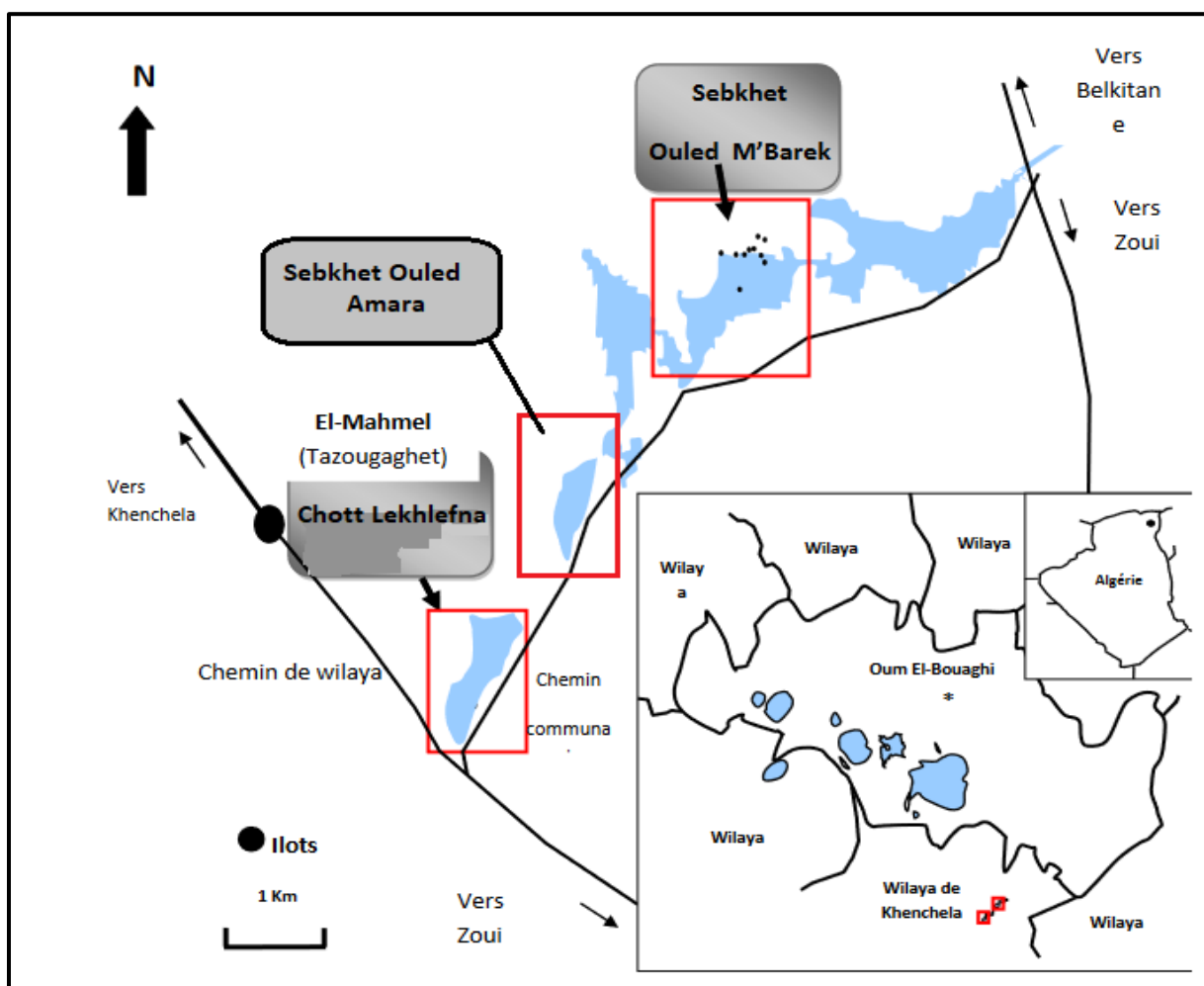
Chapitre II.
Matériel et
Méthodes

L'objectif principal de notre travail est basé sur l'isolement des actinomycètes à partir de trois milieux salins de Sebkhet El-Mahmel. Afin de vérifier l'activité protéolytique et kératinolytique des souches isolées.

I. Echantillonnage

L'échantillonnage est effectué à partir de chott Sbikha qu'est localisé dans les Hautes Plaines constantinoises, ces dernières se situées entre 750 et 1.100 m d'altitude, elles constituent un long boulevard bordé au Nord par l'atlas tellien et par l'atlas saharien au Sud (commune de Mehmal, daïra d'Ouled Recheche) (**Carte 1**).

Les hydrosystèmes Sbikha « El-Mahmel » sont considérés comme les plus importantes zones humides et le seul écosystème aquatique naturel de la wilaya de Khenchela. Sebkhet El-Mahmel, est un lac salé allongé, divisé en plusieurs séries d'unités, dont trois sont les principaux, connus sous le nom de Chott Lekhlefnna, Sebkhet Ouled Amara et Sebkhet Ouled M'Barek (**Bouakkaz, 2017**).



Carte 1. Situation géographique de la Sebkha d'El-Mahmel (Khenchela) (**Saheb, 2003**)

Trois prélèvements différents ont été effectués à partir de l'eau de Chott Lekhlefna, et Chott Ouled Amara et du sol de Chott Ouled M'barek.



Photographie 1. Vue générale de la Sebkhet de Ouled Lekhlefna, El-Mahmel (Photo prise le 11 février 2024 par Dr. KHEDDOUMA A.)



Photographie 2. Vue générale la Sebkhet de Ouled Amara, El-Mahmel (Photo prise le 11 février 2024 par Dr. KHEDDOUMA A.)



Photographie 3. Vue générale la Sebket de Ouled M'barek, El-Mahmel (Photo prise le 31 Janvier 2024 par Dr. KHEDDOUMA A.)

II. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons

II.1. Mesure de pH des échantillons

Nous avons utilisé un pH-mètre, en introduisant une sonde dans l'échantillon, et nous avons maintenu jusqu'à la stabilisation de la valeur sur l'écran du pH-mètre.



Photographie 4. Mesure de pH des trois échantillons.

II.2. Mesure de la conductivité des échantillons

La conductivité des trois échantillons est mesurée à l'aide d'un conductimètre. Les résultats sont exprimés en dS/m.



Photographie 5. Mesure de la conductivité électrique.

III. Isolement des Actinomycètes**III.1. Préparation du milieu d'isolement**

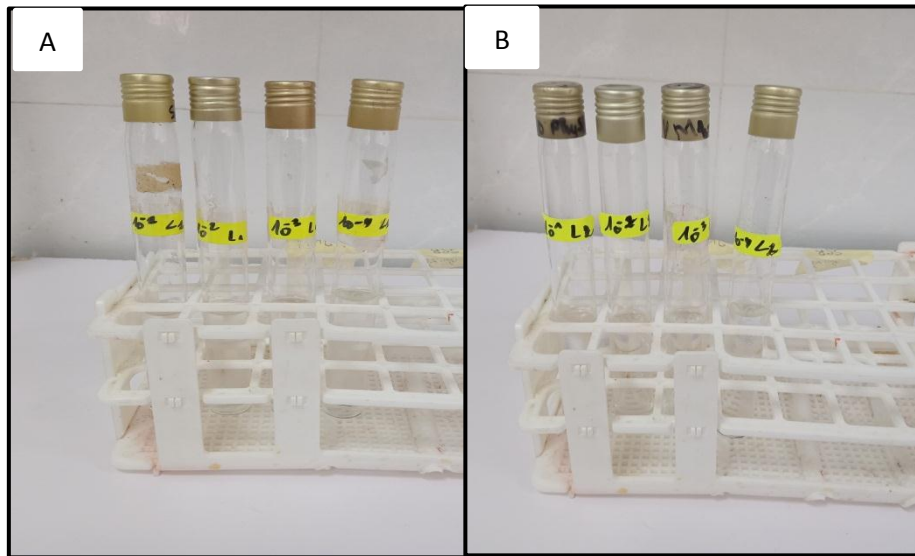
Le milieu d'isolement utilisé est International Streptomyces Project (ISP4) avec 3 concentrations différentes de NaCl (**0,5g/l ; 1g/l ; 2g/l**).

La composition de milieu est donnée en annexe N° 01

III.2. Préparations des dilutions décimales

➤ *L'eau de Sebka*

Pour chaque échantillon; 1 ml de solution mère est inoculée dans une série de dilution décimale de 10^{-1} à 10^{-4} d'eau physiologique stérile (Annexe 01), à chaque dilution, une agitation au vortex est nécessaire.



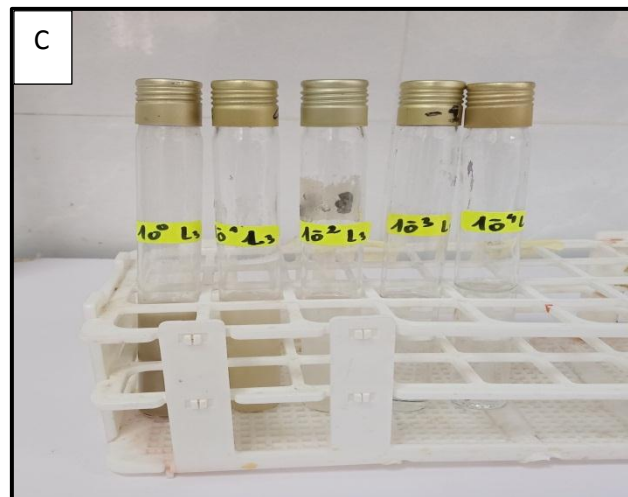
Photographie 6. Dilution en série des échantillons d'eau de Sebka.

