RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTER DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ YAHIA FARES MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE SCIENCE DE LA NATURE ET DE VIE

MÉMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Spécialité : ***Microbiologie Appliquée***

THEME

Isolement et sélection des souches d'actinomycètes productrices d'antibiotique

Présentée par :

-Melle : MENAD AFFAF -Melle : HAMIDI IKRAM -Melle : AIDANI BOUCHRA

Devant le jury :

Meme : BOUZIDI Amel	MCA	Université Médéa	Présidente
Meme : HAMZA Imane	MCB	Université Médéa	Examinatrice
Meme : ZERGOUG Amina	MCA	Université Médéa	Promotrice

Année Universitaire 2022 / 2023

REMERCIEMENTS

Louange à Allah, Seigneur des mondes, Maître de toute gloire et de toute grâce.

Je te rends grâce et te loue, Ô Allah, pour avoir rendu possible l'accomplissement de ce projet. Tu es Celui qui guide vers le succès. Rien n'est impossible à Ta volonté ni hors de Ta portée.

A l'heure où je mène à terme ce long parcours d'études, je tiens à exprimer ma vive reconnaissance à tous ceux qui ont enrichi et embelli ce chapitre de ma vie.

En premier lieu, Nos remercie notre directrice de recherche, **Dr ZERGOUG AMINA**, pour sa confiance, son soutien sans failles et ses conseils avisés. Grâce à son encadrement, nous avons pu mener à bien ce projet, et aujourd'hui nous sommes extrêmement fiers. Son expertise et sa bienveillance nos ont été essentielles. Votre enseignement nous a laissé une impression durable et nous sommes reconnaissants pour tout ce que vous avez fait pour nous.

Nos remercient chaleureusement les membres du jury **Mme BOUZIDI Amel** MCA à l'université YAHIA FARES MEDEA en étant présidente du jury et **Mme HAMZA Imane** MCB à l'université YAHIA FARES MEDEA, d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Leurs commentaires pertinents ont permis d'en enrichir la qualité.

Nous sommes profondément reconnaissant à l'ensemble des professeurs qui ont façonné nos esprits et nourri nos réflexions au cours de ces années d'études.

Un immense merci à nos chers amis, présents à chaque étape, pour leur soutien indéfectible et leurs précieux conseils. Nos échanges ont jalonné et embelli ce parcours.

Ce projet est le reflet de toutes les personnes qui nos ont accompagné et soutenu, et nous le leur dédions.

Merci d'avoir rendu ce rêve possible en enrichissant chaque étape de nos formations. Nous vous en serons éternellement reconnaissants.

Dédicace

Louange à Dieu, Seigneur de l'univers. Ô Mon Dieu, je Te rends grâce pour m'avoir aidé à accomplir ce projet de fin d'études. Pardonne, ô Mon Seigneur, mes imperfections et mes erreurs tout au long de ce travail, et guide-moi toujours vers ce que Te plaît.

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont inspiré et soutenu tout au long de ce parcours:

- *À moi-même, J'ai appris à me faire confiance et à repousser mes limites. Alors cette réussite, je me la dédie.*
- *À mes chers parents bien-aimés, je vous dédie ce projet avec l'amour que j'ai pour vous.*
- *Maman, tu es la première personne qui m'a apprise ce qu'est l'amour inconditionnel. Tu as toujours cru en moi. Ta douceur, ta bienveillance et ton écoute attentive m'ont accompagné tout au long de ce parcours. Derrière chaque ligne de ce travail, il y a ton amour, ta présence rassurante et tes encouragements qui m'ont porté jusqu'ici.*
- *A mon père ABDEL-KADER, Tu m'as appris la discipline et le sens du devoir. Tu as toujours été présent pour me guider de tes conseilles avises et m'encourager dans les moments difficiles. Tu as bâti ma confiance en moi, grâce à tes valeurs que tu m'aves inculquées et ton amour inconditionnel j'ai trouvé la motivation pour réaliser ce travail.*

Ames parents, votre confiance en moi, votre écoute patiente et votre soutien inconditionnel m'ont toujours aidé à avancer, même dans les moments de doute.

Alors que je m'apprête à vivre ma vie, je sais que je pourrai toujours compter sur votre amour et vos enseignements précieux.

Pour toutes ces raisons et d'autres encore, est avec tout amour, gratitude et reconnaissance je dédie ce projet a vous mes parents bien-aimés. Merci pour tout, du fond du cœur.

- *Ma chère sœur bien-aimée, Tu as toujours été à mes côtés, et partagé mes joies et mes peines, tu as toujours cru en moi. Ta bonne humeur, ton optimisme m'ont permis de garder ma morale, tu as su me redonner confiance en moi avec tes paroles d'encouragement. Merci d'être ma sœur.*
- *Je dédie ce projet avec amour et gratitude, tu es quelqu'un précieux dans ma vie, un de celle qui ont inspiré mes journées.*

Ton écoute et gentillesse envers moi m'ont apporté motivation pour avancer. A chaque fois, tu as su trouver les mots pour m'encourager.

- *A mon neveu AOUS ABDEL-ELAH, mon amour tante c'est en pensant à ton beau sourire et à ton innocence que j'ai trouvé la motivation pour mener ce travail. Merci de m'apporter tant joie.*
- *A beau-frère Khaled merci d'avoir rendu le sourire à ma sœur et merci pour ton encouragement*
- *À ma famille et surtout ma grand-mère et aussi à mon grand-père, mes chers grands-parents vous représentez les racines et la force pour moi et de notre famille.*
- *Je dédie aussi mes amies Mahdjoba Nour El houda , Yasmin , Sabah, Ikram, Minyara, Wafaa, Ahlem, Zineb, Raihana, et Linda, vous qui avez été à mes côtés tout au long de ces années d'étude, merci pour l'encouragement.*
- *A mon trinôme Ikram et Bouchra, merci pour les bons moments qui nous avons passés dans laboratoire.*
- *A ma promotrice Dr ZERGOUG Amina je vous dédie ce travail en témoignage de mon respect, que vous avez rendu possible par votre soutien et vos conseils. Je vous remercie infiniment.*
- *En fin pour moi-même, je te dédie ce travail, je suis fière de toi et je crois en toi.*

AFFAF

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

Je dédie ce modeste travail A ALLAH le tout puissant le miséricordieux et sa bénédiction.

A mes chers parents qui ont été toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études .en signe de reconnaissance qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude pour tout ce qu'ils ont consenti d'efforts et de moyens pour me voir réussir dans mes études .merci

A mon compagnon de vie Karim des moments d'adversité et son soutien continu pour exceller dans cette réussite. Je vous adresse mes remerciements et ma gratitude .merci mon mari.

A mes sœurs : Moufida et Rihab et ma petite filles Raounak pour son encouragement et son soutien moral .

A mes cousines Hadil ; Chaima ;Aymen et Malak et Kaouther

A tous la famille surtout ma tante fatma et Dalila et tata Rania je vous remercié de me faire confiance .

A mon binôme Affaf et Ikram

A mes amis Zineb, Raihana et Linda.

Et mon remerciement a madame zergoug Amina c'est mon modèle dans l'éducation de future.

BOUCHRA

Dédicace

Tout d'abord ;je remercie dieu tout -puissant de m'avoir permis de réaliser ce travaille.

J'ai consacré ce précieux travail à mes chers parents sont mon bonheur son La raison de ma force et du soutien qui m'a aidé sur cette route difficile.

Que Dieu les protège et leur donne longue vie pleine de santé ; et qu'ils trouvent ici la Preuve de ma reconnaissance infinie et d'un profond amour et respect.

.A mon chère frère Yacine d'être toujours à mes côtés pour me soutenir et surtout

Pour me donner la force pour surmonter tous les obstacles et les difficultés.

.à mes petits frères Wissam ;Samah ;et Youcef la raison de ma joie et de mon bonheur.

Que dieu les protégés ; les soutienne et leur apporte le bonheur.

. A toutes ma famille mes chers oncles et tantes .

. A mon trinôme Affaf et Bouchra pour ses patiences et sont aidé et compréhensions tout de longe à ce projet.

*A ma promotrice **M. ZERGOUG AMINA** , je vous remercie pour votre soutien, pour être patient avec nous dans les moments difficiles et pour les conseils et le soutien que vous nous avez donnés dans les moments de faiblesse.*

.A mon amis Sabah et tous mes amis avec qui nous avons travaillé avec eux tout au long de cette période : Zineb ; Rayhan Linda ;Zahra ;Wafa ; Ahlam ;et tous les amis de mon promo 2023 en microbiologie et les autres spécialités.

Ikram

Résumé

Une étude approfondie a été menée afin d'explorer la diversité microbienne et ce de 4 régions distinctes de la région centre d'Algérie (wilaya de Alger) à travers l'analyse du sol marin. Un prélèvement sélectif a été employé pour l'isolement des actinomycètes, des bactéries qui sont connues pour leur rôle important dans la production de métabolites bioactifs. Nous avons obtenu un total de 233 isolats d'actinomycètes que nous avons soumis à des traitements physiques (chaleur) et chimiques (ajout de CaCO3) pour améliorer leur qualité. Nous avons ensuite entrepris des tests physiologiques et biochimiques approfondis pour étudier les capacités métaboliques des actinomycètes, en particulier leur aptitude à dégrader différents substrats tels que l'amidon et la caséine métaux lourd.

Grâce à l'utilisation des inocula des différents isolats, nous avons produit quatre extraits, et avons évalué leur activité antibactérienne contre plusieurs souches pathogènes courantes, notamment *E. coli, S. aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis et Candida albicans.*

Les quatre extraits obtenus à partir des isolats des actinomycètes ont présenté une activité antimicrobienne plus ou moins importante contre les germes-testés utiliser.

Dans l'ensemble, cette étude a permis de mieux comprendre la diversité microbienne des sols marins de la wilaya de Alger, et a mis en évidence le potentiel des actinomycètes isolés pour la production de métabolites bioactifs ayant des propriétés antibactériennes. Ces résultats pourraient avoir des implications importantes dans la recherche de nouveaux antibiotiques naturels pour lutter contre les infections bactériennes résistantes aux médicaments.

Mots clé : actinomycètes marin, activité antimicrobienne, molécules bioactives.

Abstract

An in-depth study was conducted to explore the microbial diversity of 4 distinct regions of the central region of Algeria (wilaya of Algiers) through the analysis of the marine soil. Selective sampling was used for the isolation of actinomycetes, bacteria that are known for their important role in the production of bioactive metabolites. We obtained a total of 233 isolates of actinomycetes that we subjected to physical (heat) and chemical treatments (addition of CaCO3) to improve their quality. We then undertook in-depth physiological and biochemical tests to study the metabolic capacities of actinomycetes, in particular their ability to degrade different substrates such as starch and heavy metal casein.

Thanks to the use of the inocula of the different isolates, we produced four extracts, and evaluated their antibacterial activity against several common pathogenic strains, including *E. coli, S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis* and *Candida albicans*.

The four extracts obtained from the isolates of the actinomycetes showed a more or less important antimicrobial activity against the germs-tested to be used.

Overall, this study made it possible to better understand the microbial diversity of the marine soils of the wilaya of Algiers, and highlighted the potential of isolated actinomycetes for the production of bioactive metabolites with antibacterial properties. These results could have important implications in the search for new natural antibiotics to fight drug-resistant bacterial infections.

Key words: marine actinomycetes, antimicrobial activity, bioactive molecules.

ملخص

أجريت دراسة متعمقة لاستكشاف التنوع الميكروبي لـ 4 مناطق متميزة في المنطقة الوسطى من الجزائر (ولاية الجزائر) من خلال تحليل التربة البحرية. تم استخدام أخذ العينات الانتقائية لعزل الفطريات الشعاعية ، والبكتيريا المعروفة بدورها المهم في إنتاج المستقلبات النشطة بيولوجيا. حصلنا على ما مجموعه 233 عزلة من الفطريات الشعاعية التي تعرضناها لتحسين جودتها. ثم أجرينا اختبارات فسيولوجية وكيميائية (اضافة $CaCO_3$) للمعالجات الفيزيائية (الحرارية) والكيميائية حيوية متعمقة لدراسة القدرات الأيضية للفطريات الشعاعية ، ولا سيما قدرتها على تحلل ركائز مختلفة مثل النشا والكازين المعدني الثقيل.

بفضل استخدام إينوكولا العزلات المختلفة ، أنتجنا أربعة مستخلصات ، وقمنا بتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ضد العديد من السلالات المسببة للأمراض الشائعة ، بما في ذلك الإشريكية القولونية ، المكورات العنقودية الذهبية ..

أظهرت المستخلصات الأربعة التي تم الحصول عليها من عزلات الفطريات الشعاعية نشاطا مضادا للميكروبات أكثر أو أقل أهمية ضد الجراثيم التي تم اختبارها عليها.

بشكل عام ، مكنت هذه الدراسة من فهم التنوع الميكروبي للتربة البحرية لولاية الجزائر بشكل أفضل ، وسلطت الضوء على إمكانات الفطريات الشعاعية المعزولة لإنتاج مستقلبات نشطة بيولوجيا ذات خصائص مضادة للبكتيريا. يمكن أن يكون لهذه النتائج آثار مهمة في البحث عن مضادات حيوية طبيعية جديدة لمكافحة الالتهابات البكتيرية المقاومة للأدوية .

الكلمات المفتاحية: الفطريات الشعاعية البحرية ، نشاط مضادات الميكروبات ، الجزيئات النشطة بيولوجيا.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
$CaCo_3$	Carbonate de calcium
CSA	Starch Casein Agar (milieu de culture)
E. coli	*Escherichia coli*
GYEN	Yeast extract glucose agar (milieu de culture)
ISP	International *Streptomyces* Projet (milieu de culture)
Na Cl	Chlorure de sodium
pH	Potentiel hydrogène
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique
DO	Donsité optique

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant la morphologie d'actinomycètes et mycélium du substrat et mycélium aérien 7

Figure 2: Diagramme de quelque genres d'Actinobactéries 8

Figure 3: Cycle de développement des actinomycètes 16

Figure 4: Application des actinomycètes. 17

Figure 5: Les principaux modes d'actions des antibiotiques. 20

Figure 6: Méthode d'échantillonnage (prise personnelle) 25

Figure 7 : Plage El Bahdja Ain Benian……26

Figure 8 : Plage El Bahdja Ain Benian…….……26

Figure 9 : Plage Sidi Fredj……26

Figure 10 : Plage Mazafran Zeralda…….26

Figure 11 : Plage Sablette…….26

Figure 12: Mesure d pH du sol ……..……..35

Figure 13 : Isolats à partir des échantillons traités sur le milieu (M et ISP2)…….…..……37

Figure 14: Isolats à partir des échantillons traités par CaCO3 ……...……37

Figure 15: Résultats de purification des quelques souches d'actinomycètes …….……..38

Figure 16: Observation des souches coloré (coloration de Gram) sous microscope (grossissement ×40)……..…….39

Figure 17 : Observation des souches colorés (coloration de Gram) sous microscope (grossissement×100)…….…….40

Figure 18 : Test catalase positif (prise personnelle)…….……40

Figure 19:Croissance à différentes concentrations de NaCl…….41

Figure 20 : Croissance des souches d'actinomycètes en différents concentration de pH……42

Figure 21 : Croissance d'actinomycètes sur milieu M en différents températures……...……42

Figure 22: avant l'hydrolyse d'amidon (pris personnel)……..43

Figure 23: Résultat positive de l'hydrolyse d'amidon ……..43

Figure 24 : Résultats positive et d'autre négative d'hydrolyse d'amidon……..43
Figure 25: Avant l'hydrolyse de gélatine……..44

Figure 26: L'hydrolyse de gélatine (prise personnel)……...45
Figure 27: Dégradation de tyrosine……..45
Figure 28: contrôle négatif et contrôle positif……..46
Figure 29: Hydrolyse de zinc par les actinomycètes……47
Figure 30: Hydrolyse de cuivre + zinc par les actinomycètes……..47
Figure 31 : Hydrolyse de cuivre par les actinomycètes……48
Figure 32 : Dégradation de tween 80 (prise personnel)……50
Figure 33: Sensibilité et la résistanse des actinomycètes aux cristal violet…….51
Figure 34: L'effet de l'extrait sur les souches pathogènes……52

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Les valeurs de G+C% de quelques genres d'actinomycètes ……..……12

Tableau2: Classification du phylum d'actinobactérie ……..……13

Tableau3: La répartition des actinobactéries dans la nature…….15

Tableau4: Classification des antibiotiques……...……20

Tableau5: Quelques antibiotiques produit par les actinomycètes……21

Tableau 6: Echantillonnage……..……25

Tableau 7: Le pH des échantillons du sol…….35

Tableau8: Les résultats des tests biochimiques……49

Tableau 9: Résultat des extraits sur les souches pathogénes ……....53

Tableau 10: Résultats d'antibiogramme……54

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

Dédicace

Résumé

ملخص

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction

Chapitre I 3

Généralité sur les Actinomycètes 3

1. Historique 4

2. Définition 4

3. Taxonomie et critères d'identifications 5

3.1. Taxonomie phénotypique 5

3.2. Taxonomie moléculaire 12

4. Classification des actinomycètes 12

5. L'habitat des actinomycètes marins et leur distribution dans le nature 14

6. Cycle de développement des actinomycètes 15

7. L'importance des actinomycètes 16

Chapitre II 18

Généralité sur les métabolites antimicrobienne 18

1. Définition des antibiotiques 19

2. Modes d'action des antibiotiques 19

3. Classification des antibiotiques 20

4. Les antibiotiques produit par les actinomycètes 21

5. Mécanisme de production des antibiotiques par les actinomycètes 22

Matériels et méthodes 23

1. Objectif : 24

2. Le lieu de stage : 24

3. Échantillonnage : 24

4. Les caractéristiques physico-chimiques du sol échantillonner : 26

4.1 Mesure de pH de sols : 26

5. Prétraitements des échantillons : 27
6. Les milieux de cultures utilisés 27
7. Isolement des actinomycètes 27
7.1 Ensemencement et incubation 28
7.2 Purification des souches 28
7.3 Conservation des souches 28
8. Etude des caractérisations des actinomycètes 29
8.1. Etude macromorphologique 29
8.2. Etude micro-morphologique 29
8.3. Coloration de Gram 29
8.4. Recherche de catalase 30
8.5. Test oxydase 30
9. Etude physiologique 30
9.1. Croissance à différentes concentrations de NaCl 30
9.2. Croissance à différentes valeurs de pH 30
9.3. Croissance à différentes températures 30
9.4. Sensibilité aux différents agents chimiques 31
9.5. Sensibilité aux antibiotiques 31
10. Etude biochimique 31
10.1. Hydrolyse de l'amidon 31
10.2. Dégradation de la gélatine 31
10.3. Dégradation de la tyrosine 31
10.4. Dégradation du Tween 80 32
10.5. Utilisation des composés glucidiques comme seule source de carbone 32
10.6. Etude de la résistance ou la sensibilité aux métaux lourds 32
11. L'effet antagoniste des actinomycètes 32
12. L'extraction des souches d'actinomycètes 33
13. Etude de la résistance ou la sensibilité aux antibiotiques 33
Résultats et discussions 34
1. les caractéristiques physico-chimiques du sol 35
1.1 pH de sol 35
2. Isolement des actinobactéries 36
2.1 Caractérisations macroscopiques 38

2.2 Caractérisation microscopique 39
2.3. Recherches catalase 40
2.4. Test oxydase 41
3. Teste physiologique 41
3.1. Croissance à différentes concentrations de Na Cl 41
3.2. Croissance à différentes valeurs de pH 42
3.3. Croissance à différentes températures 42
4. Test biochimique 43
4.1. Hydrolyse de l'amidon 43
4.2. Dégradation de gélatine 44
4.3. Dégradation de tyrosine 45
4.4. Utilisation des composants glucidiques comme source de carbone 46
4.5. Etude de la résistance ou la sensibilité aux métaux lourds 47
4.6. Dégradation de tween 80 50
4.7. Sensibilité aux différents agents chimiques (Cristal violet) 51
5. La miss en évidence l'effet antagoniste des extraits obtenue 51
6. Antibiogramme …..... 54
CONCLUSION.....56
Références.....58
ANNEXE 66

Introduction

Les micro-organismes, qui sont des organismes vivants de taille microscopique, ont une existence très ancienne sur Terre. (Dans la nature, aussi bien dans les sols, les eaux douces et salées, les écosystèmes terrestres que marins, et même dans les corps humains et animaux). Donc une importance cruciale dans de nombreux domaines, surtout la biotechnologie et leur étude continue à être un sujet de recherche actif dans les sciences de la vie.

L'actinomycète jouent un rôle important dans l'environnement et dans diverses industries ; grâce à leur capacité à produire des antibiotiques ; des enzymes et à dégrader les matières organiques et des composants bioactifs. Cependant leur potentiel pathogène doit également être pris en compte.

Les actinomycètes ont une influence antibactérienne, antifungiques et aussi antitumoraux **(Basilio, et al., 2003).**

Actuellement le problème majeur qui se pose c'est l'apparition des bactéries résistantes ; cela a conduites les chercheurs à se concentrer sur la recherche des nouvelles souches « actinomycète marines » productrices d'antibiotiques.

Parmi les antibiotiques sécrétés par les actinomycètes sont :la streptomycine, la néomycine, le chloramphénicol et les tétracyclines.

En plus, les actinomycètes ont une capacité de fertilisée le sol grâce à leur capacité de dégrader la matière organique.

Le genre Streptomyces représente environ 70 à 90 % des actinomycètes.

Cette étude se divise en de trois parties essentielles :

1. Une synthèse bibliographique qui résumera les données bibliographique des actinomycètes et leurs activités antimicrobiennes et le métabolite secondaires des actinomycètes.

2. Une partie expérimentale qui compile tous les méthodes et les matériels utilisées pour réaliser le travail.

3. Les résultats et discussions qui sont rassemblées et présentées :

Au cours de cette étude, les échantillons de sols marins ont été prélevés à partir de quatre régions d'Alger : Mazafran et Ain el Benian et Sidi Fredj et Sablette et Staoueli, afin d'isoler les souches d'actinomycètes.

Les caractéristiques morphologiques et physiologiques et chimiques ont été étudiés dans le but d'identification des isolats des actinomycètes sélectionnés. Ceci met en évidence la capacité d'isolats des actinomycètes de lutter contre les bactéries pathogènes et de produire des antibiotiques, ce qui souligne leur potentiel en tant que source de nouveaux antibiotiques et médicaments.

Chapitre I
Généralité sur les Actinomycètes

1. Historique

Les actinomycètes ont été étudiés et classés dans diverses périodes historiques, en particulier :

Période de découverte des actinomycètes de 1877 à 1900. Sous le nom de *Streptothrix foersteri*, Ferdinand John a signalé la première observation d'actinomycètes en 1875. En 1877, Harz a étudié et décrit *Actinomyces bovis*, ce qui le désigne comme le deuxième actinomycète à porter ce nom. **(Waksman, 1959)**.

Durant la période de classification des actinomycètes de 1900 à 1940, plusieurs scientifiques ont identifié et décrit les différentes espèces d'actinomycètes ainsi que leur habitat. Parmi eux il y a Paul Vuillemin et Jules Bordet. **(Mariat & Sebald, 1990)**.

Pendant la période de développement de la biologie moléculaire (1940-1970) : l'étude des gènes et des enzymes impliqués dans la biosynthèse de nombreux antibiotiques produits par les actinomycètes ont commencé. Y compris Selman Waksman qui a notamment découvert la streptomycine en 1943. **(Schatz, et al., 1944)**.

Au cours de la période allant de 1970 à 2000, les scientifiques ont découvert de nombreux antibiotiques cliniquement importants, tels que la vancomycine, l'érythromycine, la rifampicine, la gentamicine et la tétracycline, Ce fut la période de découverte et de développement de nouveaux antibiotiques plus efficaces produits par les actinomycètes. **(Okami & Hotta, 1988)**.

Depuis 2000, une période de recherche est sur l'utilisation des actinomycètes pour des applications industrielles. L'étude des interactions entre les actinomycètes et d'autres micro-organismes dans le sol et dans d'autres environnements naturels a commencé **(Traxler & Roberto, 2015)**.

2. Définition

Le mot actinomycète est dérivé des mots grecs "aktis" et "mykes", qui signifient respectivement rayon et champignon. Cette combinaison décrit les bactéries filamenteuses et ramifiées qui ressemblent à certains champignons **(Das, et al., 2008).**

Les actinomycètes ou les actinobactéries sont des bactéries à gram positif, aérobies, symbiotiques, ils obtiennent leurs nutriments généralement par un métabolisme hétérotrophe ou

par chimioautotrophe **(Schmidt, et al., 2019)**. Ayant un coefficient de Chargaff compris généralement entre 60 et 70% **(Lechevalier, et al., 1971)**.