A : Echantillon local 1

B : Echantillon local 2

➤ **Le sol**

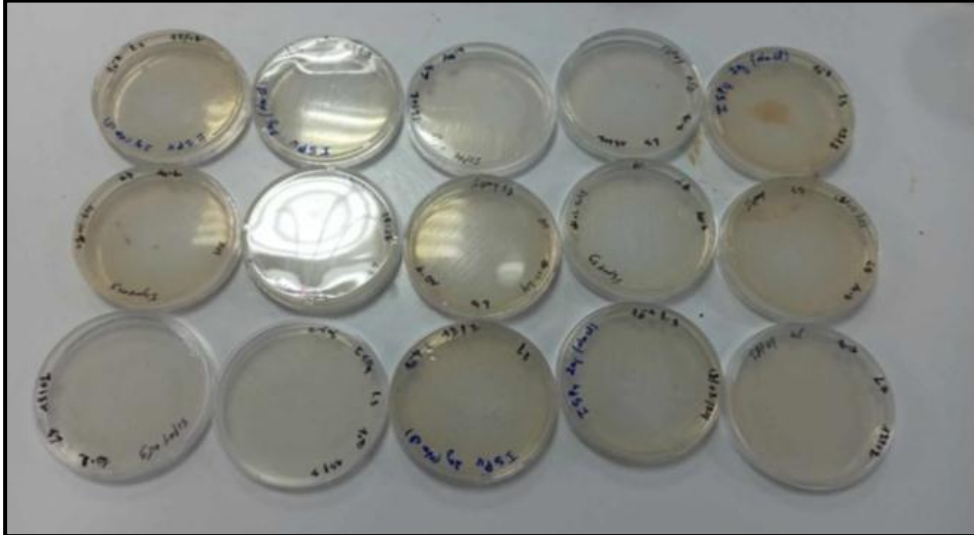
1g de sol est introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, le tube est ensuite agité au vortex quelques minutes. Cette suspension est considérée comme étant la solution mère. Une série de dilutions décimales est ensuite effectuée (10^{-1} jusqu'à 10^{-4}).



Photographie 7. Dilution en série de l'échantillon du sol.

III.3. Ensemencement et incubation

L'ensemencement est réalisé par la méthode de stries serrées de chaque dilution sur la surface du milieu d'isolement. Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 14 jours.



Photographie 8. Ensemencement des boîtes de pétries par la méthode de stries serrées.

IV. Etude des caractères morphologiques

IV.1. Caractérisations macroscopiques

Une description macroscopique a été faite pour les colonies qui se rapprochent par leur aspect aux actinomycètes (la taille, la forme, la couleur des colonies isolées, etc.) (**Kosseir et al., 2020**).

IV.2. Coloration de Gram

Les colorations sont effectuées selon les méthodes de Gram classiques. Des frottis de colonies répondant aux caractéristiques macroscopique des actinomycètes sont préparés, colorés puis observés sous microscopes optique au grossissement x 100.

V. Recherche de l'activité protéolytique

Afin de détecter l'activité protéolytique, les 25 souches ont été repiquées par touche au centre des boîtes de pétri sur milieu solide gélose nutritive au lait (GNL) (Annexe 01) à $\text{pH} \approx 10$ et incubées à 30°C pendant 10 jours.

Après incubation, le test d'activité est basé sur la diffusion de protéases secrétées par ces souches dans le milieu de culture et la dégradation de la caséine du lait au tour de la colonie.

Ce fait s'explique par l'observation directe d'un halo translucide autour de la colonie avec un diamètre proportionnel à la quantité des protéases libérées par les cellules (**Habbeche, 2014**).

VI. Recherche de l'activité kératinolytique

Afin de détecter l'activité kératinolytique, les 25 souches sont repiquées par touche au centre des boites de pétri sur milieu solide à base de farine de plume (FBM) (Annexe 01) à $\text{pH} \approx 7.2$ et incubés à 30°C pendant 10 jours.



Photographie 9. Préparation de la farine de plume.

La recherche d'activité kératinolytique est basée sur l'apparition des halos translucides au tour de la colonie, le diamètre des halos est proportionnel à la quantité de kératinases extracellulaires secrétés par cette souche (**Habbeche, 2014**).

Chapitre III.
Résultats et
Discussion

I. Caractères physicochimiques

I.1. Mesure de pH des échantillons

Le pH des trois échantillons prélevés est représenté dans le **tableau N° 07**.

Tableau 07. Valeurs de pH des trois échantillons prélevés à partir de Sebkhia El-Mahmel.

| Echantillon | pH |
|--------------------------|------|
| L1 (Chott Lekhlefnia) | 8,93 |
| L2 (Chott Ouled Amara) | 8,85 |
| L3 (Chott Ouled M'barek) | 8,08 |

Ces échantillons sont caractérisés par des valeurs de pH entre 8,08 et 8,93, et qui présentent un pH alcalin. Nos résultats sont en accord avec les résultats de **Sedrati et al., 2017** qui ont travaillé sur la même zone et ils ont trouvé que le pH de l'eau de Sebkhia El-Mahmel est légèrement alcalin (entre 7,5 et 8,0). Cependant, **Boualla et al., 2014** ont montré que le pH de l'eau de sebkhia de Oran est alcalin.

D'autres études menées par **Chairi, 2005** a trouvé que le pH des eaux de sebkhia de Moknine (situé dans la Tunisie orientale) sont neutres à basiques (pH entre 7,40 et 8,82).

Selon **Menasria, 2020** la mesure du pH pour les différents prélèvements montre que les sols des Chotts et des Sebkhia (Chott Tinisilt ; Chott El Beidha-Hammam Essoukhna ; Sebkhia El Hamiet ; Sebkhia Djendli ; Sebkhia Medghacen ; Sebkhia Oumache et Chott Kralla) représente les caractéristiques des sols alcalin à légèrement alcalin.

Allat et Kaabeche, 2013 ont également montré que le pH de Chott El Beida (Sétif) est alcalin. D'autres études menées par **Smati et Kitouni, 2019** ont trouvées que le pH des sols de deux sebkhias d'Essemoul et de Djendli est alcalin.

Par contre, les résultats de **Hafhouf, 2022** montrent un pH des sols de sebkhia d'Ain M'lila un peu acide (6,53).

I.2. Mesure de la conductivité électrique des échantillons

La conductivité électrique des trois échantillons prélevés est représentée dans le **tableau N°08**.

Tableau 08. La conductivité électrique des trois échantillons prélevés à partir de Sebkhah El-Mahmel.

| Echantillon | Conductivité électrique (dS/m) |
|--------------------------|--------------------------------|
| L1 (Chott Lekhlefnah) | 10,55 |
| L2 (Chott Ouled Amara) | 13,08 |
| L3 (Chott Ouled M'barek) | 17,43 |

On observe que les valeurs de la conductivité varient entre 10,55 dS/m et 17,43 dS/m. La conductivité de Chott Lekhlefnah et de Chott Ouled Amara est élevée donc un degré de minéralisation élevé (milieu riche en sels minéraux) ce qui est en accord avec les résultats de **Sedrati et al., 2017** qui ont montré que la conductivité électrique de l'eau de Sebkhah El-Mahmel est élevée.

Chairi, 2005 a trouvé que la conductivité électrique des eaux de sebkhah de Moknine (situé dans la Tunisie orientale) est également élevée.

La conductivité électrique de Chott Ouled M'barek est 17,43 dS/m, cette valeur est supérieure à 6, donc selon la classification de salinité proposée par **Aubert, 1978 (Annexe 2 Tableau 1)**, le sol de Chott Ouled M'barek est classé comme un sol extrêmement salin. Nos résultats sont en accord avec les résultats de **Hafhouf, 2022** qui a trouvé que la conductivité électrique des sols de sebkhah d'Ain M'Lila est fortement salin.

Selon **Menasria, 2020** la mesure de la conductivité électrique pour les différents prélèvements montre que les sols des Chotts et des Sebkhah représentent les caractéristiques des sols salés et hyper salés.

II. Isolement des Actinomycètes

Après une incubation de 14 jours à 30°C, on a pu isoler 25 souches à partir de trois milieux salins (Chott Lekhlefnah ; Chott Ouled Amara et Chott Ouled M'barek) sur le milieu ISP4 avec 3 concentrations différentes d'NaCl (**0,5 g/l ; 1 g/l ; 2 g/l**).

Les résultats de la croissance des souches à différentes concentrations de NaCl sont représentés dans le **tableau N°09**.

Tableau 09. Test de croissance des souches actinomycètes sur le milieu ISP4 à différentes concentrations d' NaCl.

| Echantillon | [0,5 g/l] | [1 g/l] | [2 g/l] |
|---------------------|-----------|---------|---------|
| Chott Lekhlefn | - | +++ | + |
| Chott Ouled Amara | - | ++ | + |
| Chott Ouled M'barek | - | + | + |

(-) pas de croissance, (+) croissance faible, (++) croissance modérée, (+++) croissance abondante.

Selon les résultats affichés dans le tableau 09:

Une croissance hétérogène des actinomycètes isolée à partir de chaque Chott est observée. Ce résultat peut être dû à la différence dans les facteurs physico-chimiques, des trois Chotts, surtout le degré de salinité et d'humidité, qui influent considérablement sur le nombre ainsi que le type des actinomycètes.

Aucun développement observé dans la concentration de 0,5 g/l de NaCl dans les trois Chotts. Ceci peut être dû au fait que la concentration à 0,5 g/l de NaCl ajoutée au milieu d'isolement était trop faible et par voie de conséquence défavorise la croissance des actinomycètes de ces échantillons.

Une bonne croissance observée dans la concentration 1g/l de NaCl dans Chott Lekhlefn. Ceci peut être expliqué par :

La disponibilité en nutriments dans le Chott Lekhlefn qui est l'un des principaux facteurs déterminant la croissance des actinomycètes, la plupart des actinomycètes peuvent utiliser une grande diversité de composés tels que le glucose, l'amidon, protéine ... comme source d'énergie, contrairement à d'autres groupes bactériens qui privilégient les sources simples de carbone et d'azote. La richesse de chott Lekhlefn en matière organique qui représente un substrat nutritif essentiel pour la croissance des actinomycètes.