Qu'il se caractérisé par leur morphologie filamenteuse et leur capacité à produire des spores.la croissance donne lieu généralement à des colonies circulaires constituées d'hyphes ; ces bactéries sont largement distribuées dans le sol et les environnements aquatiques **(Embley & Stackebrandt, 1994).**

Ces bactéries sont également connues pour leur capacité à synthétiser de plusieurs antibiotiques, antitumoraux, antiviraux, immunosuppresseurs et autres composés bioactifs **(Subramani & Aalbersberg, 2012).**

Ces bactéries sont ubiquistes et on les retrouve dans tous les écosystèmes, notamment dans les environnements marins et côtiers. Ils ont une morphologie filamenteuse similaire à celle des actinomycètes terrestres, mais ont développé des adaptations pour résister aux conditions salines et aux fluctuations de la température de l'eau de mer **(Singh, et al., 2013).**

Les actinomycètes ont été considéré comme une branche intermédiaire entre les bactéries et les champignons, contrairement à ces dernières les actinomycètes ont des parois cellulaires peptidoglycanes et la capacité de résister aux agents antibactériens. Néanmoins, les actinomycètes et les champignons partagent certaines propriétés similaires telles que la production d'un mycélium aérien et les conditions de croissance **(Waksman,1950).**

3. Taxonomie et critères d'identifications

3.1. Taxonomie phénotypique

3.1.1. Critères morphologiques

Les actinomycètes, un groupe de bactéries filamenteuses, ont une morphologie compliquée.

Les caractères macromorphologiques

Selon **(Flärdh, 2003)** les critères macromorphologiques comprennent :

- La formation de mycélium : Les actinomycètes formant des filaments ramifiés appelés mycélium au cours de leurs développements ; ce dernier peut être divisé selon la différence morphologique et fonctionnelle en deux :

  → Mycélium du substrat (ou mycélium végétatif) se développe à la surface du milieu de culture. Le rôle principal du mycélium du substrat est l'absorbation des nutriments nécessaires pour la croissance des actinomycètes.

  → Mycélium aérien est l'hyphe que le mycélium du substrat développe à un stade particulier, et pousse dans l'air **(Li, et al., 2016).**

- La pigmentation : Certaines espèces d'actinomycètes sont pigmentées, ce qui facilite leur identification.

- La texture de la colonie : Les colonies d'actinomycètes peuvent avoir une variété de textures, y compris granuleuse, poudreuse et liquide.

- La formation de pellicule : Quelque actinomycètes ont la capacité de formation des films à la surface du milieu de culture.

- Production des spores : Les actinomycètes sont capables de produire une grande variété de types de spores, y compris des spores aériennes et des spores de surfaces. Les spores sont endospores, parmi les critères morphologiques utilisés pour la reconnaissance des actinomycètes est la formation des spores.

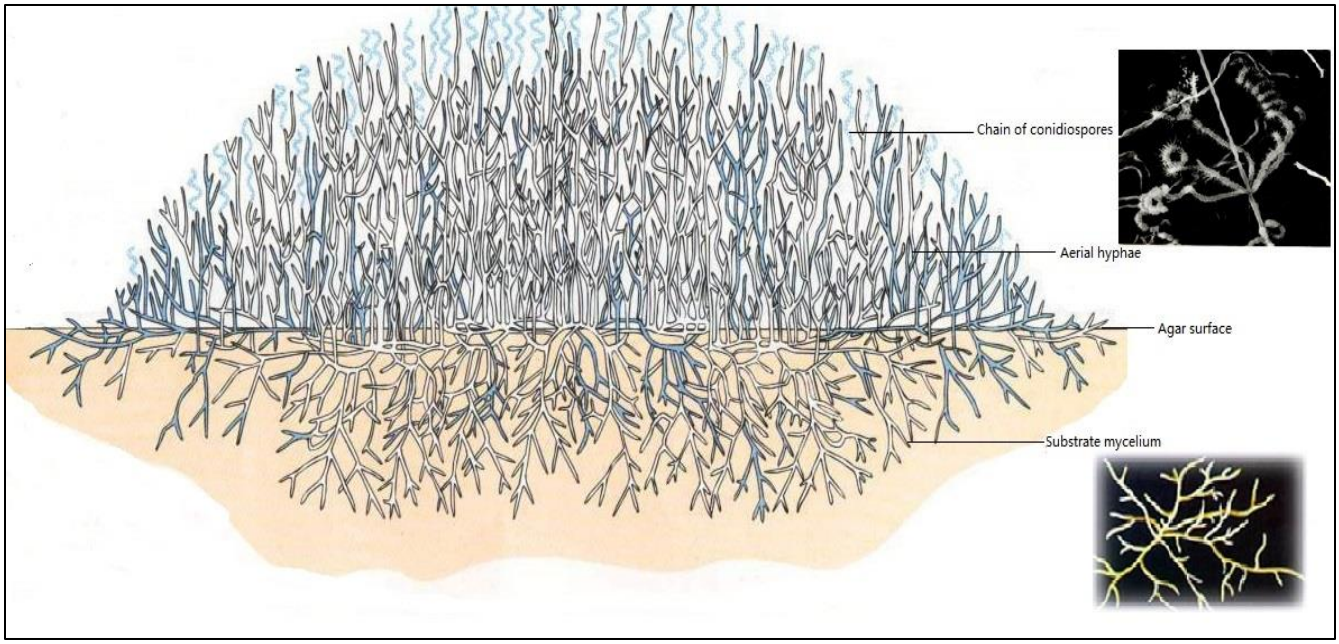


Figure 1: Coupe transversale d'une colonie d'actinomycètes montrant la morphologie d'actinomycètes et mycélium du substrat et mycélium aérien **(Li, et al., 2016)**

Les caractères micromorphologiques

Les critères micromorphologiques des actinomycètes incluent les caractéristiques de la structure cellulaire et la morphologie des spores **(Schaal & Zellner, 2006) :**

- La présence de filaments septés : Les cellules des actinomycètes sont habituellement allongées et ramifiées en filaments septés.
- La forme des spores : Les actinomycètes peuvent produire des spores de différentes formes telles que les spores sphériques, les spores en forme de tonneau et les spores allongées.
- La paroi cellulaire : Les actinomycètes ont souvent une paroi cellulaire épaisse qui peut être colorée par des méthodes de coloration différentes.

En résumé, parmi les caractéristiques morphologiques qui sont essentielles à la classification des actinomycètes : Les modes de croissance du mycélium du substrat, la position des spores, leur nombre, leurs structures de surface, la forme de sporanges,

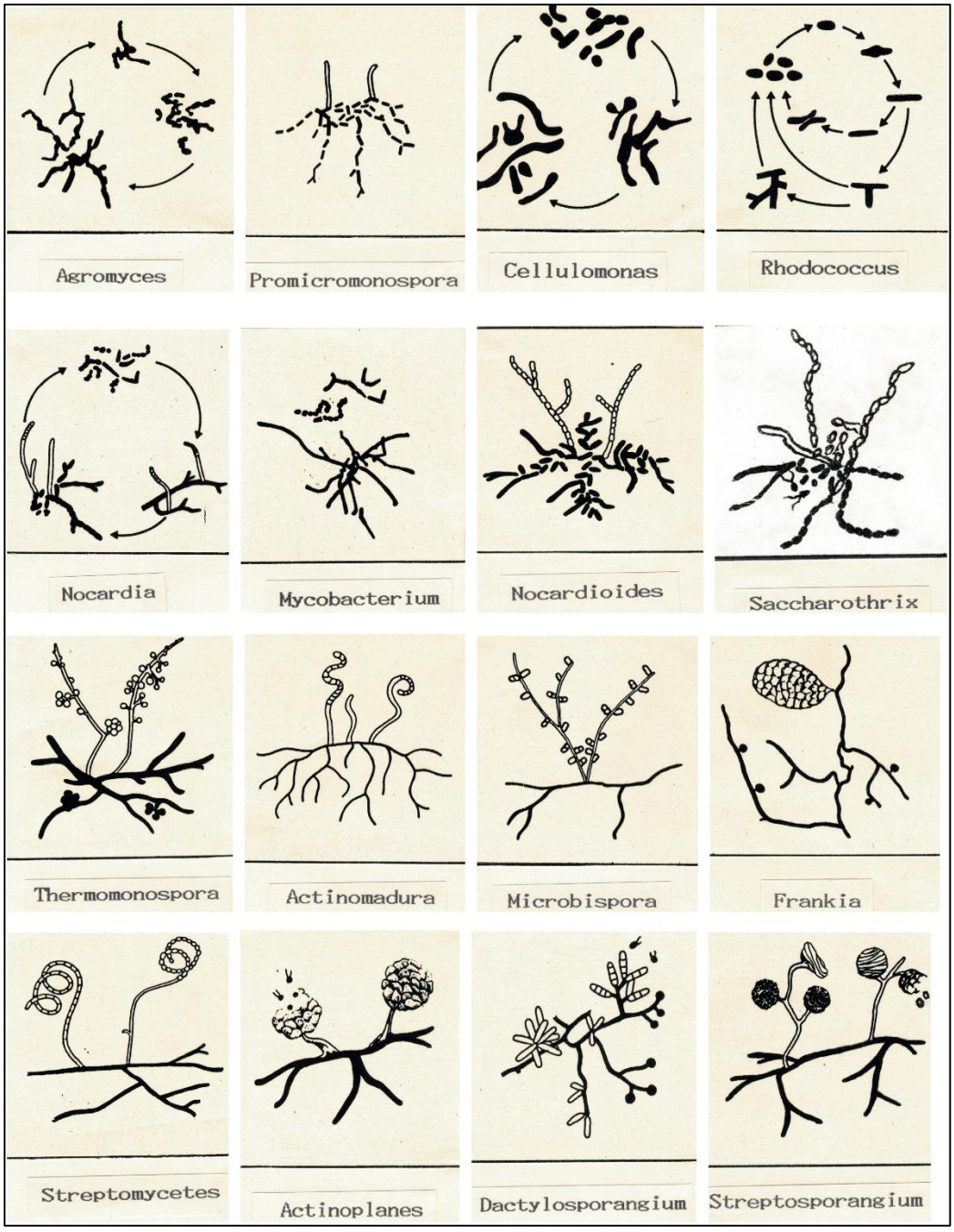


Figure 2: Diagramme de quelque genres d'Actinobactéries **(Li, et al., 2016)**

3.1.2. Critères physiologiques

- **pH :** Le pH optimale pour la croissance des actinomycètes varie selon les espèces. Cependant, la plupart des actinomycètes peuvent se développer dans une large gamme de pH allant de 5,0 à 8,0.

Plusieurs études ont montré que certaines espèces d'actinomycètes peuvent tolérer des conditions de pH extrêmes. Par exemple, les espèces de *Streptomyces griseus* peuvent survivre à des conditions allant jusqu'à pH 10,5 **(Thurma & Singh, 2011).**

D'autres études ont également montré que le pH peut influencer sur la production de métabolites par les actinomycètes. Par exemple, une étude a révélé que le pH joue un rôle important dans la production d'antibiotiques par l'actinomycète *Streptomyces coelicolor*, avec une production optimale d'antibiotiques à pH 7,0 **(Bucca, et al., 2010).**

En résumé, le pH de croissance optimal des actinomycètes varie selon les espèces, mais la plupart des actinomycètes peuvent se développer sur une large gamme de pH. Le pH peut également affecter sur la production de métabolites par les actinomycètes.

- **Température :** Généralement, la plupart des actinomycètes sont mésophiles, mais certaines espèces sont thermophiles.

Les actinomycètes thermophiles tolèrent à une température allant jusqu'à 60°C **(Ensign, et al., 1993).** Il s'agit principalement de genres d'actinomycètes thermogéniques qui produisent des spores résistantes à des températures de 90°C. Les Streptomyces comprennent également Streptomyces thermophiles, comme Streptomyces thermophilus ou encore psychrophiles **(Djaballah, 2010).**

La température de croissance optimale des actinomycètes marins varie également selon les espèces, mais la plupart des actinomycètes ont une gamme de température entre 20°C et 37°C.Cependant, certaines espèces peuvent tolérer des températures extrêmes. Par exemple, l'espèce Streptomyces thermocarboxydus, isolée de sources hydrothermales, peut croître à des températures allant jusqu'à 60 °C **(Kim, Falconer, Williams, & Goodfellow, 1998).**

Une autre étude a montré que l'actinomycète marine *Salinospora tropica* qui produit des métabolites pouvant être utiles dans la découverte de médicaments à des températures de croissance optimale comprises entre 28 et 30 °**C (Jensen, et al., 2005).**

En résumé, les températures optimales de croissance des actinomycètes marins varient selon les espèces, mais la plupart ont une plage de températures optimale de croissance comprise entre 20 et 37 °C. Cependant, certaines espèces peuvent tolérer des températures extrêmes allant jusqu'à 60 °C.

- **L'oxygène :** Les actinomycètes marins sont des micro-organismes bactériens qui se trouvent dans les environnements marins et produisent une grande variété de composés bioactifs. La plupart des actinomycètes marins sont aérobies stricts, c'est-à-dire qu'ils ont besoin d'oxygène pour survivre et se développer. Cependant, certaines souches peuvent également être anaérobies facultatifs ou microaérophiles, selon les conditions environnementales. *Streptomyces coelicolor* est une actinobactérie capable de synthétisé le nitrate réductase, qui est fonctionnelle sous les conditions limitant d'oxygène **(Sawers, et al., 2016)**

La plupart des souches d'actinomycètes marins appartenant au genre Streptomyces étaient aérobies, tandis qu'une souche appartenant au genre *Micromonospora* était aérophile **(Carro, et al., 2013).**

Les actinomycètes marins sont principalement aérobies stricts, mais certains peuvent également être anaérobies facultatifs ou microaérophiles, selon les conditions environnementales. Leur capacité à produire une large gamme de composés bioactifs les rend très prometteurs pour la recherche de nouveaux médicaments et produits pharmaceutiques.

- **La tolérance en Nacl :** En ce qui concerne leur tolérance au NaCl, les actinomycètes marins sont connus pour être capables de se développer dans des conditions de salinité élevée. Une étude a été menée sur l'actinomycète marin Streptomyces sp. DA11 isolé des sédiments de la mer de Chine **(Han, et al., 2009).** Les résultats ont montré que cette bactérie était capable de tolérer des concentrations élevées de NaCl (jusqu'à 15% NaCl), grâce à une accumulation de solutés compatibles tels que la proline et la glycine-bétaïne. De plus, l'étude a identifié plusieurs gènes impliqués dans la tolérance au sel chez cette bactérie **(Jiang, et al., 2011).**

Salinispora sp sont des actinobactéries qui peut être tolérer des niveaux élevés de NaCl (jusqu'à 8% NaCl) et de produire une variété de composés bioactifs tels que des antibiotiques et des antioxydants. Plusieurs genres impliqués dans cette famille sont halophiles **(Romàne-Ponce, et al., 2020).**

Plusieurs espèces d'actinomycètes sont halotolérants, c'est-à-dire elles sont capables de tolérer des niveaux élevés de NaCl de 15% jusqu'à 20 % NaCl, et que ces bactéries étaient capables de produire une variété de composés bioactifs **(Jiang, et al., 2006)** . Cette variété au niveau de la tolérance de NaCl donne la capacité pour les actinomycètes de produire une large gamme des composés bioactifs, ce qui en fait une source potentielle de nouveaux médicaments.

- **L'activité du l'eau (Aw) :** La croissance et la production de métabolites des actinomycètes marins influencer par l'activité de l'eau (Aw). Cependant, les valeurs optimales d'Aw de ces bactéries peuvent varier en fonction des espèces d'actinomycètes marins. Les valeurs d'Aw peuvent allant de 0,877 à 0,895. **(Stevenson & Hallsworth, 2014)**

Une autre étude montre que les streptomycètes capables de se développer au taux d'activité d'eau bas, la germination des spores et la croissance de ces bactéries peut ce fait au Aw = 0.5 **(Doroshenko, et al., 2005)**

En résumé, les actinomycètes ont des valeurs d'Aw qui peuvent varier en fonction des souches, mais des niveaux d'Aw plus élevés peuvent également être bénéfiques pour la production de métabolites d'intérêt.

- **Matière organique :** Plusieurs études ont examiné la relation entre le taux des actinomycètes marins et le taux de matières organiques dans les écosystèmes marins.

Autre étude montre que les actinomycètes peuvent dégrader la matière organique et utilisée là comme source de carbone et d'énergie **(Bhatti, et al., 2017).**

De plus, ces bactéries essentiellement trouvant on association avec les plants et sol, et ont un grand potentiel en tant que biofertilisants **(Parada-Pinilla, et al., 2021)**

En résumé, les études suggèrent qu'il existe une relation entre le taux des actinomycètes et le taux de matières organiques dans les écosystèmes. Les actinomycètes marins peuvent utiliser les matières organiques comme source d'énergie. De plus, les actinomycètes marins peuvent

également jouer un rôle important dans le recyclage des matières organiques dans les écosystèmes marins.

3.2. Taxonomie moléculaire

Les méthodes de biologie moléculaire devenu les plus récentes utilisées dans la classification des actinomycètes et la détermination des espèces, parmi ces méthodes d'analyse moléculaires il y a le séquençage d'ARN ribosomique 16S **(Zhi, et al., 2009)**, l'hybridation ADN-ADN (Goris, et al., 2007), et le détermination de pourcentage de C+G % (le coefficient de Chargaff des actinomycètes généralement compris entre 60% et 70 %) **(Lechevalier, et al., 1971).**

Tableau 1: Les valeurs de G+C% de quelques genres d'actinomycètes **(Goodfellow, et al., 2012)**

Genre	C+G (*mol %*)
Actinomyces	55 à 71
Actinopolyspora	64 à 68
Nocardia	63 à 72
Rhodococcus	63 à 73
Salinispora	69.4 à 69.5
Streptomyces	66 à 78

4. Classification des actinomycètes

Les actinomycètes ce sont des micro-organismes procaryotes appartenant aux Actinobacteriaceae fondées par Buchanan en 1917.

La systématique bactériologique des actinomycètes marins est basée sur des caractéristiques morphologiques, physiologiques, génétiques et moléculaire.

Selon manuel de bactériologie systématique de Bergey, Actinobacteria divisé en 6 classes **(Goodfellow, et al., 2012).**

Tableau 2: Classification du phylum d'actinobactérie **(Goodfellow, et al., 2012)**.

Domain	Phylum	Classe	Ordre	Famille
Bactéria	*Actinobacteria*	*Actinobacteria*	*Actinomycetales*	*Actinomycetaceae*
			Actinopolysporaies	*Actinopolysporaceae*
			Bifidobacteriales	*Bifidobacteriaceae*
			Catenulisporales	*Catenulisporaceae, Actinospicaceae*
			Corynebacteriales	*Corynebacteriaceae, Dietziaceae, Mycobacteriaceae, Nocardiaceae, Segniliparaceae, Tsukamerullaceae,*
			Frankiales	*Frankiaceae, Acidothermaceae, Cryptosporangiaceae, Geodermatophilaceae, Nokamurellaceae*
			Glycomycetales	*Glycomycetaceae*
			Jiangellales	*Jiangellaceae*
			Kineosporales	*Kineosporaceae*
			Micrococcales	*Micrococcaceae, Beutenbergiaceae, Bogoriellaceae, Brevibacteriaceae, Cellulomonadaceae, Dermabacteriaceae, Dermacoccaceae, Dermatophilaceae, Intrasporangiaceae, Jonesiaceae, Micobacteriaceae, Promicomonosporaceae, Rarobacteriaceae, Ruaniaceae, Sanguibacteraceae*
			Micromonosporales	*Micromonosporaceae*
			Propionibacteriales	*Propionibacteriaceae, Nocardidoidaceae*
			Pseudonocardiales	*Pseudonocardiaceae*
			Streptomycetales	*Streptomycetaceae*
			Streptosporangiales	*Streptosporangiaceae, Nocardiopcaceae, Thermomonosporaceae*

			Incertae sedis	
		Acidimicrobiia	*Acidimicrobiales*	*Acidimicrobiaceae, Lamiaceae*
		Coriobacteriia	*Coriobacteriales*	*Coriobacteriaceae*
		Nitriliruptoria	*Nitriliruptorales* *Euzebyales*	*Nitriliruptoraceae* *Euzebyaceae*
		Rubrobacteria	*Rubrobacterales*	*Rubrobacteraceae*
		Thermoleophilia	*Thermoleophilales* *Solirubrobacterales*	*Thermoleophilaceae* *Solirubrobacteraces, Conexibacteraceae, Patulibacteracea*

5. L'habitat des actinomycètes marins et leur distribution dans le nature

Les actinomycètes marins également trouvant dans les biotopes marins, cependant ces bactéries sont reconnues par leurs capacité de la production des substances bioactifs uniques, qui ont fait preuve d'un fort potentiel dans la découverte de nouveaux médicaments et enzymes, malgré leur abondance et leur diversité soient généralement moins étudiées par apport les actinomycètes terrestres. L'isolement des actinomycètes marins peut être fait à partir une large variété d'environnements marins, y compris les sables côtiers, les sédiments marins, les éponges de mer… **(Bull & Stach, 2007).** Elles sont propagées dans différent biotopes (air, composts, eau, fourrages, fumiers, grains, canne à sucre, etc.), On en trouve ainsi dans l'extrême nord, les lacs salés, les tropiques, et les déserts **(Lacey, 1973)** et peut trouver dans le pétrole les sols hautement contaminés avec les métaux lourds **(Silini, et al., 2022).**

Les actinomycètes marins produisent également des enzymes qui dégradent les parois cellulaires des algues et contribuent à la libération d'éléments nutritifs dans l'environnement marin.

En outre, les actinomycètes marins peuvent également jouer un rôle dans la protection des écosystèmes marins contre les maladies en produisant des composés bioactifs qui inhibent la croissance de pathogènes **(Sun, et al., 2016)**. Et surtout leur rôle actif dans les cycle biogéochimiques marins **(Kumar, et al., 2014)**.

Tableau 3: La répartition des actinobactéries dans la nature.

Milieu	**Exemple d'habitats**	**Genre actinobactéries**
Sol	Terres agricoles, forêts, prairies, déserts, toundra	*Streptomyces, Micromonospora, Nocardia, Actinoplanes*
Eau douce	Lacs, rivières, étangs, marais	*Actinomadura, Actinoplanes, Microbispora, Nocardia*
Eau Salée	Océans, mers, lagunes, estuaires	*Streptomyces, Salinispora, Micromonospora*
Plants	Plantes Racines, feuilles, tiges, fleurs	*Streptomyces, Micromonospora, Nocardia, Actinoplanes*
Animaux	Peau, intestins, sols	*Actinobaculum, Bifidobacterium, Corynebacterium, Mycobacterium*

6. Cycle de développement des actinomycètes

La cycle de développement peut être varier selon l'espèces des actinomycètes, on peut divisée là on trois grades étapes selon **(Klieneberger-Nobel, 1947)** :

- Germination des spores : les spores des actinomycètes sont une forme de résistance, qui trouvent de façon libre dans l'environnement, lorsque les conditions environnementales devient favorables les spores germent et forment des filaments hyphales.
- Formation des mycéliums : les filaments hyphales se développent et forment le mycélium, ce dernier croitre et former des structures en boucle.
- Formation de septum : le septum former entre les hyphes.
- Formation des spores : les spores former à partir de mycélium puis sont entourées par une couche protectrice.
- Libération des spores : les spores sont libérées dans l'environnement dans les conditions défavorables.

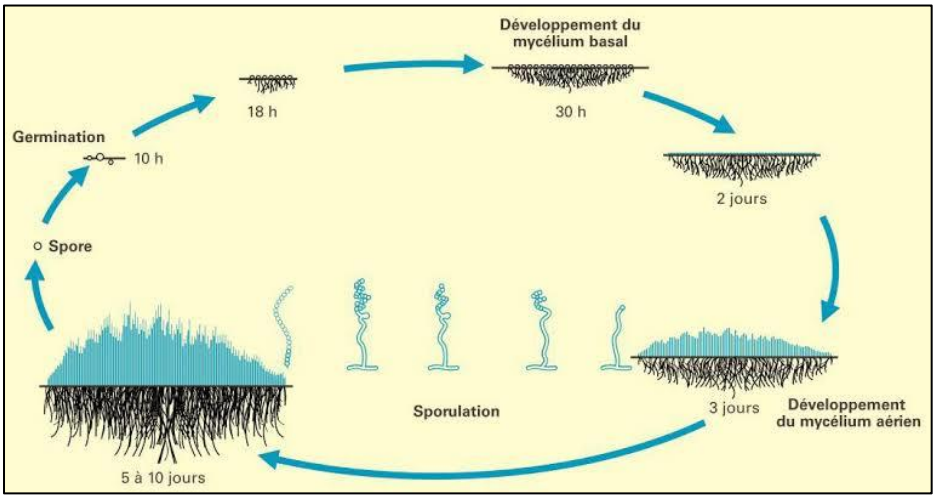


Figure 3: Cycle de développement des actinomycètes

7. L'importance des actinomycètes

Les actinomycètes ce sont des bactéries filamenteuses largement distribués dans l'environnement, ces dernières ont une importance dans la dégradation de la matière organique et même aussi dans la fertilité de sol **(Bhatti, et al., 2017).** Les actinobactéries capable de produire des composés bioactifs, qui ont appliquées à l'agriculture, médecine et industrie.