L'eau de Chott Lekhlefn est caractérisée par un pH alcalin, ceci est corroboré par la bibliographie des actinomycètes qui affirme que le pH optimum de croissance des actinomycètes se situerait entre 5 et 9 (Kpoda *et al.*, 2024).

L'eau de Chott Lekhlefn est caractérisée par une minéralisation moins élevée (CE= 10,55 ds/m) par rapport aux Chott Ouled Amara et Chott Ouled M'barek ce qui est en accord avec les résultats de Trabelsi *et al.*, 2016 qui ont trouvé que la croissance des actinomycètes

isolé à partir de Sebkhia Monastir (Tunisie) est plus grande dans les zones à basse concentration en sels. La concentration 1g/l de NaCl ajoutée au milieu d'isolement est adaptée à la croissance des actinomycètes. **Boughachiche et al., 2005** ont isolé quarante-deux types de colonies bactériennes à partir de sebkha Ain M'lila.

Une croissance modérée dans la concentration 1g/l dans Chott Ouled Amara. Ceci peut être expliqué par la présence de quantité élevée des sels minéraux dans l'eau de Chott (CE= 13,08 ds/m) qui limite la croissance des actinomycètes. De plus certains sels peuvent être toxiques pour les microorganismes à des concentrations élevées ce qui peut inhiber leur croissance et leur activité métabolique. **Benhadj et al., 2018** ont aussi isolé huit isolats d'actinomycètes à partir de l'eau de lac Fetzara.

Une faible croissance observée dans la concentration 2 g/l dans les trois Chotts. Ceci peut être dû au fait que la concentration à 2 g/l de NaCl ajoutée au milieu d'isolement était trop élevée et par voie de conséquence défavorise la croissance des actinomycètes de ces échantillons.

Nos résultats ne sont pas en accord avec les résultats de **Smati et Kitouni, 2019** qui ont démontré que la concentration 2g/l de NaCl permet d'obtenir le plus grand nombre des actinomycètes dans les sols de deux sebkhas d'Essemoul et de Djendli.

Une faible croissance observée dans la concentration à 1g/l dans Chott Ouled M'barek. Ceci peut être expliqué par la pauvreté de sol de Chott Ouled M'barek en matière organique, et cela selon plusieurs études qui ont démontré une corrélation positive entre la croissance des actinomycètes et le pourcentage de matière organique (**Masayuki et al., 1988 ; George et al., 2010**).

Selon **Lee et Hawang, 2002**, la croissance des actinomycètes était positivement affectée par le rapport de matière organique indépendant de rapport de salinité du sol.

Le sol de Chott Ouled M'barek est caractérisé par son degré de salinité élevé, il exerce un stress important, ce qui a limité le nombre d'espèces d'actinomycètes. Cela est en corrélation avec le fait que dans les environnements extrêmes, le développement des microorganismes diminue quand le stress environnemental augmente (**Rodriguez et al., 1985**). Selon **Lee et Hawang, 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 important comme le type de sol, la végétation et l'emplacement géographique...etc (**Adegboye et Babalola, 2012**). L'absence de couvert végétal qui fournit les nutriments et la matière organique pour les actinomycètes, favorisant leur activité et leur diversité.

Il est important de signaler que les prélèvements ont été réalisés pendant la saison d'hiver (pluvieuse) ce qui explique le faible nombre d'actinomycètes isolées, ce qui est en accord avec les résultats de **Boughachiche et al., 2005** qui ont isolé un faible nombre d'actinomycètes à partir de trois sites différents de la Sebkhha de Ain M'Lila et qui ont démontré que les actinomycètes sont, généralement, plus abondants durant les saisons sèches que les saisons pluvieuses.

III. Etudes des caractères morphologiques

III.1. Caractérisations macroscopiques

Les données obtenues de l'examen macroscopique des souches (couleur de colonie, texture, relief, etc.) sur le milieu ISP4 sont représentés dans **le tableau N°10**.

Selon les résultats représentés dans le tableau 10. Il apparait que le nombre des souches obtenu à partir de l'eau de Chott Lekhlefnha est supérieur à celui obtenu à partir de Chott Ouled Amara et du sol de Chott Ouled M'barek.

Un moindre nombre des souches a été isolés à partir de Chott Ouled Amara et du sol de Chott Ouled M'barek.

Pour certaines souches l'aspect des colonies se diffère dans le même local.

Les colonies obtenues sont de forme variable (bombée, aplatie).

III.2. Coloration de Gram

Les frottis bactériens des différentes souches sont colorés par la coloration de Gram puis observé au microscope optique à l'objectif (GX100) en utilisant l'huile d'immersion.

L'observation microscopique montre que la plupart des souches isolées sont des bactéries de Gram positif. Nos résultats sont en accord avec les résultats des travaux pratiques de **Boughachiche et al., 2005** qui ont trouvé que parmi les quarante-deux colonies bactériennes isolés à partir de trois sites différents de la Sebkhha de Ain M'Lila trente-neuf sont à coloration de Gram positive.

D'autre étude menée par **Addou et al., 2013** ont trouvé une nouvelle bactérie filamenteuse à coloration de Gram positive isolée à partir d'un échantillon de sol de Chott Melghir (située dans le nord-est de l'Algérie).

Tableau 10. Résultats de l'étude macromorphologique des souches d'actinomycètes.

| Souche | Couleur | Texture | Relief | Local | [NaCl] (g/l) |
|--------|---------------|-----------|--------|-------|--------------|
| S1 | Jaune foncé | Crémeuse | Plate | L1 | 1 |
| S2 | Blanche | Crémeuse | Bombé | L1 | 1 |
| S3 | Jaune claire | Crémeuse | Plate | L1 | 1 |
| S4 | Blanche | Crémeuse | Bombé | L1 | 1 |
| S5 | Rose | Crémeuse | Bombé | L1 | 1 |
| S6 | Blanche | Crémeuse | Bombé | L1 | 1 |
| S7 | Blanchâtre | Crémeuse | Plate | L1 | 1 |
| S8 | Jaune clair | Crémeuse | Plate | L1 | 1 |
| S9 | Blanche | Sèche | Plate | L1 | 2 |
| S10 | Blanche | Crémeuse | Plate | L1 | 2 |
| S11 | Jaune | Sèche | Plate | L1 | 2 |
| S12 | Jaune clair | Crémeuse | Plate | L1 | 2 |
| S13 | Blanchâtre | Crémeuse | Bombé | L1 | 2 |
| S14 | Blanchâtre | Crémeuse | Plate | L2 | 1 |
| S15 | Orange | Crémeuse | Bombé | L2 | 1 |
| S16 | Jaune | Sèche | Bombé | L3 | 1 |
| S17 | Blanche | Sèche | Plate | L3 | 1 |
| S18 | Orange | Sèche | Plate | L3 | 1 |
| S19 | Blanchâtre | Crémeuse | Bombé | L1 | 1 |
| S20 | Blanche | Crémeuse | Plate | L1 | 2 |
| S21 | Blanche | Sèche | Plate | L2 | 2 |
| S22 | Orange | Sèche | Plate | L2 | 2 |
| S23 | Orange claire | Crémeuse | Bombé | L3 | 2 |
| S24 | Blanche | Crémeuse | Bombé | L3 | 2 |
| S25 | Vert | Poudreuse | | L2 | 1 |

(L1) : L'eau de Chott Lekhlefa. **(L2)** : L'eau de Chott Ouled Amara. **(L3)**: Sol de Chott Ouled M'barek, **(S)** : Souche isolée

Cependant, **Hedi *et al.*, 2014** ont montré que les bactéries isolées à partir de sebkha Sehline (Tunisia) sont à Gram positif. Également, **Alliouch-Kerboua, 2017** a trouvé que bactéries isolées à partir de la lagune El-Mellah (Elkala) sont à Gram positif.

IV. Résultats d'activité protéolytique

25 souches ont été sélectionnées sur la base de leurs caractères morphologique pour la poursuite de notre travail.

La dégradation de caséine de lait par les souches d'actinomycètes a été mise en évidence sur le milieu solide gélose nutritive au lait (GNL). Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **tableau N°11**.

Selon ces résultats affichés dans le tableau 11, on constate que :

Parmi les souches testées, 19 souches présentent une activité protéolytique. Les 19 souches présentent des halos translucide autours de leurs colonies, contrairement aux souches S2, S11, S14, S19, S22 et S25 qui ne présentent aucun halo ce qui indique l'absence de l'activité protéolytique de ces souches.

Le diamètre des halos entourant les colonies des souches protéolytiques est proportionnel à la quantité de protéases libérées par ces colonies et à la diffusion des enzymes secrétées dans le milieu pendant le temps d'incubation.

Les souches présentaient des zones d'hydrolyse d'un diamètre allant de **08 à 39mm**, tandis que les plus grandes zones ont été observées chez les trois souches S4, S13 et S1, avec un diamètre de **39 mm ; 38 mm ; 33 mm** respectivement, où ce sont les souches les plus productrices de protéase extracellulaire.

Les plus petites zones ont été observées chez les quatre souches S5, S17, S23 et S24 avec un diamètre de **08 mm ; 09 mm ; 09 mm ; 08 mm** respectivement, où ce sont les souches les moins productrices de protéase extracellulaire.

Les résultats obtenus après incubation sur le milieu sélectif indiquent que les **19 souches sont dotées d'une activité protéolytique**. Cette observation démontre clairement que, d'une part, ces actinomycètes sont capables d'hydrolyser la caséine du lait (protéine), et d'autre part, que les enzymes responsables de cette hydrolyse sont secrétées dans le milieu extérieur.