En agriculture, l'azote atmosphérique est capable de fixer dans le sol par les actinomycètes, ce qui peut réduire la quantité des besoins en engrais à base de produits chimiques. En plus les actinomycètes produisent des antibiotiques et des pesticides organiques qui peuvent être utilisés pour le traiter les maladies des plantes et les ravageurs. **(Silva, et al., 2022).**

En médecine, les actinomycètes produisent de nombreux antibiotiques importants, tels que la streptomycine et la tétracycline, qui sont utilisés pour le traitement contre les infections bactériennes chez l'homme. En outre, les actinomycètes produisent également des composants anticancéreux et immunomodulateurs qui sont utilisés dans le recherche et l'étude en oncologie **(Osama, et al., 2022).**

En industrie, certaines enzymes capables de décomposer des déchets organiques sont produit par les actinomycètes.

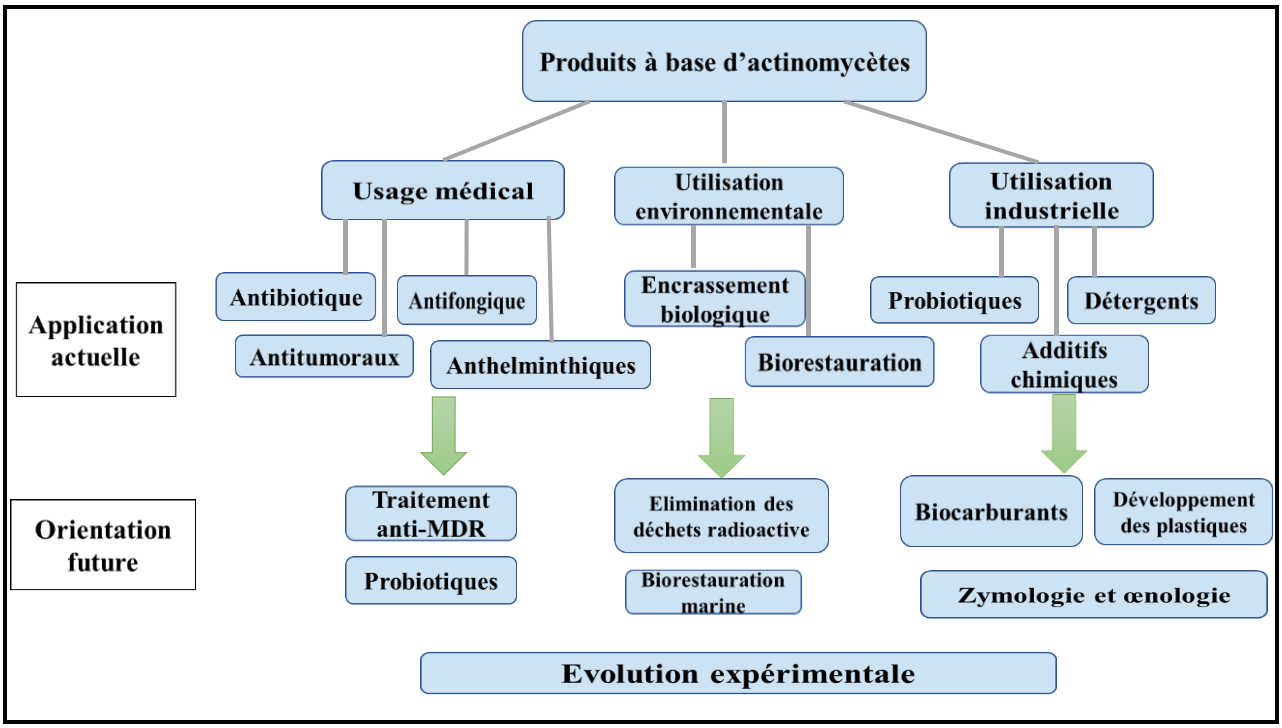


Figure 4: Application des actinomycètes **(Jagannathan et al.,2021).**

Chapitre II

Généralité sur les métabolites antimicrobienne

1. Définition des antibiotiques

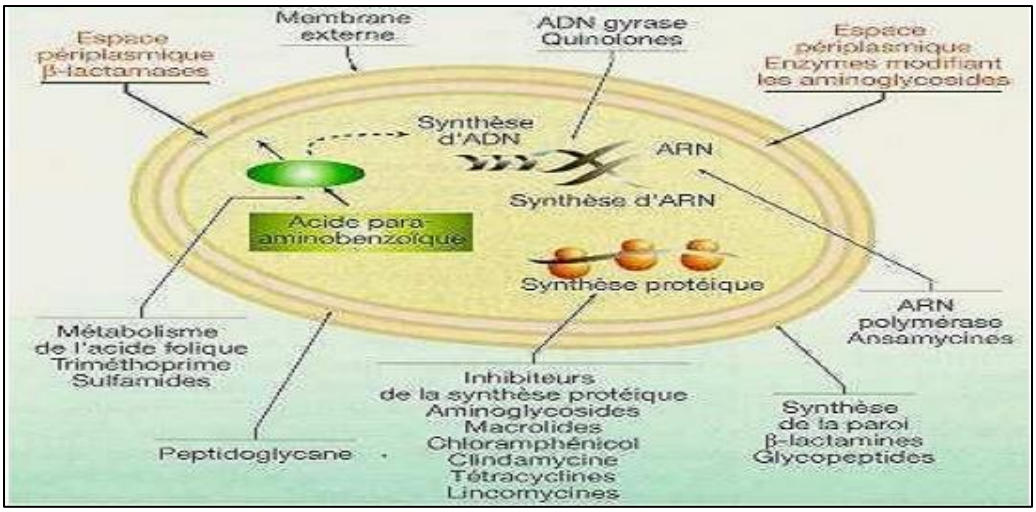
Les antibiotiques sont des composées naturelles ou synthétisé par des microorganismes ont une action bactéricide (tuent les bactéries) ou bactériostatique (inhibent la croissance des bactérie). Ils fonctionnent sur processus métaboliques particuliers dans les cellules bactériennes, tels que la synthèse de la paroi bactérienne **(Davies & Davies , 2010) .**

En 1928 Alexander Fleming découvert le premier antibiotique qui est la pénicilline, c'est la découverte la plus importante en médecine au 20ème siècle, mais l'utilisation massive déclenche la résistance des bactéries aux antibiotiques.

2. Modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules qui agissent en empêchant la croissance bactérienne en défirent modes d'action, ils peuvent agir à différents niveaux **(Kapoor, et al., 2017)**, notamment par :

- Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne : pénicillines, céphalosporines.
- Désorganisation de la membrane plasmique, ou bicouche lipidique : polymixines.
- Inhibition de la synthèse protéique en ciblant les ribosomes : streptomycine, tétracyclines, chloramphénicol.
- Inhibition de la synthèse de l'ADN : quinolones.



- Inhibition de la synthèse de folates : sulfamide.

Figure 5: Les principaux modes d'actions des antibiotiques **(Davies & Mazel, 1997)**

3. Classification des antibiotiques

Classification des antibiotiques se fait selon la nature l'origine, mode action et la nature chimique :

Tableau 4: Classification des antibiotiques (antibio-responsable.fr)

Familles	Exemple	Mode d'action
Bêtalactamine	Amoxicilline	Inhibition de la synthèse d'enveloppe bactérienne
Fosfomycine	Fosfomycine	
Glycopeptides	Teicoplanine	
Lipopeptide	Daptomycine	
Polymyxines	Polymyxine	
Aminosides	Gentamicine	Inhibition de la synthèse des protéines
Macrolides et apparentes	Erythromycine	
Phénicoles	Thiamphénicol	

Cyclines	Minocycline	
Acides fusidiques	Acide fusidique	
Oxazolidinones	Tedizolid	
Quinolones	Ofloxacine	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques
Quinoléine	Hydroxyquinoléine	
Mupirocine	Mupirocine	
Sulfamide	Sulfadiazine	Inhibition de la synthèse de l'acide folique

4. Les antibiotiques produit par les actinomycètes

Les actinomycètes produisant environ 70% des antibiotiques **(Newman, et al., 2003).**

Le métabolisme primaire de la souche productrice généralement lié à la production microbienne de métabolites secondaire. Ces métabolites secondaires bioactifs sont synthétisés à partir d'intermédiaires en fin de métabolisme primaire **(Olano, et al., 2008)**.

Tableau 5: Quelques antibiotiques produit par les actinomycètes.

Espèces	**Antibiotiques**	**Références**
Micromonospora purpurea	Gentamicine	(Escalante, et al., 1992)
Streptomyces aureofaciens	Tétracycline	(Marjorie, et al., 1960)
Actinoplanes arizonaensis	Arizonines A1 et B1	(Karwowski, et al., 1988)
Streptomyces griseus	Streptomycine	(Schatz, et al.,1944)
Streptomyces lactamdurans	Cephamycine C	(Jacks, et al., 1980)

Actinomadura rubra	Maduramycine	(Terekhova, et al., 1991)
Micromonospora olivasterospora	Fortimicine A	(Ohta & Hasegawa, 1993)
Nocardiopsis dassonvillei	Kahakamides A-B	(Schumacher, et al., 2001)

5. Mécanisme de production des antibiotiques par les actinomycètes

Les actinomycètes sont caractérisés par leur capacité de produire des antibiotiques, cette production passe par plusieurs étapes y compris **(Netzker, et al., 2018)**:

- Production des précurseurs par la vois métabolique primaire ou par vois métabolique secondaire.
- Les conditions environnementales sont contrôlées l'activation des gènes impliquants dans la production des actinomycètes.
- Les protéines qui sont lient à l'ADN sont contrôlées l'expression des gènes impliquants dans la synthèse des antibiotiques.

Matériels et méthodes

1. Objectif :

Le but principal de nos recherches est d'isoler et d'identifier et distinguer les caractéristiques des actinomycètes isolés d'origine marine des zones côtières, plus précisément de la wilaya d'Alger en Algérie.

Afin de sélection les souches qui présentent une capacité de produire les antibiotiques.

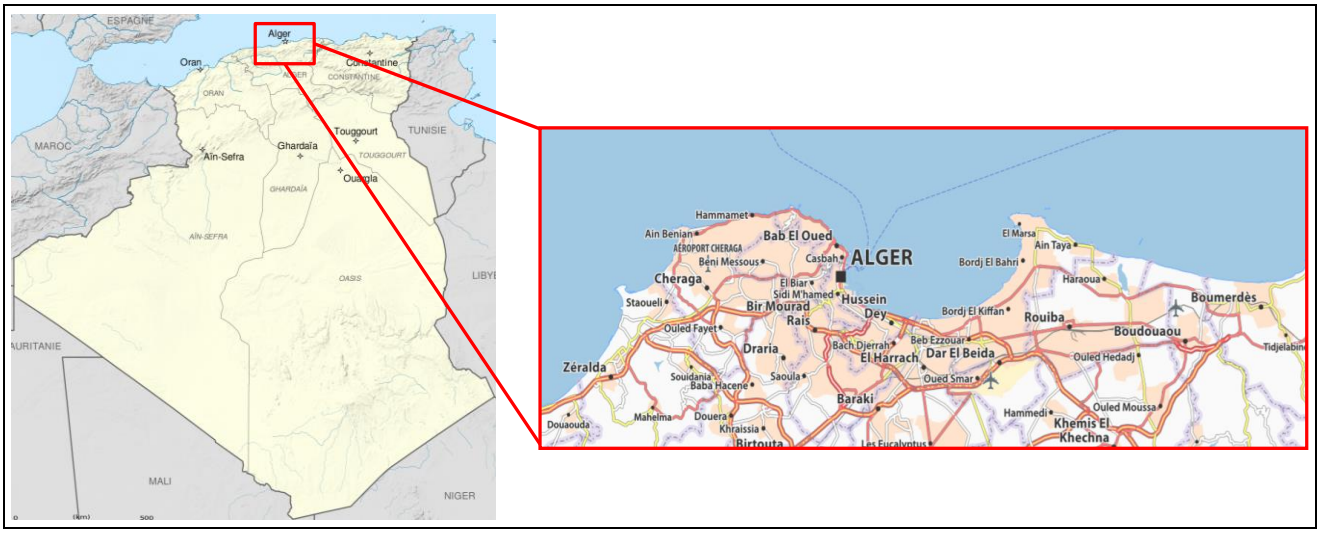


Figure 6 : Localisation des sites d'échantillonnage

2. Le lieu de stage :

L'étude expérimentale a été menée au niveau des laboratoires pédagogiques de biologie 2 et de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de vie de l'université Dr YAHIA FARES à Médéa.

3. Échantillonnage :

Les échantillons de sol d'origine marine ont été collectés à partir des sites situés à la longe de la bonde côtière de la wilaya d'Alger.

Au début de mois de février nous avons prélevé quatre échantillons.

A l'aide d'une spatule stérile, les trente premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés. Cent a cent-cinquante (100 – 150) grammes de sol de la couche sous-jacente (30 cm de profondeur), puis chaque échantillon sont déposés dans des boites stériles et transportés le

plus rapidement possible au laboratoire **(Pochon & Tradieux, 1962).** Les échantillons sont immédiatement conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'utilisation.

Tableau 6: Echantillonnage

Site d'échantillonnage	**Code d'échantillon**	**Date d'échantillonnage**
Plage El Bahdja Ain Benian	Zone I	10-02-2023
Plage Sidi Fredj	Zone II	10-02-2023
Plage Mazafran Zeralda	Zone III	10-02-2023
Plage Sablette	Zone IV	27-02-2023



Figure 7: Méthode d'échantillonnage (prise personnelle)



Figure 8 : Plage El Bahdja Ain Benian



Figure 9 : Plage Sidi Fredj



Figure 10 : Plage Mazafran Zeralda



Figure 11 : Plage Sablette

4. Les caractéristiques physico-chimiques du sol échantillonner :

4.1 Mesure de pH de sols :

Après séchage de 35°C pondant 3 heures on prépare une suspension de sols (10g de sol pour 25ml d'eau distillée). Les pH sont alors mesurés à l'aide d'un pH-mètre selon la technique de **(Pochon & Tradieux, 1962).**

5. Prétraitements des échantillons :

Le traitement des échantillons à un rôle de réduire la croissance de la flore fongique et bactérienne, afin, d'augmenté le nombre des actinobactéries contenue dans les sols **(Cavala & Eberlint, 1994).** Chaque échantillon subi deux types de prétraitement :

- **Le prétraitement (T 1) :** Consiste à chauffer deux grammes (2g) de chaque échantillon à 60°C pendant 30 minutes **(Takizawa, et al., 1993)**.

- **Le deuxième prétraitement (T 2) :** consiste à traiter 1 g de sol de chaque échantillon avec 0.1 g de CaCO3. Le mélange est mis dans une enceinte stérile saturée d'humidité pendant sept jours à 28°C **(El-Nakeeb & Lechvalier, 1963)**.

6. Les milieux de cultures utilisés

Les milieux de cultures utilisés pour l'isolement des actinobactéries sont :

- **Milieu ISP2 :** (International Streptomyces Project) C'est un milieu sélectif utilisé pour isoler et culture les actinomycètes plus spécifiquement genre Streptomyces sp grâce à sa composition adaptée aux les besoins nutritionnels de ce genre **(Ara, et al., 2012).**

- **Milieu de gausse :** est un milieu de culture a une sélectivité moyenne utilisé pour la croissance des actinomycètes.

- **Milieu SCA :** est un milieu sélectif pour la croissance des actinomycètes**.**

- **Milieu M 100%**

- **Milieu M 50%**

7. Isolement des actinomycètes

Pour chaque échantillon, 1g de sol sont dilués dans 9ml d'eau physiologique stérile, puis agités au vortex deux fois pendant 5 minutes, cette suspension constitue la dilution 10^{-1}. Une série de dilutions décimales (jusqu'à 10^{-5}) est effectuée pour chaque échantillon. 400µl par dilution par boîte de Pétri sont étalés en surface de quatre milieux de cultures : ISP2et milieu du Gausse et SCA et milieu M . Les boites de Pétri sont alors incubées à 28°C. Elles sont observées après à partir du 3 -ème jour

• La préparation des solutions de sol se fait par la méthode de dilutions des suspensions. La suspension mère du sol est préparée par l'addition de 1gramme de sol, et introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Les échantillons sont homogénéisés par agitation au vortex pendant quelques minutes. Les suspensions ainsi obtenues constituent les solutions à analyser. Cette suspension mère sert à réaliser des dilutions décimales **(Agath & Bath, 1963).**

7.1 Ensemencement et incubation

À l'aide d'une pipette pasteur stérile sous forme de râteau ; 400µl de chaque dilution (10^{-1}à 10^{-5}) ont été étalée sur la surface d'un milieu gélosé. Les boîtes de Pétri sont incubées à 28°C pendant 7 à 14 jours. Des observations régulières sont effectuées chaque semaine **(Lemriss, et al., 2003).**

7.2Purification des souches

Afin d'obtenir des souches pures, les différentes colonies obtenues ont été repiquées et ensemencées à l'aide d'une anse stérile puis purifiées par stries sur le milieu SCA, ISP2 et Gausse.

Les isolats obtenus sont numérotés et, sont ensuite ensemencés dans des boites pétries contenant le même milieu de culture, puits incubé de 2 à 7jour pour les actinomycètes **(Arifuzzaman, et al., 2010)**.

7.3Conservation des souches

Seules les colonies à Gram positif présentant les aspects caractéristiques des actinomycètes sont conservés.

- **Conservation des souches à court terme**

La méthode de conservation des souches consiste à repiquer les souches en tube sur milieu M inclinée **(Botton, et al., 1990)** . Les tubes sont incubés pendant sept jours à 28°C puis conservés à 4°C.

La souche pure doit être conservée à 4°C pour une réalisation ultérieure des tests biochimiques, physiologiques et la technique de fermentation.

- **Conservation à long terme**

Les isolats d'actinomycètes sont conservés dans une solution de glycérol à -20ºC.

8. Etude des caractérisations des actinomycètes

8.1. Etude macromorphologique

Cette étude consiste à déterminer la forme et la taille des colonies ; la couleur des mycéliums aériens (MA) et de substrat (MS), la production ainsi que la couleur des pigments solubles produits sur les différents milieux de culture. Les boites sont incubées à 28°C et les observations sont effectuées après 7ème, 14ème et 21ème jour.

8.2. Etude micro-morphologique

Les colonies d'actinomycètes sont observées sur les différents milieux cités précédemment à l'aide d'un microscope optique à deux grossissements (X40 et X100) après 7 et 14 jours d'incubation. Cette étude consiste à voire les structures et la fragmentation ou non du mycélium du substrat (MS) et du mycélium aérien (MA), ainsi que la sporulation.

8.3. Coloration de Gram

D'après **(William, et al., 2010),** les bactéries peuvent être groupées en deux catégories selon la méthode de coloration de Gram, qui a été mise au point en 1884 par le bactériologiste Danois Hans Christian Gram. Cet examen est fait sur des frottis minces préparés à partir de colonies de chaque isolat, ces frottis sont colorés, après observation à l'aide d'un microscope optique à grossissements (x100), ce dernier permet de remarquer les formes morphologiques des différentes bactéries et indiqué le Gram + et Gram-.

- Les bactéries « Gram positif » gardent leur coloration violette.
- Les bactéries « Gram négatif » décolorées par alcool, sont teintées par la fuchsine et apparaissent roses.

L'examen, nous permet de déterminer quelques caractères morphologiques des Actinomycètes, concernant le type de Gram+ et des indications sur leurs formes des filaments et présence ou absence de spores isolées **(William, et al., 2010)**.

8.4. Recherche de catalase

Cette enzyme permet la dégradation du H_2O_2 qui résulte de l'oxydation par l'oxygène de l'air :

Cette réaction est mise en évidence simplement par contact de la culture avec une solution fraîche de H_2O_2 à 10 volumes. Une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame en présence d'un échantillon de culture. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulle traduit la décomposition de dioxygène. On dit que le test catalase est positif et s'il n'y a pas de bulles, le test est négatif **(Delarras, 2014).**

8.5. Test oxydase

Ce test utilisé pour déterminer la présence de l'enzyme cytochrome c oxydase, pour réaliser ce test est mise en évidence simplement par un contact d'une colonie bien isolée et fraîche avec un disque d'oxydase. On dit que le test est positif lorsque couleur devient violet on quelques secondes et négative si le couleur ne change pas **(Shields & Cathcart, 2010)**.

9. Etude physiologique

9.1. Croissance à différentes concentrations de NaCl

Les souches d'actinomycète ensemencée sur milieu M gélosé à différentes concentrations en NaCl qui sont 0 ; 3,5 et 6,5 % (m/v). Les cultures sont incubées à 28°C et la croissance est suivie par observation des colonies toutes les 24h **(Athalye, et al., 1985)**.

9.2. Croissance à différentes valeurs de pH

Ce test est réalisé sur milieu gélosé ajuster à différents pH (5,7et 9.5). La souche est ensemencée puis incubée à 28°C. La croissance est observée et notée après $7^{éme}$, $14^{éme}$ et $21^{éme}$ jours **(Athalye, et al., 1985)**

9.3. Croissance à différentes températures

La souche d'actinomycète est ensemencée sur les milieux M qui sont incubée à différentes températures (28, 37, et 44°C). La croissance est suivie pendant 21 jours d'incubation.

9.4. Sensibilité aux différents agents chimiques

Ce test est réalisé par l'ensemencement de la souche en stries sur le milieu GYEA préconisé par **(Athalye, et al., 1985)** additionné du composant des agents chimiques à tester suivant : Crystal violet (0,001%). Les boites sont incubées à 21 jours à 28°C.

9.5. Sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques est effectuée sur le milieu gélose nutritives **(Athalye, et al., 1985)**. Les disques d'antibiotiques sont déposés à l'aide d'une pince à la surface de la gélose qui est préalablement ensemencée en stries par la souche testé. Les boites sont incubées à 28°C pendant 7 à 14 jours. Les diamètres des zones d'inhibition obtenues autour des disques sont mesurés.

10. Etude biochimique

10.1. Hydrolyse de l'amidon

Selon la méthode de **(Marchal, et al., 1991)** le test de l'hydrolyse de l'amidon est réalisé sur la gélose nutritive contenant 1.5% (m/v) d'amidon soluble qui est solubilisé dans 10 ml d'eau distillée puis stérilisé à l'autoclave (120°C pendant 20 min). Après incubation à 28°C pendant 14 jours, la gélose est recouverte d'une solution de Lugol. L'absence de l'apparition des zones claires autour des colonies indique l'hydrolyse de l'amidon, par contre les zones contenant de l'amidon se colorent en brun.

10.2. Dégradation de la gélatine

Le test d'hydrolyse de la gélatine est réalisé sur la gélose nutritive contenant 0,4% (m/v) de gélatine. Après ensemencement de la souche, les boites sont incubées à 28°C pendant 14 jours. La révélation de la dégradation est effectuée avec une solution de chlorure mercurique à 15% (m/v). Les zones claires correspondent aux zones d'hydrolyse de la gélatine **(William & Cross, 1971)**.

10.3. Dégradation de la tyrosine

La dégradation de la tyrosine est réalisée selon la méthode préconisée par **(Gordon, et al., 1974)**. Les 100 ml de gélose nutritive sont complétés par une suspension de 0,4 g de tyrosine qui est

solubilisé dans 10 ml d'eau distillée puis stérilisé à l'autoclave (120°C pendant 20 min). Les boites ensemencées sont incubées à 28°C, la lecture est effectuée après le 7éme, 14éme et 21éme jour, et se traduit par l'apparition des zones claires, correspondent aux zones d'hydrolyse de la tyrosine.

10.4. Dégradation du Tween 80

Sur milieu gélose nutritives contenant 1ml du Tween 80 la souche d'actinomycète est ensemencée. La lecture est effectuée après 7, 14 et 21 jours d'incubation à 28°C. La dégradation du Tween 80 traduit par l'apparition d'une auréole opaque autour des colonies **(Sierra, 1957)**.

10.5. Utilisation des composés glucidiques comme seule source de carbone

Ce test consiste à apprécier la croissance de l'actinomycète en présence de composés glucidiques en utilisant le milieu ISP9 préconisé par **(Pridham et Gottlieb, 1948).** Les glucides testés comme seule source de carbone sont les tests suivants : sucrose, L- arabinose, D -mannitol, D+xylose, D- glucose, lactose, D+saccharose, fructose, D+cellobiose, D- mannose, D- sorbitol. Après ensemencement sur les tubes et l'incubation pendant 3 semaines à 28°C,

10.6. Etude de la résistance ou la sensibilité aux métaux lourds

Afin de mettre en évidence la résistance ou la sensibilité des souches d'actinobactéries étudiées aux métaux lourds, des milieux de culture gélosés ont été préparés en utilisant une gélose nutritive contenant différents métaux sous forme de sels organiques : le zinc (ZnSO4), le cuivre, ainsi que le mélange de ces métaux, à raison de 50 mg/L (. La croissance des isolats est observée après 21 jours d'incubation à 28°C.

L'appréciation de la résistance ou de la sensibilité des isolats testés est traduite par la croissance ou l'absence de cette dernière **(Singh, et al., 2014)**.

11. L'effet antagoniste des actinomycètes

Est réaliser par la mesure de la DO des souches tester pendant 10 jours successive, après on :

- **Utilisation la culture bactériennes :** ce teste sont réalisé par la méthode des puis ; sur la gélose nutritive on a ensemencé les souches de références (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Condida albicans, Staphylococcus aureus*) après on met des puis

sur la gélose et on remplir les puits par la culture des actinomycètes, laissez diffuser pendants 3h après incuber les boites à 37C pendant 18h.