Tableau 11. Résultats d'activité protéolytique des souches d'actinomycètes.

| Souche | L'activité protéolytique | Diamètre de l'halo en (mm) |
|--------|--------------------------|----------------------------|
| S1 | + | 33 |
| S2 | - | / |
| S3 | + | 12 |
| S4 | + | 39 |
| S5 | + | 08 |
| S6 | + | 25 |
| S7 | + | 18 |
| S8 | + | 30 |
| S9 | + | 29 |
| S10 | + | 30 |
| S11 | - | / |
| S12 | + | 29 |
| S13 | + | 38 |
| S14 | - | / |
| S15 | + | 13 |
| S16 | + | 22 |
| S17 | + | 09 |
| S18 | + | 11 |
| S19 | - | / |
| S20 | + | 11 |
| S21 | + | 24 |
| S22 | - | / |
| S23 | + | 09 |
| S24 | + | 08 |
| S25 | - | / |

(+): Test positif. (-): Test négatif. (S): Souche isolée. (mm): millimètre.

Ce résultat permet de considérer ces souches comme productrices de protéases extracellulaires, ce qui représente un point très positif pour leur production et leur caractérisation.

Plusieurs recherches portant sur différentes souches d'actinobactéries ont révélé leur capacité à produire des protéases. Une étude menée par **Nandini et al., 2015** a observé la formation d'une zone de catalyse, indiquant ainsi la production de protéases par des actinobactéries isolées d'un territoire régional autour des fermes de volailles. Alors que, **Selvam et al., 2013** ont démontré que des souches d'actinobactéries isolées à partir d'échantillons de sol marin prélevés dans la région côtière du sud de l'Inde étaient capables de dégrader la caséine (présente dans la gélose au lait) ainsi que le soja (sous forme de farine), confirmant ainsi leur activité protéolytique. Selon **Ramasamy et al., 2016** la souche *Nocardiopsis sp.* a formé une zone de translucide autour de ces colonies indiquant son activité protéolytique.

D'autres études menées par **Kumar et al., 2012** et **Xu et al., 2009** ont montré la capacité de *Bacillus megatarium* isolées du sol prélevé de la zone d'élimination des déchets de volaille à produire des protéases.

V. Résultats d'activité Kératinolytique

En vue de tester l'activité kératinolytique, les 25 souches sont cultivées par touche sur milieu FBM solide qui est composé principalement de farine de plumes qui joue le rôle aussi bien de source de carbone que d'azote, qui se révèle être très important pour la croissance des souches à activité kératinolytique, les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant 10 jours. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **tableau N°12**.

Selon ces résultats affichés dans le tableau 12, on constate que :

Parmi les souches testées seul S5, S7, S12, S14, S16, S18, S19, S21 et S22 ont présentés un halo translucide autour de leurs colonies.

Les 9 souches présentent des halos translucide autours de leurs colonies, contrairement aux 16 souches (S1, S2, S3, S4, S6, S8, S10, S11, S13, S15, S17, S20, S23, S24, 25) qui ne présentent aucun halo ce qui indique l'absence de l'activité kératinolytique de ces souches.

Le diamètre des halos entourant les colonies des souches kératinolytique est proportionnel à la quantité de kératinase libérées par ces colonies et à la diffusion des enzymes secrétées dans le milieu pendant le temps d'incubation.

Les souches présentaient des zones d'hydrolyse d'un diamètre allant de **05 mm** à **33 mm**, tandis que les plus grandes zones ont été observées chez les deux souches S21 et S22

avec un diamètre de **33 mm** ; **3 mm** respectivement, où ce sont les souches les plus productrices de kératinase. .

Les plus petites zones ont été observées chez la souche S5 avec un diamètre de **05 mm** où c'est la souche la plus faible productrice de kératinase.

Tableau 12. Résultats d'activité kératinolytique des souches d'actinomycètes.

| Souche | L'activité Kératinolytique | Diamètre de l'halo en (mm) |
|--------|----------------------------|----------------------------|
| S1 | - | / |
| S2 | - | / |
| S3 | - | / |
| S4 | - | / |
| S5 | + | 05 |
| S6 | - | / |
| S7 | + | 17 |
| S8 | - | / |
| S9 | - | / |
| S10 | - | / |
| S11 | - | / |
| S12 | + | 10 |
| S13 | - | / |
| S14 | + | 10 |
| S15 | - | / |
| S16 | + | 09 |
| S17 | - | / |
| S18 | + | 10 |
| S19 | + | 09 |
| S20 | - | / |
| S21 | + | 33 |
| S22 | + | 30 |
| S23 | - | / |
| S24 | - | / |
| S25 | - | / |

(+): Test positif. (-): Test négatif. (S): Souche isolée. (mm): millimètre.

Les résultats obtenus montrent que **les neuf souches** (S5, S7, S12, S14, S16, S18, S19, S21, S22) peuvent dégrader facilement la farine de plumes ce qui prouve que les 9 souches sont actives sur ce substrat par sécrétion de kératinases. Nous pouvons conclure que les 9 souches ont la possibilité d'utiliser la farine de plumes comme seule source de carbone et d'azote, et par conséquent elles peuvent être considérées comme productrices d'enzymes de type kératinases.

Plusieurs études sur des souches d'actinobactéries ont rapporté la capacité de ces dernières à produire des kératinases. Des études menées par **Habbeche et al., 2014** ont montrés la capacité de trente-deux souches d'actinomycètes nouvellement isolées du compost de volaille algérienne à produire des kératinases par la formation des zones claires sur un milieu contenant de la kératine à pH 8,5. Alors que **Nandini et al., 2015** ont pu démontrés que l'isolat DNA38 isolé d'un territoire régional autour des fermes de volailles peuvent dégrader la kératine ce qui confirme son activité kératinolytique.

Selon **Omran, 2017** parmi les 22 isolats actinobactériens, seul 11 (50%) présentaient des activités kératinolytiques sur milieu gélosé à base de farine de plumes et étaient capables d'utiliser la plume comme source de carbone et d'azote.

Dans une étude menée par **Syed et al., 2009** ont pu démontrés que *Streptomyces gulbargensis* capable de produit des kératinases.

Parmi les 25 souches d'actinomycètes testées seulement 6 souches (S5, S7, S12, S16, S18, et S21) possèdent des activités protéolytiques et kératinolytiques à la fois. Cela peut signifier que les protéases qui possèdent ces souches sont des kératinases.

La capacité enzymatique de ces souches pourrait ouvrir de nouvelles opportunités prometteuses pour la valorisation des déchets organiques.

Conclusion

Les actinobactéries sont des microorganismes procaryotes de Gram positif. Ils sont considérés comme la source la plus puissante pour la production de métabolites secondaires, telles que les antibiotiques, les vitamines, les enzymes et les pigments. L'objectif principal de notre travail est basé sur l'isolement des actinomycètes à partir de trois milieux salins de Sebkhet El-Mahmel, dans la wilaya de Khenchela, et la mise en évidence de l'activité protéolytique et kératinolytique de ces souches.

Une étude d'isolement des actinomycètes en utilisant un milieu de culture ISP4 avec trois concentrations différentes de NaCl nous a permis d'obtenir 25 souches et d'observer une bonne croissance des actinomycètes à la concentration de 1 g/L de NaCl dans Chott Ouled Bouali-Lekhlefna. L'observation macroscopique montre que les colonies obtenues sont de petites, moyennes et grandes tailles, avec des formes variables (lisse, bombé, aplatie).

L'observation microscopique après coloration de Gram révèle que 99% des souches sont de Gram positif.

L'étude de l'activité protéolytique des 25 souches d'actinomycètes réalisée sur milieu GNL à 30°C pendant 10 jours a montré que dix-neuf souches présentent une activité protéolytique, c'est-à-dire qu'elles sont capables de dégrader la caséine du lait par sécrétion de protéases extracellulaires. La mise en évidence de l'activité kératinolytique sur milieu solide à base de farine de plume des 25 souches d'actinomycètes à 30°C pendant 10 jours a démontré que neuf souches peuvent dégrader la farine de plume, prouvant ainsi que ces souches sont actives sur ce substrat par sécrétion de kératinase.

En effet, en Algérie, les plumes sont produites en grande quantité par les industries de la volaille. L'accumulation de ces dernières sous forme de déchets a des conséquences sur l'environnement et la santé publique. Du point de vue application, nos souches productrices de kératinase pourraient faire l'objet d'un traitement biotechnologique de ces déchets pour obtenir des produits de valeurs ajoutées.

Les résultats de cette étude mettent en lumière le potentiel des actinomycètes isolés des milieux salins de Sebkhet El-Mahmel pour la production de protéases et de kératinases, des enzymes d'une grande importance industrielle et environnementale. Les 25 souches isolées, dont 99% sont de Gram positif, montrent une diversité morphologique et une capacité d'adaptation à des conditions salines, soulignant leur résilience et leur potentiel biotechnologique.

L'activité protéolytique démontrée par dix-neuf souches sur milieu GNL, ainsi que l'activité kératinolytique de neuf souches sur milieu à base de farine de plume, suggère que ces microorganismes peuvent jouer un rôle clé dans la valorisation des déchets organiques. En Algérie, où l'industrie avicole génère une quantité significative de déchets de plumes, l'application biotechnologique de ces souches pour le traitement de ces résidus présente une solution écologique et économique. Les enzymes produites pourraient être utilisées pour transformer ces déchets en produits de valeur ajoutée, tels que des acides aminés et des engrais, contribuant ainsi à une gestion plus durable des déchets.

En outre, l'utilisation de ces actinomycètes pour la dégradation des déchets de plumes pourrait réduire l'impact environnemental négatif associé à leur accumulation. La conversion des déchets de plumes en produits utiles non seulement résout un problème environnemental, mais offre également des opportunités économiques pour l'industrie biotechnologique en Algérie.