- **Utilisation des surnagent des actinomycètes :** on connues que parmi le métabolite secondaire des actinomycètes c'est la production des antibiotiques. on mettre la culture bactérienne dans la centrifugation pour récupérer le surnagent qui contient le métabolite des actinomycètes après par la méthode des puits on ensemencer les souches de références sur la gélose nutritives et on mette des puis et remplir par le surnagent, laisser diffuser pendant 3 h après incuber les boites à 37C° pendant 18 h.

12. L'extraction des souches d'actinomycètes

c'est l'étape de récupération l'extrait qui contient l'antibiotique fabriqué par la souche testé. On utilise le butanol comme solvant et on mélanger avec la culture bactérienne qui contient la souche testée. Laisser pendant 24h le mélange pour la séparation des phases continuent et après on récupère chaque phase dans un flacon stérile pour mettre la caractérisation de ce dernier , et l'effets antimicrobienne de ce extrait **(Khamna, et al., 2009).**

13. Etude de la résistance ou la sensibilité aux antibiotiques

C'est une méthode utilisée pour tester la sensibilité des actinomycètes aux différents antibiotiques, il est réaliseé par l'ensemencement d'un suspension bactérienne sur le gélose puis déposer les antibiotiques sur la surface. Les résultats obtenus après une incubation en 28°C pendant 21 jours.

Ce test permis de déterminer l'efficacité des antibiotiques contre les actinomycètes. **(Bonnet, et al., 2019).**

Résultats et discussions

CONCLUSION

Conclusion :

Les sols sont des habitats d'une grande diversité de microorganismes, qui jouent un rôle crucial dans maintien des fonctions des écosystèmes. Parmi ces microorganismes, on trouve les actinomycètes qui sont des bactéries à Gram positif et filamenteux qui se trouvent librement ou saprophyte dans différents habitats comme le sol, l'eau chaude, les sédiments marins etc. Les actinomycètes permettent de produire certains types de métabolites secondaires, comme les antibiotiques qui est à des effets contre les germes pathogènes. Dans cette présente étude, nous nous sommes proposé d'étudier les aspects Morphologiques, physiologiques et la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des isolats d'actinomycètes d'origine marine qui ont été isolait à partir des sédiments marins de wilaya d'Alger (le centre précisément).

Afin d'atteindre cet objectif, la méthodologie employée a consisté en la division du travail comme suit : l'observations morphologiques des isolats d'actinomycètes, suivie de la réalisation des tests physiologiques et biochimiques sur ceux-ci. Les résultats de notre étude ont mis en évidance une grande variabilité des colonies obtenues en termes de tailles (petite, moyenne et grande), et des formes variables (lisse, bombé…). De plus, ces colonies possèdent un mycélium végétatif (mycélium aérien) dont la coloration varie en fonction des isolats étudiés (jaune, rouge, blanc, orange etc..) c'est des pigmentations des actinomycètes . Par ailleurs, l'examen microscopique a permis de révèler que les bactéries isolées sont des Gram positif.

L'étude physiologique et biochimique a été réalisée sur les isolats afin d'évaluer leur capacité à s'adapter à différentes milieux de culture et à différentes condition environnementales. Des tests ont ainsi été effectués pour déterminer leur capacité à se développer en présence de différentes sources de carbone et de métaux lourds, De plus , leur tolérance à différentes concentrations de NaCl, de pH et de croissance à différentes températures ainsi en présence des agents chimique.

Ces résultats ont permis de mieux comprendre les capacités des isolats des actinomycètes dans des conditions environnementales variées, ce qui peut être utile pour des application en biotechnologie ou en écologie.

Dans le cadre de notre étude, nous avons évalué l'activité antagoniste des isolats d'actinomycètes en évaluant leur capacité de production et l'extraction des molécules bioactives a permis l'obtention des extraits butanoliques nécessaire à l'évaluation de l'activité antagoniste par la

méthode des puits, vis-à-vis des 5 souches microbiennes à sa *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonase aeroginosa* , *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*. Les résultats montrent que tous les extraits bruts testés possèdent une Activité antimicrobienne vis-à-vis des germes cibles testés

Références

Agath, A., & Bath, J. V. (1963). A method for the preferentional isolation of actinomycetes from soils. *Antonie Van Leeuvenhoek, 29*, 297-304.

Al-Aghamy, M. H., Alhuzani, M. R., Kelany , M. S., & Hamed, M. M. (2021). Production and partial characterization of α-Amylase enzyme from marine actinomycetes. *BioMed Research International*, 15.

Arasu, V. M., Esmail, G. A., & Al-Dhabi, N. A. (2016). Hypersaline Actinomycetes and thier biological applications. Dans D. Dhanasekaran, & Y. Jiang, *Actinobacteria* (pp. 229-245). Intech Open.

Arifuzzaman, M., Khatun, M., & Rahman, H. (2010). Isolation and screening of Actinomycetes from sundarbans soil for antibacterial activity. *African Journal of Biotechnology, 9*, 4615-4619.

Athalye, M., Goodfellow, M., Lacey, J., & White, R. P. (1985). Numerical classification of Actinomadura and Nocardiopsis. *International Journal of Systematic Bacteriology, 35*, 86-98.

Basilio, A., Gonzàlez, I., Vicente, M. F., Gorrochategui, J., Cabello, A., Gonzàlez, A., & Genilloud, O. (2003). Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *Journal of Applied Microbiology, 95*, 814-823.

Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis*, 459-467.

Bonnet, R., Caron, F., Cattoir, V., Courvalin, P., Dubreuil, L., Lina, G., & Jarlier, V. (2019). *Comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie.* Société Françcaise de Microbiologie.

Botton, B., Breton, A., Fever, M., Guy, P., Larpent , E., & Veau, P. (1990). Miosissures utiles et nuisibles (importance industrielle). *Masson*, 48-98.

Bucca, G., Hindle, Z., & Smith, C. P. (2010). Regulation of antibiotic production in Actinobacteria: new perspectives form the post-genomic era. *Nat Prod Rep*, 757-799.

Bull, A. T., & Stach, J. E. (2007). Marine actinobacteria: new opprtunities for natural product search and discovery. *TRENDS in Microbiology, 15*, 491-499.

Carro, L., Pukall, R., Sproer, C., Kroppenstedt, R. M., & Trujillo, M. E. (2013). Micromonospora halotolerans sp. nov., isolated from the rhizosphere of a Pisum sativum plant . *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1245-1254.

Cavala, M., & Eberlint, T. (1994). Isolement des streptomycètes du sol. *L'opéron*, 7-13.

Daboor, S. M., Amany, M. H., Neven Abd Elfatah, E., & Hanouna, S. I. (2014). Heavy metal adsorption of Streptomyces chromofuscus. *J C L Med*, *2*(6), 431-437.

Das, S., Lyla, P. S., & Ajmal Khan, S. (2008). Distribution and generic composition of culturable marine actinomycetes from the sediments of indian continental slope of bay of bengal. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 26*, 166-177.

Davies, J., & Davies , D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 417-433.

Davies, J., & Mazel, D. (1997). Comment la résistance vient aux bactéries. *BIOFUTURE*, 14-17.

Delarras, C. (2014). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire.* (T. e. Lavoisier, Éd.) La Tourelle,; St. Mandé.

Djaballah, C. (2010). *Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérantes isolées de la sebkha d'Ain Mlila.*

Doroshenko, E. A., Zenova, G. M., Zvyagintsev, D. G., & Sudnitsyn, I. I. (2005). Spore germination and mycelial growth of streptomycetes at different humidity levels. *Microbiology, 74*, 690-694.

El-Nakeeb, M., & Lechvalier, H. (1963). Selective isolation of aerobic actinomycetes. *Appl Microbiology, 11*, 75-77.

Embley, T. M., & Stackebrandt, E. (1994). The molecular phylogeny and systematics of the actinomycetes. Dans A. Reviews (Éd.), *Annual Review of Microbiology* (Vol. 48, pp. 257-289).

Ensign, J. C., Normand, P., Burden, J. P., & Yallop, C. A. (1993). Physiology of some actinomycetes genera . *Res Microbiol*, 657-660.

Escalante, L., Gonzalez, R., Obregon, A. M., & Sanchaz, S. (1992). Carbon catabolite regulation of fentamicin formation. *The Journal of Antibiotics*, 465-469.

Feng, J., Zeng, Y., Ma, C., Cai, X., Zhang, Q., Tong, M., . . . Xu, P. (2006). The surfactant Tween 80 enhances biodesulfurization. *Applied and Environmental Microbiology*, 7390-7393.

Fernandes, C. J., Doddavarapu, B., Harry, A., Ravi, L., & Srikakulam Dilip, S. P. (2021). Isolation and identification of pigment producing Actinomycetes Saccharomonospora azurea SJCJABS01. *Biomedical and Pharmacology Journal, 14*, 2261-2269.

Flärdh, K. (2003). Growth polarity and cell division in Streptomyces. *Current Opinion in Microbiology, 6*, 564-571.

Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* (éd. 12). (E. Mosby, Éd.)

Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E., Suzuki, K.-i., Ludwig, W., & Whitman, W. B. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (éd. 2, Vol. 5 The Actinobacteria). (W. B. Whitman, & A. C. Parte, Éds.) New York: Springer.

Gordon, R. E., Barnett, D. A., Handerhan, J. E., & Hor- Nay-Pang, C. (1974). Nocardia coeliaca, Nocardia autotrophica and the nocardin strain. *Inter J Syst Bacteriol, 24*, 54-63.

Goris, J., Konstantinidis, K. T., Klappenbach, J. A., Coenye, T., Vandamme, P., & Tiedje, J. M. (2007). DNA-DNA hybridization values and their relatinship to whole-genome sequence similarities. *Internatinal Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57*, 81-91.

Han, Y., Yang, B., Zhang, F., Miao, X., & Li, Z. (2009). Characterization of antifungal chitinase from marine Streptomyces sp. DA11 associates with south China sea sponge Cranielle Australiensis. *Marine Biotechnology, 11*, 132-140.

Jacks, T. M., Schleim, K. D., Judith, F. R., & Miller, B. M. (1980). Cephamycin C treatment of induced enterotoxigenic colibacillosis (scours) in calves and piglets. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 397-402.

Jensen, P. R., Mincer, T. J., Williams, P. G., & Fenical, W. (2005). Marine actinomycete diversity and natural product discovery. *Antonie Van Leeuwenhoek, 87*, 43-48. doi:10.1007/s10482-004-6540-1

Jiang, Y., Cao, Y. R., Wiese, J., Tang, S. K., Xu, L. H., Imhoff, J. F., & Jiang, C. L. (2011). Streptomyces sparsus sp. nov., isolated from a saline and alkaline soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 61*, 1601-1605.

Jiang, Y., Li, W. J., Xu, P., Tang, S. K., & Xu, L. H. (2006). Study on diversity of actinomycetes under salt and alkaline environments. *Acta Microbiologica Sinica*, 191-195.

Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: Aguide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology*, 300-305.

Karwowski, J. P., Jackson, M., Theriault, R. J., Prokop, J. F., Hansen, C. F., & Hensey , D. M. (1988). Arizonins, a new complex of antibiotics related to kalafungin. I. Taxonomy of the producing culture, fermentation and biological activity. *The journal of Antibiotics*, 1205-1211.

Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J. F., & Lumyong, S. (2009). Antifungal activity of streptomyces spp. isolated from rhizosphere of Thai medicinal plants. *International Journal of Integrative Biologie, 6*, 143-147.

Kim, S. B., Falconer, C., Williams, E., & Goodfellow, M. (1998). Streptomyces thermocarboxydovorans sp. nov. and streptomyces thermocarboxydus sp. nov., tow moderately thermophilic carboxydotrophic species from soil. *International Journal of Systematic Bacteriology, 48*, 59-68.

Klieneberger-Nobel, E. (1947). The life cycle of sporing Actinomyces as revealed by a study of their structure and septation. *Journal of General Microbiology*, 22-32.

Kontro, M., Lignell, U., Hirvonen, M. R., & Nevalainen, A. (2005). pH effects on 10 Streptomyces spp. growth and sporulation depend on nutrients. *Letters in Applied Microbiology, 41*, 32-38.

Kumar, R., Biswas, K., Solanki, V., Singh, P., & Tarafdar, A. (2014). Actinomycetes: Potential bioresource for human welfare: A review. *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences, 2*, 5-16.

Lacey, J. (1973). Actinomycetes in soils, composts and fodders. *Society for Applied Bacteriology Symposium Series*, 231-251.