Les perspectives de recherche future pourraient inclure l'optimisation des conditions de culture pour maximiser la production enzymatique, ainsi que l'exploration des applications possibles des enzymes dans divers domaines industriels, tels que la fabrication de détergents, l'industrie alimentaire et la médecine. De plus, l'étude de la génétique de ces souches pourrait offrir des insights précieux sur les mécanismes de production d'enzymes et ouvrir la voie à des manipulations génétiques pour améliorer leur efficacité.

Cette étude souligne non seulement l'importance des actinobactéries en tant que ressources naturelles précieuses pour la production de métabolites secondaires, mais aussi leur potentiel à contribuer de manière significative à la biotechnologie environnementale et industrielle. Les actinomycètes de Sebket El-Mahmel, par leur capacité à produire des enzymes utiles, démontrent une fois de plus la richesse et la diversité de la biodiversité microbienne et son importance pour le développement durable.

*Références
Bibliographiques*

(A)

Addou A. N., Schumann P., Sproer C., Bouanane-Darenfed A., Amarouche-Yala S., Hacene H., Cayol J. L., Fardeau, M.-L., (2012). *Melghirimyces thermohalophilus* sp. nov., a thermoactinomycete isolated from an Algerian salt lake. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 63(5): 1717–1722.

Adegboye M. F., Babalola O.O., (2012). Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes. *African journal of agricultural research*, 7(15): 2255-2261.

Aliat T., Kaabeche M., (2013). Caractérisation phytoécologique de la zone humide Chott El Beida (Sétif, Algérie). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie*. 0(35) : 35-41.

Alliouch-Kerboua C., (2017). Isolement et identification d'Actinomycètes productrices de molécules antimicrobiennes et bioactives des eaux salées (cas du lac Mellah). Thèse de Doctorat. Univ. Annaba.

Anandan R., Dharumadurai D., Manogaran G.P., (2016). An Introduction to Actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. pp. 3-37.

(B)

Barka E. A., Vatsa P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard, C., Klenk H.-P., van Wezel G. P., (2015). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 80(1) : 1–43.

Benhadj M., Gacemi-Kirane D., Menasria T., Guebla K., Ahmane Z., (2019). Screening of rare actinomycetes isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities. *Journal of King Saud University - Science*. 31 (4): 706-712.

Bhatti A. A., Haq S., et Bhat R. A., (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis*. 111: 458–467.

Bouakkaz A., (2017). Ecologie du peuplement avien de la sebkha De Ouled Amara (El-Mahmel, wilaya de Khenchela). Thèse de doctorat. Univ. Annaba.

Boualla N., Benziane A., Kacem M., (2014). An assessment of the physico-chemical parameters of Oran sebkha basin. *Applied Water Science*. 4(4): 351–356.

Bouali H., Hamza K., Bouras., Aouiche A., Meklat A., Mokrane S., Hamza K. et Sabaou N., (2017). Effet de milieux de culture sur la croissance et la production de chloramphenicol chez deux souches De *saccharothrix sp.* Pal 54 et pal 42 isolées d'un sol de la Palmeraie de ghardaïa. Algerian journal of arid environment. 7(1) : 71-83.

Bouaziz S., (2018). Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives. Thèse de doctorat. Univ. Ouargla.

Boughachiche F., Reghioua S., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A., Boulahrouf A., (2005). Isolement d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de la Sebkhha de Ain Mlila. Sciences and Technologie. 0 (23): 5-10.

Bouras H., Mahdi R., (2020). Etude des approches génomiques dans l'estimation du pouvoir métabolique des actinomycètes. Mémoire de Master. Univ. Tébessa.

Bousnina H. et Ghedeir A.S., (2020). Synthèse bibliographique sur la recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes de la région de Ouargla. Mémoire de Master. Univ. Ouargla.

(C)

Chairi R., (2005), Contributions organiques naturelles et anthropiques dans un environnement évaporitique de la Tunisie orientale sebkhha de Moknine. Journal de l'Eau et de l'Environnement. 4(6) : 42-55.

Choulet F., Aigle B., Gallois A., Mangenot, S., Gerbaud C., Truong C., Francou F.-X., Fourier C., Guérineau M., Decaris B., (2006). Evolution of the terminal regions of the *Streptomyces* linear chromosome. Molecular Biology and Evolution. 23: 2361–2369.

(D)

Duraipandiyan V., Sasi A. H., Islam V. I. H., Valanarasu M., Ignacimuthu S, (2010). Antimicrobial properties of actinomycetes from the soil of Himalaya. Journal de Mycologie Médicale. 20(1): 15–20.

(E)

Ensign J. C., Normand P., Burden J. P. et Yallop C. A., (1993). Physiology of some actinomycete genera. Research in Microbiology. 144(8): 657–660.

(F)

Flårdh K., (2010). Cell polarity and the control of apical growth in *Streptomyces*. *Current Opinion in Microbiology*. 13(6): 758–765.

(G)

Galal S.S., Saleh H. B., Ali A. A., (2023). Isolation, Examination and Characterization of Actinomycetes as a Source of Antimicrobial Agents from Libyan Soil. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 14(6): 322-336.

Gao B., et Gupta R. S., (2012). Phylogenetic Framework and Molecular Signatures for the Main Clades of the Phylum Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 76 (1): 66–112.

George M., George G., Hatha, A. A. M., (2010). Diversity and antibacterial activity of actinomycetes from wetland soil. *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences*, 28(1): 52-57.

Goodfellow M., Williams S. T., (1983). Ecology of Actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 37(1), 189–216.

(H)

Habbeche A., (2014). Purification et caractérisation d'une kératinase thermostable KERAK-29 chez une nouvelle souche d'Actinomycète. Thèse de doctorat. Univ. Annaba.

Habbeche A., Saoudi B., Jaouadi B., Haberra S., Kerouaz B., Boudelaa M., Badis A., Ladjama A., (2014). Purification and biochemical characterization of a detergent-stable keratinase from a newly thermophilic actinomycete *Actinomadura keratinilytica* strain *Cpt29* isolated from poultry compost. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 117(4), 413–421.

Hafhouf I., (2022). Étude de l'endommagement des sols salés soumis à des sollicitations d'humidification Séchage (température- humidité). Thèse de doctorat. Univ. Batna.

Hedi A., Essghaier B., Cayol J. L., Fardeau M. L., Sadfi N., (2014). Prokaryotic biodiversity of halophilic microorganisms isolated from Sehline Sebkhia Salt Lake (Tunisia). *African Journal of Microbiology Research*. 8(4), 355–367.

Holmberg K., et Nord C.E., (1984). 14 Application of Numerical Taxonomy to the Classification and Identification of Microaerophilic Actinomycetes. *Methods in microbiology*. 6: 341-360.

(I)

Ibrahimi M., (2021). Extraction et caractérisation de nouveaux antibactériens produits par les actinobactéries prédatrices d'origine marine. Thèse de doctorat. Univ. Poitiers

(J)

Jagannathan S. V., Manemann E. M., Rowe S. E., Callender M. C., et Soto W., (2021). Marine Actinomycetes, New Sources of Biotechnological Products. *Marine Drugs*. 19(7):365.

Jakubiec-Krzesniak K., Rajnisz-Mateusiak A., Guspiel A., Ziemska J., Solecka J., (2018). Secondary Metabolites of Actinomycetes and their Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties. *Pol J Microbiol*. 67(3):259-272. doi: 10.21307/pjm-2018-048.

(K)

Kosseir B., Bouldoum A., Hadjersi S., (2019). Isolement et sélection des souches d'actinomycètes Productrice d'antibiotiques. Mémoire de Master. Univ. Medea.

Kpoda D. S., Tapsoba F., Cisse H., Ouedraogo S., Traore R., Traore I., Soubeiga A. P., Nikiema M., Hien Y. E., Zongo C., Savadogo A., (2024). Isolement d'actinomycètes productrices de substances antimicrobiennes à partir de sols prélevés dans la ville de Ouagadougou, Burkina Faso. *International Journal of biological and chemical sciences*. 18(1): 206-223.

Kumer P., Faiz Kazi Y., Soomro I. H., (2012). A comparative characterization of indigenous keratinase enzymes from district Khairpur, Sindh, Pakistan. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 25(1): 73-79.

(L)

Lalam H. et kenzai S., (2022). Isolement et caractérisation de la flore microbienne de deux échantillons du sol : rhizosphérique et non rhizosphérique. Mémoire de Master. Univ. Oum El Bouaghi.

Lazouni f. et ferhaoui W. S., (2022). Isolement et Sélection des Souches d'Actinomycètes d'Origine Marine Productrices d'Antibiotiques. Mémoire de Master. Univ. Medea.

Lee J. Y., Hwang B. K., (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Canadian Journal of Microbiology*. 48(5): 407–417.

Lechevalier M.P. et Lechevalier H., (1970). Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *International journal of systematic bacteriology*. 20: 435-443.

Lechevalier M. P., De Bievre C., et Lechevalier H., (1977). Chemotaxonomy of aerobic Actinomycetes: Phospholipid composition. *Biochemical Systematics and Ecology*. 5(4): 249–260.

Lewin G. R., Carlos C., Chevrette M. G., Horn H. A., Mc Donald B. R., Stankey R. J., Fox B.G., Currie C. R., (2016). Evolution and Ecology of Actinobacteria and Their Bioenergy Applications. *Annual Review of Microbiology*.70 (1): 235–254.

Lindholm P., Kortemaa H., Kokkola M., Haahtela K., Salkinoja-Salonen M. et Valkonen J. P. T., (1997). Streptomyces spp. Isolated from Potato Scab Lesions Under Nordic Conditions in Finland. *Plant Disease*. 81(11):1317–1322.

(M)

Masayuki H., Ishizawa K., Nonomura H., (1988). Distribution of Rare Actinomycetes in Japanese Soils. 66(4): 367-373.

Menasria T., (2020). Biodiversité microbienne dans les milieux extrêmes salés du Nord-Est Algérien. Thèse de doctorat. Univ. Batna.

Miguélez E. M., Hardisson C. et 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. *The Journal of Cell Biology*. 145(3): 515–525.

Mordarska H., mordarski M. et Goodfellow M., (1972). Chemotaxonomic Characters and Classification of Some Nocardioform Bacteria. *Journal of General Microbiology*. 71(1): 77–86.

(N)

Nandini A., Madhusudhan D.N., Agsar D., (2015). Detection of Keratinolytic Actinobacteria and evaluation of Bioprocess for Production of Alkaline Keratinase. *International journal of current microbiology and applied sciences*. 4(7): 907-918.

(O)

Omran R., (2017). Production of keratinases from *Nocardiopsis sp.* 28RoR as a novel iraqi strain. Asian Journal of pharmaceutical and clinical research. 20(4): 160-168.

Oskay M., Üsame Tamer A. et Azeri C., (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. African Journal of Biotechnology. Vol. 3(9): 441-446.

Ouazene F., Ouazene N., (2018). Etude de l'activité antibactérienne de quelques isolats d'actinomycètes isolés du sol. Mémoire de Master. Univ. Miliana.

(P)

Parra G., Beaton A., Seipke R. F., Wilkinson B., Hutchings M. et Duncan K.R., (2023). Antibiotics from rare actinomycetes, beyond the genus *Streptomyces*. Current Opinion in Microbiology.76:102385.

(R)

Rahdar H. A., Mahmoudi S., Bahador A., Ghiasvand F., Heravi F.S., Feizabadi M.M., (2021). Molecular identification and antibiotic resistance pattern of actinomycetes isolates among immunocompromised patients in Iran, emerging of new infections. Scientific Reports. 11:10745.

Ramasamy T., Subhasish S., Dharumadurai D., Thajuddin N., (2016). Preliminary screening of Ni(II) metal tolerance and dye-decolorizing by *Nocardiopsis sp.* SD8. Journal of Coastal Life Medicine. 4(4): 295-298.

Rodriguez-Valera F., Ventosa A., Juez G., Imhoff J.F., (1985). Variation of Environmental Features and Microbial Populations with Salt Concentrations in a Multi-Pond Saltern. Microbial ecology. 11 (2): 107-15.

(S)

Saheb M. (2003). Cartographie de la végétation des sebkhas de Guellif et de Boucif (Oum-El- Bouaghi) et écologie de l'avifaune aquatique. Thèse de Magister, C.U. Oum El-Bouaghi. 125p

Saker R., (2015). Recherche de nouveaux taxons d'actinobactéries halophiles des sols sahariens et potentialités antagonistes. Thèse de Doctorat. Univ. Sétif.

Sedrati A., Houha B., Romanescu G., Chenaker H., (2017). Determination of the contamination level in groundwater in the sebkha of elmahmel area, north eastern of Algeria. Air and Water Components of the Environment Conference. 367-375.

Selim M. S. M., Abdelhamid S. A., Mohamed S. S, (2021). Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 19(1).

Selvam K., Vishnupriya B., Yamuna M., (2013). Isolation and description of keratinase producing marine actinobacteria from South Indian Coastal Region. African Journal of Biotechnology, 12(1), 19–26.

Sharma M., Dangi P. et Choudhary M., (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 3(2): 801-832.

Smati et Kitouni, (2019). Diversity of actinobacteria in the marshes of Ezzemoul and Djendli in northeastern Algeria. European Journal of Ecology. 5(2): 41-53.

Suela Silva M., Naves Sales A., Teixeira Magalhães-Guedes K., Ribeiro Dias D., et Schwan R. F., (2013). Brazilian Cerrado Soil Actinobacteria Ecology. BioMed Research International. 2013: 1–10.

Suzuki K., Nagai K., Shimizu Y. et Suzuki Y., (1994). Search for Actinomycetes in Screening for New Bioactive Compounds. Actinomycetologica. 8: 122-127.

Syed D. G., Lee J. C., Li W.-J., Kim C.-J., Agasar, D., (2009). Production, characterization and application of keratinase from *Streptomyces gulbargensis*. Bioresource Technology, 100(5), 1868–1871.

(T)

Trabelsi I., Oves D., Gutierrez Magan B., (2016). Isolation, Characterization and Antimicrobial Activities of Actinomycetes Isolated from a Tunisian Saline Wetland. Journal of Microbial & Biochemical Technology. 8(6): 465-473.

Trujillo M. E., (2016). Actinobacteria. eLS. 1–16.

Thompson CJ Fink, D. et Nguyen, (2002). Biologie du génome. 3(7).

(U)

Ul Hassan S.S., Anjum K., Abbas S. Q., Akhter N., Shagufta B. I., Shah S. A. A., et Tasneem U. (2017). Emerging biopharmaceuticals from marine actinobacteria. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 49: 34–47.

(V)

Ventura M., Canchaya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G.F., Chater K.F. et Sinderen D.V., (2007). Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 71(3): 495–548.

(X)

Xu B., Zhong Q., Tang X., Yang Y., Huang Z., (2009). Isolation and characterization of a new keratinolytic bacterium that exhibits significant feather-degrading capability. *African Journal of Biotechnology*. 8 (18): 4590-4596.

Liste des sites

https://www.researchgate.net/figure/Figure1-Morphologie-des-hyphes-en-croissance-dans-le-milieu-liquide-Almaris-2007_fig1_3039753

Annexes

Annexe 1. Composition de milieu de culture

a- Milieu d'International Streptomyces Project (ISP4)

| | |
|---|----------------|
| - Amidon..... | 10 g. |
| - K ₂ HPO ₄ | 1 g |
| - Mg SO ₄ (7H ₂ O)..... | 1 g. |
| - Na Cl..... | 1 g. |
| - (NH ₄) ₂ SO ₄ | 2 g. |
| - Ca CO ₃ | 2 g. |
| - Oligo élément | 1ml |
| - Agar : | 20 g. |
| - Eau distillée..... | Q.s.p. 1000 ml |
| - PH | 7,2 |

L'autoclavage est effectué à 121°C pendant 15 min.

✓ **Solution d'Oligo élément**

| | |
|--|-------|
| - Fe SO ₄ 7H ₂ O | 0,1g |
| - Mn Cl ₂ 4H ₂ O | 0,1g |
| - Zn SO ₄ 7H ₂ O..... | 0,1g |
| - Eau distillée..... | 100ml |

✓ **Eau physiologique**

| | |
|-----------------------------------|---------|
| - Chlorure de sodium | 9 g |
| - H ₂ O distillée..... | 1000 ml |

b- Milieu de Gélose Nutritive au Lait (GNL)

| | |
|--------------------------|----|
| - Peptone..... | 5g |
| - Extrait de levure..... | 3g |

- Eau distillée..... 750ml
- Lait écrémé stérile 250ml
- Agar..... 15g
- pH.....10

L'autoclavage est effectué à 121°C pendant 15min.

c- Milieu solide à Base de Farine de plumes (FBM)

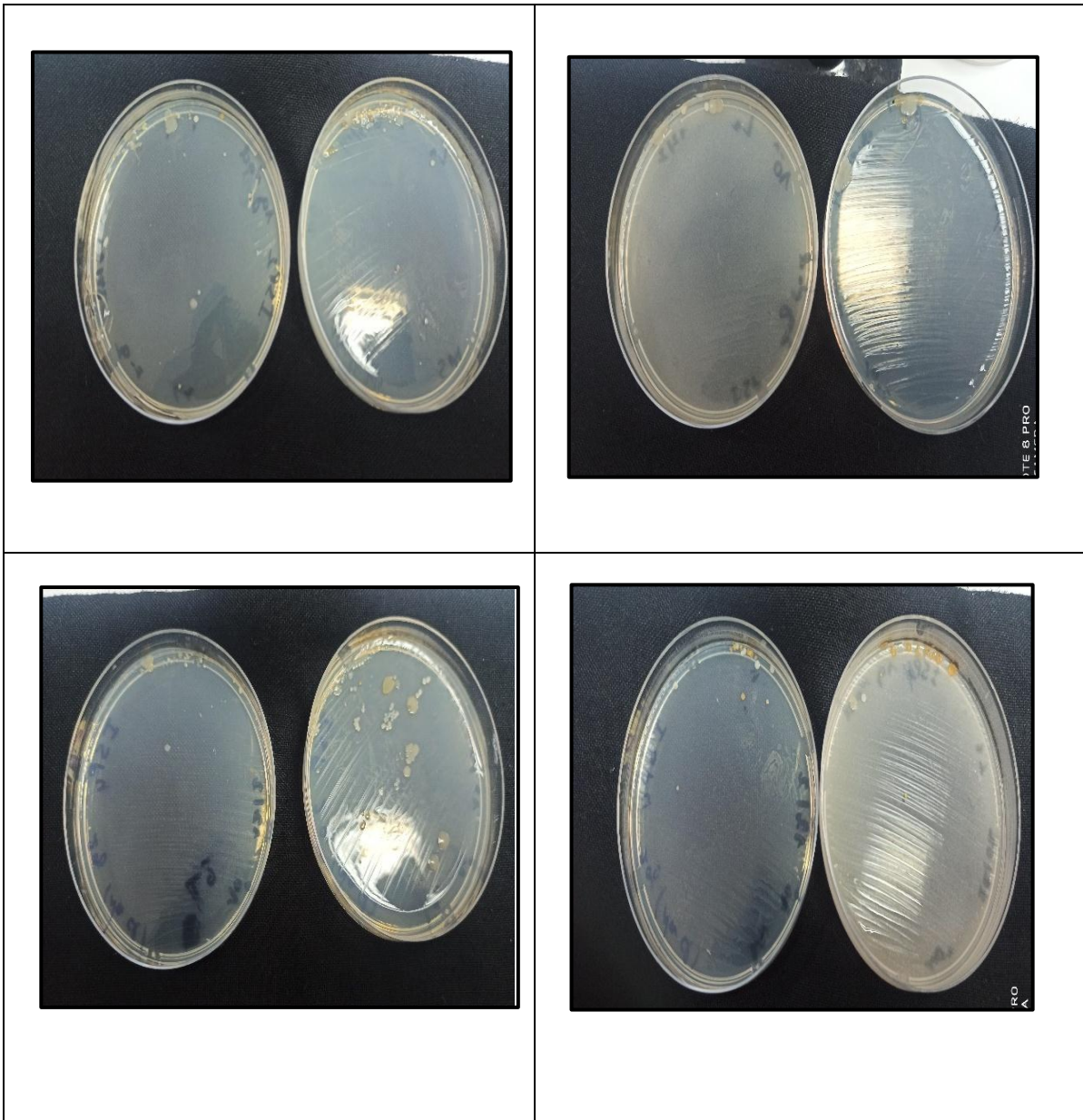
- Farine de plume 20g
- K₂ HPO₄1g
- Mg SO₄ (7H₂O)0.5g
- CaCO₃3g
- Fe SO₄ (7H₂O)..... 0.01g
- Na Cl..... 0.5g
- Solution des éléments en trace.....1ml
- Agar.....20g
- Eau distillée.....1000ml
- pH.....7.2