Lechevalier, H., Lechevalier, M. P., & Gerber, N. (1971). Chemical composition as a criterion in the classification of actinomycetes. *Advances in Applied Microbiology, 14*, 47-72. doi:10.1016/s0065-2164(08)70539-2

Lemriss, S., Laurent, F., Couble, A., Casoli, E., Lancelin, J., Saintpierre-Bonaccio, D., . . . Bioron, P. (2003). Screening of non polyenic antifungal metabolites produced by clinicalisolates of actinomycetes. *Canadian Journal Microbiology, 49*, 669-674.

Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016). Morphological identification of actinobacteria. Dans D. Dhanasekaran, & Y. Jiang, *Actinobacteria - basics and biotechnological applications* (pp. 59-86).

Marchal, N., Bourdon, J. L., & Richard, C. L. (1991). *Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.* (Dion, Éd.) Paris.

Mariat, F., & Sebald, M. (1990). Actinomycetes. Dans L. Le Minor, & M. Véron, *Bactériologie médicale* (éd. 2 eme Médecine-Science, Flammarion, pp. 935-949). Paris.

Marjorie, D. A., Berenson, H., Shirk, R. J., & Sjolander, N. O. (1960). Production of Tetracycline by Streptomyces aureofaciens in synthetic media. *Applied Microbiology*, 46-51.

Netzker, T., Flak, M., Krespach, M., Stroe, M., Weber, J., Schroeckh, V., & Brakhage, A. (2018). Micribial interactions trigger the production of antibiotics. *Current Opinion in Microbiology*, 117-123.

Newman, D. J., Cragg, G. M., & Snader, K. M. (2003). Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *Journal of Natural Products*, 1022-1037.

Ohta, T., & Hasegawa, M. (1993). Analysis of the self-defense gene (fmrO) of a fortimicin A (astromicin) producer, Micromonospora olivasterospora: comparison with other aminoglycoside-resistance-encoding genes. *Gene*, 63-69.

Okami, Y., & Hotta, K. (1988). Search and discovery of new antibiotics. Dans M. Goodfellow, S. T. Williams, & M. Mordarski, *Actinomycetes in biotechnology* (pp. 33-67). San Diego: Academic Press. doi:10.1016/c2009-0-02828-1

Olano, C., Lombo, F., Méndez, C., & Salas, J. A. (2008). Improving production of bioactive secondary metabolites in actinomycetes by metabolic engineering. *Metabolic Engineering*, 281-292.

Osama, N., Bakeer, W., Raslan, M., Soliman, H. A., Abdelmohsen, U. R., & Sebak, M. (2022). Anti-cancer and antimicrobial potential of five soil Streptomycetes: a metabolomics-based study. *Royal Society Open Science, 9*, 1-17. doi:10.1098/rsos.211509

Parada-Pinilla, M. P., Ferreira, M. A., Roncallo, J. C., Santos, S. N., Melo, I. S., Assef, A. N., . . . Padilla, G. (2021). Biopolymer production by halotolerant bacteria isolated from Caatinga biome. *Braz J Microbiol*, 547-559.

Pochon, J., & Tradieux, P. (1962). *Techniques d'analyse en microbiologie du sol* (éd. La Tourelle, Vol. 1). (Mandé-Saint, Éd.)

Romàne-Ponce, B., Millàn-Aguinaga, N., Guillen-Matus, D., Chase, A. B., Ginigini, J. G., Soapi, K., . . . Truijillo, M. E. (2020). Sixnoval species of the obligate marine actinobacterium Salinispora, Salinispora cortesiana sp. nov., Salinispora fenicalii sp. nov., Salinispora goodfellowii sp. nov., Salinispora mooreana sp. nov., Salinispora oceanensis sp. nov., and Salinispora vitien. *Int J Syst Evol Microbiol*, 4668-4682.

Sawers, R. G., Falke, D., & Fischer, M. (2016). Oxygen and nitrate respiration in Streptomyces coelicolor A3(2). *Advances in Microbial Physiology, 68*, 1-40.

Schaal, K., & Zellner, G. (2006). Taxonomy, biology, and clinical aspects of the aerobic actinomycetes. *Clinical Microbiology Reviews*, 739-759.

Schatz , A., Bugle, E., & Waksman, S. A. (1944). Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-nigative bacteria. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 55*, 66-69.

Schatz, A., Bugle, E., & Waksman, S. (1944). Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 3-6.

Schmidt, R., Ulanova, D., Wick, L. Y., Bode, H. B., & Garbeva, P. (2019). Microbe-driven chemical ecology: past, present and future. *ISME*, 2656-2663.

Schumacher, R. W., Harrigan, B. L., & Davidson , B. S. (2001). Kahakamides Aand B; new neosidomycin metabolites from a marine-derived actinomycete. *Tetrahedron Letters*, 5133-5135.

Shields, P., & Cathcart, L. (2010). Oxidase test protocol. *American Society for Microbiology*.

Silini, S., Boudemagh, A., & Ali-Khodja, H. (2022). Biodegradation of used motor oil by Streptomyces ginkgonis KM-1-2, isolated from soil polluted by waste oils in the region of Azzaba (Skikda-Algeria). *Journal of Biotechnology, 349*, 1-11.

Silva, G. C., Kitano, I. T., Ribeiro, I. A., & Lacava, P. T. (2022). The potential use os actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture. *Frontiers in Soil Science, 2*, 1-20. doi:10.3389/fsoil.2022.822181

Singh, S. P., Thumar, J. T., Gohel, S. D., Kikani, B., Shukla, R., Sharma, A., & Dangar, K. (2013). Actinomycetes from marine habitats and their enzymatic potential. Dans A. Trincon (Éd.), *Marine Enzymes for Biocatalysis* (pp. 191-214). Oxford: Woodhead.

Singh, S., Pandey, S., & Singh Chaudhary, H. (2014). Actinomycetes: Tolerance against heavy metals and antibiotics. *Inernatinal Journal of Bioassays, 3*, 3376-3383.

Stevenson, A., & Hallsworth, J. E. (2014). Water and temperature relations of soil actinobacteria. *Environmental Microbiology Reports*. doi:10.1111/1758-2229.12199

Subramani, R., & Aalbersberg, W. (2012). Marine actynomycetes: An ongoing source of novel bioactive metabolites. *Microbiological Research, 167*, 571-580. doi:10.1016/j.mincers.2012.06.005

Sun, W., Anbuchezhian, R., & Li, Z.-Y. (2016). Association of coral-microbes, and the ecological roles of microbial symbionts in corals. Dans S. Goffredo, & Z. Dubinsky, *The Cnidaria, Past, Presentand Future* (pp. 347-357). Germany: Springer.

Takizawa, M., Colwell, R., & Hill, R. (1993). Isolation and diversity of Thermoactinomyces et Thérmomonospora (Actinomycetales) dans les soles sahariens : Taxonomie numérique, production, purification et caractérisation partielle des principaux antibiotiques. 130.

Terekhova, L. P., Galatenko , O. A., Preobrazhenskaia, T. P., Tolstykh, I. V., Ol'khovatova, O. L., Malkina, N. D., & Rubtsova, E. V. (1991). Actinomadura soecies as antibiotic producers. *Antibiotics and Chemoterapy*, 3-5.

Thurma, J. T., & Singh, S. P. (2011). Screening of actinomycetes from the soil of Gujarat for their growth at extreme pH and temperature. *Microbiology and Biotechnology Res*, 167-177.

Traxler, M., & Roberto, K. (2015, Mai 22). Natural products in soil microbe interactions and evolution. *Natural Product Reports*. doi:10.1039/c5np00013k

Waksman, S. A. (1950). *The actinomycetes: their nature, occurrence, activities, and importance* (Vol. 1). (C. B. Company, Éd.) U.S.A.

Waksman, S. A. (1959). *The actinomycetes* (Vol. 1; Nature, occurence and activities). (Baltimore, Williams, & Wilkins, Éds.)

William, B. R., Whitman., T. K., T James., Daniel., R., P. B., & J. Paster. (2010). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* (D. Heidelberg, Éd.) London: Spring New York.

William, S. T., & Cross, T. (1971). Actinomycete. Dans C. Booth, *Methode in Microbiology* (Vol. 4, pp. 295-334). London: Academic Press.

Yang, H., Wang, L., Xei, Z., Tain, Y., Lui, G., & Tan, H. (2007). The tyrosine degradation gene hppD is transcriptionally activated by hpdA and repressed by HpdR in Streptomyces coelicolor, while hpdA is negatively autoregulated and repressed by HpdR. *Molecular Microbiology*, 1064-1077.

Yatome, C., Ogawa, T., & Matsui, M. (1991). Degradation of crystal violet Bacillus subtilis. *Journal of Environemental Science and Health A26*, 1337-1339.

Zhi, X.-Y., Li, W.-J., & Stackebrandt, E. (2009). An update of the structure and 16S rRNA gene sequence-based definition of higher ranks of the class Actinobacteria, with the proposal of two new suborders and four new families and emended description of the existing higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 59*, 589-608.

ANNEXE

Annexe 1 : Composition des milieux de culture

Starch Casein Agar (SCA)

Amidon… ..... 10 g

Caséine… ..... 0,3 g

KNO3… ..... 2 g

NaCl… ..... 2 g

K2HPO4… ..... 2 g

MgSO4, 7H2O ..... 0,05 g

CaCO3… ..... 0,02 g

FeSO4, 7H2O ..... 0,01 g

Agar ..... 18 g

l'eau distillée 1000ml

pH… ..... 7,4±0,2

Gausse

Amidon… ..... 20 g

KNO3… ..... 1 g

K2HPO4… ..... 0.5 g

MgSO4, ... 0,5 g

NaCl… ..... 0.5 g

FeSO4 ..... 0,01 g

agar 20g

l'eau distillée 1000ml

pH… ..... 7,4±0,2

Milieu ISP2

Glucose… ..... 4 g

Extrait de levure… ..... 4 g

Extrait de malt… ..... 10 g

Agar… ..... 20 g

l'eau distillée 1000ml

pH… ..... 7,2±0,2

2.2 milieux d'Etude biochimique

Dégradation de l'amidon (Marchal et Bourdon, 1987)

Amidon… ..... 10 g

Gélose nutritive ..... 2,8 g

Eau distillée ..... 100 mL

pH… 7,5

Dégradation de la gélatine (Marchal et Bourdon, 1987)

Gélatine… .....0,4 g

Gélose nutritive ..... 2,8 g

Eau distillée ..... 100 mL

pH… 7,5

Dégradation de la tyrosine (Goodfellow, 1971 ; Gordon et al, 1974)

Tyrosine ..... 0,4 g

Gélose nutritive ..... 2,8 g

Eau distillée ..... 110 mL

pH… 7,5

Dégradation des sucres TSI (Triple Sugar Iron)

Extrait de levure… 3g

Extarit de viande… 3g

Peptone 20g

Chlorure de soduim 5g

Lactose… 10g

Saccharose…..... 10g

Glucose… 1g

Thisufate de soduim 0.3g

Citrate de fer (III) 0.3g

Rouge de phénol 24mg

Agar bactériologique…..... 9g

Sensibilité aux différents agents chimiques Glucose-Yeast Extract-Agar (G.Y.E.A)

Extrait de levure… ..... 10 g

Glucose… ..... 10 g

Agar… ..... 18 g

pH… 6,8

4-milieux pour l'activité antimicrobienne

-Gélose nutritive (GN)

Extrait de viande… ..... 1 g

Extrait de levure… ..... 2 g

Peptone ..... 5 g

NaCl… ..... 5 g

Agar… ..... 15 g

l'eau distillée 100ml

pH… ..... 7, 4±0.2

l'ajustement de PH des milieux de cultures : s'effectué à l'aide d'une solution de NaOH ou HCL

NaOH :10g NaOH de dans 250ml d'eau distillée.

HCL :200ml d'HCL dans 16.4ml d'eau distillée.

-Eau physiologique :

Nacl… 9g

Eau distillée 1000ml

Colorants

Violet Gentiane

Violet Gentiane 1g

Ethanol 10ml

Phénol 2g

Eau distillée 100ml

La solution de lugol

Iodure de potassium..... 2g

Iode métalloïde l2… 1g

Eau distillée 100ml

La solution de fuchine

Fuchine basique… 10g

Phénol 50g

Ethanol 100ml

Eau distillé… 1000ml

Solvants

-Butanol

Annexe 02 : Appareillages et verreries

Appareillage	**Verreries et autre matériel**
Agitateur	Micropipettes avec embouts plastiques
Autoclave	Boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre et 60 mm
Balance	Cuve chromatographique
Bec bunsen	Erlenmeyers gradués
Etuve	Flacon
Centrifugeuse	Tubes à essai
Incubateur	Lame et lamelles
Plaque chauffante avec agitateur magnétique	Becher
Réfrigérateur	Anses de platine
Shaker	Pince de platine
Spectrophotomètre	Spatule
pH mètre	Barreau magnètique

Annexe