L'autoclavage est effectué à 121°C pendant 15 min.

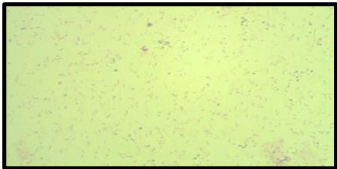
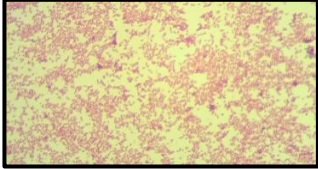
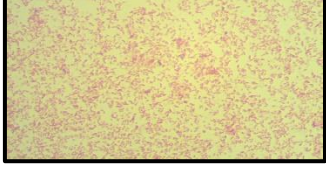
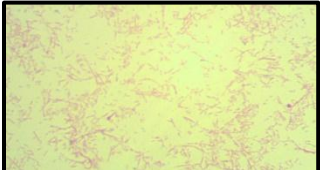
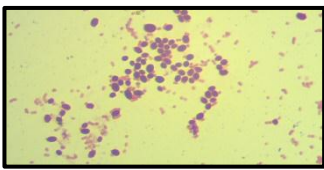
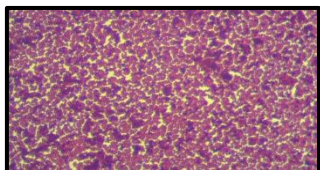
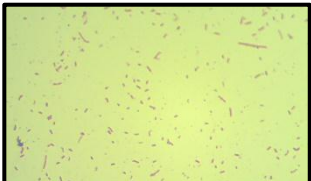
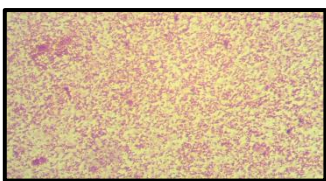
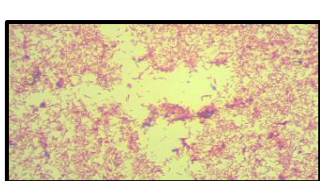

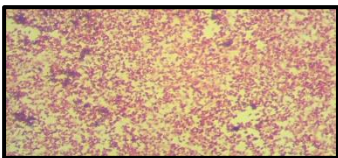
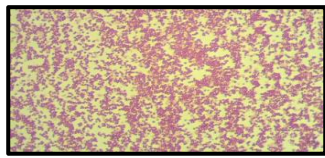
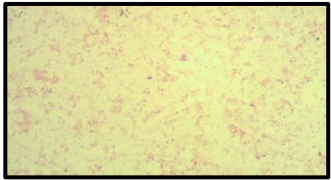

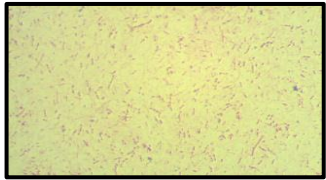
Annexe 2. Classe de salinité en fonction de la conductivité électrique de l'extrait aqueux à 25°C (Aubert, 1978).

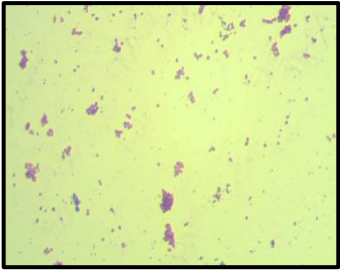
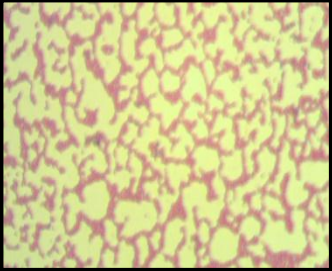
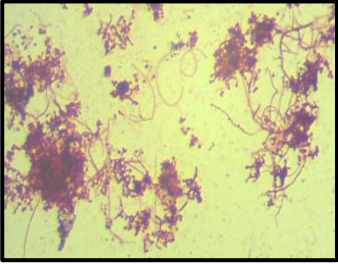
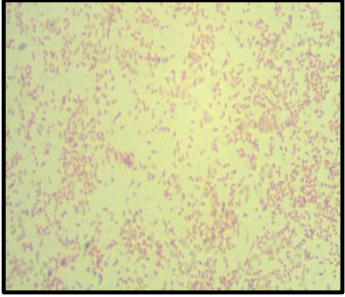
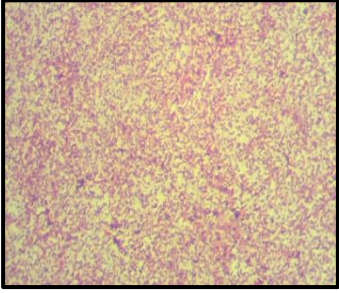
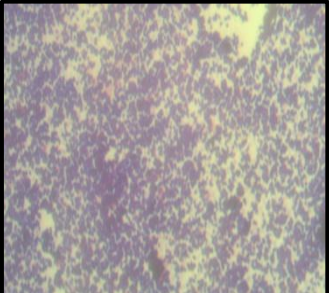
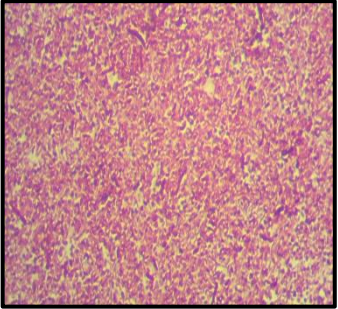
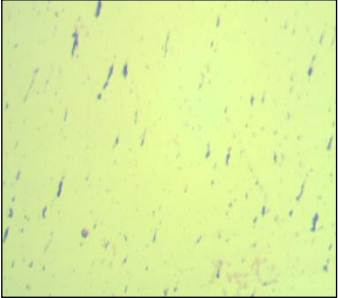
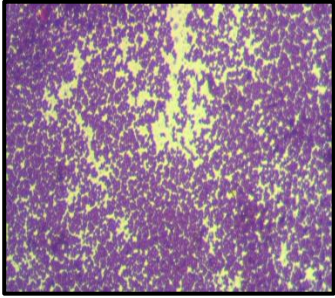
| CE ds /m à 25°C | Degrés de salinité |
|------------------------|---------------------------|
| CE<0,6 | Sol non salé |
| 0,6<CE<1,2 | Sol peu salés |
| 1,2<CE<2,4 | Sol salés |
| 2,4<CE<6 | Sol très salé |
| CE plus de 6 | Sols extrêmement salé |

Annexe 3. L'aspect macroscopique des souches d'actinomycètes isolées sur milieu ISP4.


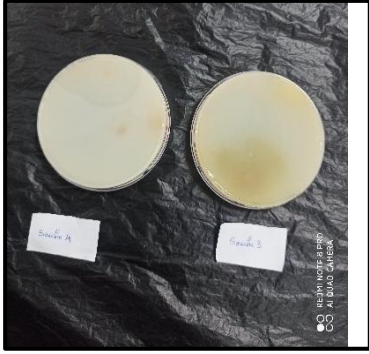


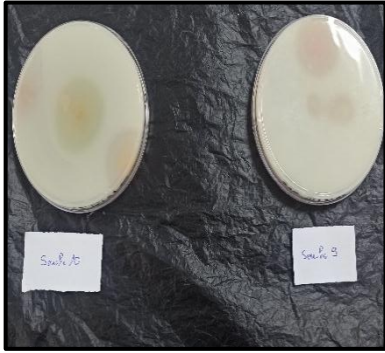

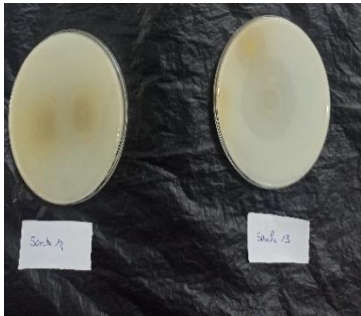




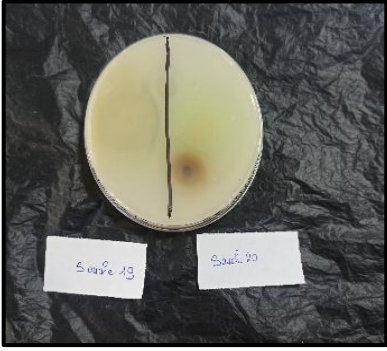
Annexe 4. L'aspect microscopique des souches d'actinomycètes après coloration de Gram (G×100).

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Souche 1 | Souche 2 | Souche 3 |
|  |  |  |
| Souche 4 | Souche 5 | Souche 6 |
|  |  |  |
| Souche 7 | Souche 8 | Souche 9 |
|  |  |  |
| Souche 10 | Souche 11 | Souche 12 |
|  |  |  |
| Souche 13 | Souche 14 | Souche 15 |

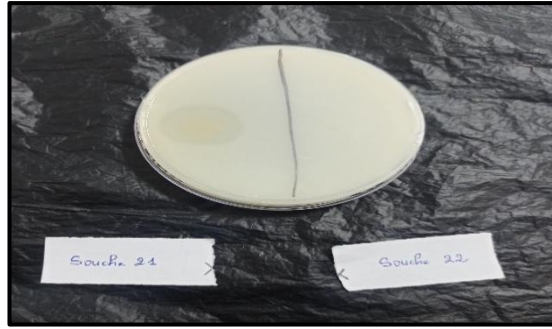
| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Souche 16 | Souche 17 | Souche 18 |
|  |  |  |
| Souche 19 | Souche 20 | Souche 21 |
|  |  |  |
| Souche 22 | Souche 23 | Souche 24 |

Annexe 5. Les résultats de l'activité protéolytique.

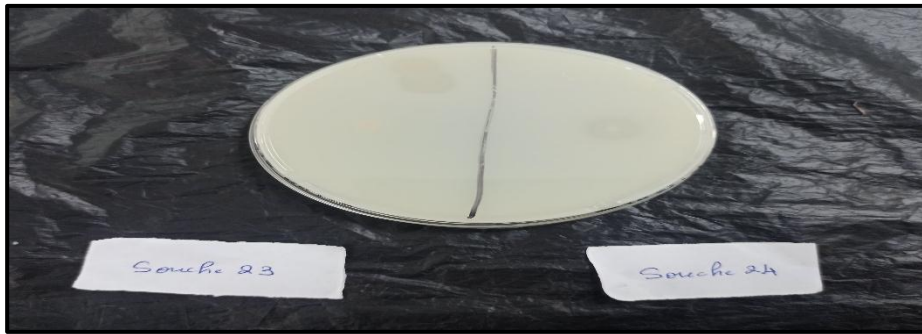
| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Souche 1 et Souche 2 | Souche 3 et Souche 4 | Souche 5 et Souche 6 |
|  |  |  |
| Souche 7 et Souche 8 | Souche 9 et Souche 10 | Souche 11 et Souche 12 |
|  |  |  |
| Souche 13 et Souche 14 | Souche 15 et Souche 16 | Souche 17 et Souche 18 |



Souche 19 et Souche 20

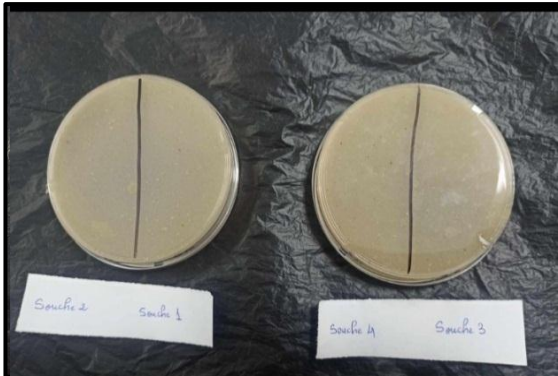


Souche 21 et Souche 22



Souche 23 et Souche 24

Annexe 6. Les résultats de l'activité Kératinolytique.



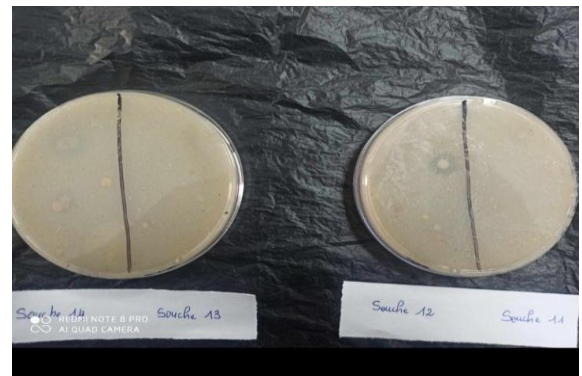
Souche 1, Souche 2, Souche 3 et Souche 4



Souche 5, Souche 6, Souche 7 et Souche 8



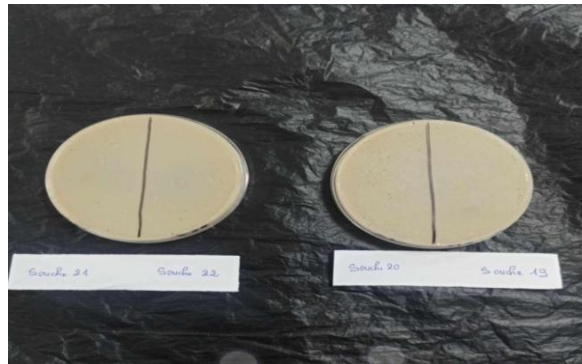
Souche 9, Souche 10



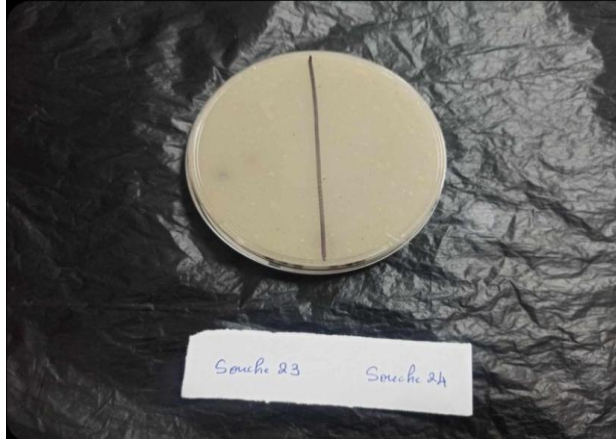
Souche 11, Souche 12, Souche 13 et Souche 14



Souche 15, Souche 16, Souche 17 et Souche 18



Souche 19, Souche 20, Souche 21 et Souche 22



Souche 23 et Souche 24

الأطروحة : عزل الاكتينومييسات المنتجة للمواد الحيوية النشطة من النظم البيئية المالحة في منطقة خنشلة

الإسم و اللقب : صبرينة مكرسي وهاجر بلعيدي

المؤطر : د. خدومة اسماء

ملخص :

الهدف من هذا العمل هو عزل سلالات من الاكتينومييسات المنتجة للبروتياز والكيراتيناز من ثلاثة أوساط مالحة من سيخة المحمل (شط لخلافنة، شط أولاد عمارة و شط أولاد مبارك) بولاية خنشلة. تم زرع هذه العينات على وسط ISP4 يحتوي على ثلاثة تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم. تم عزل 25 سلالة اجمالاً وقد أظهرت النتائج نموًا جيدًا لهذه السلالات على الوسط ISP4 مضاف إليه 1 غ/لتر من كلوريد الصوديوم في شط لخلفنة.

كشفت الملاحظة المجهرية بعد التلوين بصبغة جرام أن 99% من السلالات تظهر تلوينًا إيجابيًا بصبغة جرام. أظهر نشاط التحليل البروتيني لـ 25 سلالة من الاكتينومييسات في وسط مغذي بالحليب أن 19 سلالة قادرة على تحليل كازين الحليب وبالتالي يمكن اعتبارها منتجة لإنزيمات من نوع البروتياز.

أظهرت دراسة نشاط التحليل الكيراتيني للسلالات الخمسة وعشرون في وسط صلب أساسه دقيق الريش أن تسع سلالات يمكنها بسهولة تحليل دقيق الريش، مما يثبت أنها نشطة على هذا الركيزة من خلال إفراز الكيراتيناز.

إن قدرة البكتيريا الخيطية المعزولة على إنتاج الكيراتيناز باستخدام الريش كركيزة يمكن أن تفتح فرصًا جديدة لإعادة تدوير النفايات المحتوية على الكيراتين والحد من تأثيرها على البيئة.

الكلمات المفتاحية : الاكتينومييسات، البروتياز، الكيراتيناز، وسط مالح، دقيق الريش

Thesis: Isolation of Actinomycetes Producing Bioactive Substances from Saline ecosystems in the Khenchela Region

First name and Name: Sabrina MEKERSI and Hadjer BELAIDI

Directed by: Dr. KHEDDOUMA Asma

Abstract:

The main objective of this work is to isolate actinomycetes strains producing protease and keratinase from three saline environments in Sebkheth El-Mahmel (Chott Lekhlefn; Chott Ouled Amara; and Chott Ouled M'barek), Wilaya of Khenchela. These collected samples were inoculated on ISP4 medium with three different NaCl concentrations. A total of 25 strains were isolated. The results show good growth of these microorganisms on ISP4 medium supplemented with 1 g/l of NaCl from Chott Lekhlefn.

Microscopic observation after Gram staining revealed that 99% of the strains were Gram-positive.

Assessment of proteolytic activity on solid milk nutrient agar medium indicated that nineteen of the 25 actinomycete strains could hydrolyze milk casein, identifying them as protease producers.

The study of keratinolytic activity on feather meal of the 25 strains shows that nine strains can easily degrade feather meal, which proves that these strains are active on this substrate by secreting keratinases.

The ability of the isolated actinomycetes to produce keratinase using feather as a substrate could open new promising opportunities for the valorization of keratin-containing wastes and reduction of its impacts on the environment.

Key words: Actinomycetes, protease, keratinase, saline medium, feather meal.